

Volumen 12 · Número 2 · Abril-Junio 2020

Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral

www.revistadeosteoporosisymetabolismomineral.com

Director
Manuel Sosa Henríquez

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



Nuestra portada: Osteoclasto humano observado en un microscopio confocal. Se observa el anillo de actina teñido con faloidina (rojo); los núcleos teñidos con DAPI (azul)

Autora: Dra. Natalia Garcia Giral, CIBERFES, Instituto Hospital del Mar de Investigaciones Médicas (IMIM), Barcelona (España)



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

Presidente
Manuel Naves Díaz

Vicepresidenta
Pilar Peris Bernal

Secretaria
Minerva Rodríguez García

Tesorero
José Luis Pérez Castrillón

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

Presidente Electo
Guillermo Martínez Díaz-Guerra

Velázquez, 94 (1^a planta)
28006 Madrid

Tel: +34-648 949 755

seiommm@seiommm.org

www.seiommm.org

Edición



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

Maquetación
Concha García García

Traducción inglés
David Shea

ISSN: 2173-2345

Envío de originales:
romm@ibanezyplaza.com

Sumario

Vol. 12 - Nº 2 - Abril-Junio 2020

EDITORIAL

Metodología para mejorar la eficiencia en la migración y detección de células madre mesenquimales humanas en modelos murinos

Naves Díaz M 37

ORIGINALES

Método sensible para monitorizar la migración de las células madre mesenquimales de la médula ósea en modelos murinos

Del Real A, López-Delgado L, Sañudo C, Pérez-Núñez MI, Laguna E, Menéndez G, Garcés C, García-Montesinos B, García-Ibarbía C, Santurtún A, Riancho JA 40

¿Pueden las mediciones 3D derivadas de la DXA lumbar predecir fracturas en las vértebras dorsales?

López Picazo M, Humbert L, Di Gregorio S, González Ballester MA, Del Río Barquero LM 45

Impacto de la calcificación vascular en la mortalidad y salud ósea en pacientes con trasplante renal

García Castro R, Alonso Montes C, Gómez Alonso C, Martín Carro B, Suárez Hevia MA, Fernández Gómez JM, Suárez Fernández ML, Cannata Andía JB, Fernández Martín JL, Rodríguez García M 53

Fragilidad relativa de fémures osteoporóticos evaluados con DXA y simulación de caídas con elementos finitos guiados por radiografías de urgencias

Ruiz Wills C, Tassani S, Di Gregorio S, Martínez S, González Ballester MA, Humbert L, Noailly J, Del Río LM 62

REVISIÓN

Protocolo de diagnóstico y manejo de hipocalcemia en postoperatorio de tiroides

Huguet I, Muñoz M, Cortés M, Romero M, Varsavsky M, Gómez J 71

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

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

Comité Editorial

Dra. Teresita Bellido

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

Dr. Ernesto Canalis

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

Dra. Patricia Clark Peralta

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

Dr. Oswaldo Daniel Messina

Jefe de Reumatología. Hospital Argerich de Buenos Aires (Argentina). Profesor Asociado de Reumatología y Director de la carrera de post grado en Reumatología. Universidad de Buenos Aires (Argentina). Director Médico de Investigaciones Reumatológicas y Osteológicas de Buenos Aires (IRO SRL) (Argentina). Miembro del Board y del Comité de Asesores Científicos de la International Osteoporosis Foundation (IOF)
Correo electrónico: drosvaldodanielmessina@gmail.com

Dra. Lilian I Plotkin

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

Dr. Manuel Naves Díaz

Unidad de Gestión Clínica de Metabolismo Óseo. Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA). Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (ISPA). REDinREN del ISCIII. Universidad de Oviedo. Oviedo (España)
Correo electrónico: mnaves.huca@gmail.com

Dr. Manuel Díaz Curiel

Ex-Director de la Cátedra de Enfermedades Metabólicas Óseas. Universidad Autónoma Madrid. Consultor de Enfermedades Metabólicas Óseas. Fundación Jiménez Díaz. Madrid. Presidente Honorífico de la Fundación Hispana de Osteoporosis y Enfermedades Metabólicas Óseas (FHOEMO) (España)
Correo electrónico: mdcuriel@fjd.es

Dr. Adolfo Díez Pérez

Instituto Hospital del Mar de Investigación Médica (IMIM) y Servicio de Medicina Interna, Hospital Universitario del Mar. Universidad Autónoma de Barcelona. CIBER en Fragilidad y Envejecimiento Saludable (CIBERFES). Instituto Carlos III, Barcelona (España)
Correo electrónico: Adiez@parcdesalutmar.cat

Dr. José Antonio Riancho Moral

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

Metodología, estudio de datos y estadística: Pedro Saavedra Santana

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

Dr. Manuel Sosa Henríquez (Director)

Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Instituto Universitario de Investigaciones Biomédicas y Sanitarias (IUIBS). Grupo de Investigación en Osteoporosis y Metabolismo Mineral. Unidad Metabólica Ósea. Hospital Universitario Insular. Las Palmas de Gran Canaria (España)
Correo electrónico: manuel.sosa@ulpgc.es

Dra. María Jesús Gómez de Tejada Romero (Redactora)

Departamento de Medicina de la Universidad de Sevilla. Sevilla (España). Grupo de Investigación en Osteoporosis y Metabolismo Mineral de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Las Palmas de Gran Canaria (España)
Correo electrónico: mjgr@us.es

Metodología para mejorar la eficiencia en la migración y detección de células madre mesenquimales humanas en modelos murinos

DOI: <http://dx.doi.org/10.4321/S1889-836X2020000200001>

Naves Díaz M

Unidad de Gestión Clínica de Metabolismo Óseo. Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA). Red de Investigación Renal del Instituto de Salud Carlos III (REDinREN-ISCIII). Instituto de Investigación Sanitaria Principado de Asturias (ISPA). Oviedo (España)

La osteoporosis es una enfermedad generalizada del sistema esquelético caracterizada por un desequilibrio entre la formación y la resorción óseas que conlleva a una pérdida de masa ósea y a un deterioro de la microarquitectura del tejido óseo, que compromete la resistencia ósea y que condiciona como consecuencia una mayor fragilidad ósea y una mayor susceptibilidad a las fracturas¹.

En la cavidad de los huesos (médula ósea) coexisten dos células troncales: la célula madre hematopoyética, la cual da lugar a todas las células que forman la sangre y el sistema inmune, y la célula madre mesenquimal, responsable de la formación del esqueleto. Los osteoblastos o células formadoras de hueso tienen su origen por la diferenciación de las células madre mesenquimales. Estas células pluripotentes poseen la capacidad de originar una amplia variedad de tipos celulares como los osteoblastos, adipocitos o condrocitos²⁻⁴. Esta característica las convierte en candidatos de gran interés para la medicina regenerativa por su capacidad de poder migrar a las zonas de lesión teniendo la capacidad de generar hueso de *novo*⁵.

En la década de los 2000 ha crecido el interés en la utilización de las células madre mesenquimales en el campo del metabolismo óseo. Los estudios se han focalizado fundamentalmente en el tratamiento por vía intravenosa de células madre mesenquimales a niños con osteogénesis imperfecta, una deficiencia enzimática hereditaria de la síntesis de colágeno por las célu-

las mesenquimales en el hueso. Esta hipótesis se basa en la observación de que el trasplante de médula ósea puede proporcionar células estromales capaces de sintetizar colágeno intacto tipo I, reemplazando la deficiente función celular del paciente y mejorando los síntomas de la enfermedad. Se observó eficacia del tratamiento en un estudio realizado a seis niños recién nacidos, mostrando mejores tasas de crecimiento y comenzando a sintetizar hueso intacto⁶. En un segundo estudio, estos mismos autores mostraron que las células madre mesenquimales autólogas tenían una producción normal de colágeno en las cavidades óseas, y que los niños trasplantados tenían unas curvas de crecimiento similares a las de los niños trasplantados con médula ósea alogénica⁷. Este trabajo pionero ha servido de base para la aplicación exitosa de las células madre mesenquimales por vía intravenosa en otras entidades clínicas.

Las células madre mesenquimales una vez introducidas en el organismo inician un proceso que se conoce como *homing* o anidamiento en el que son retenidas en los vasos sanguíneos del tejido dañado y, desde estos vasos sanguíneos, son guiadas hasta el tejido por mediadores biológicos como quimiocinas, citoquinas y moléculas de adhesión.

Para la monitorización de las células humanas trasplantadas en modelos animales se utilizan células marcadas previamente con un fluoróforo para poder detectar la señal *in vivo* mediante resonancia



Para la monitorización de las células humanas trasplantadas en modelos animales se utilizan células marcadas previamente con un fluoróforo para poder detectar la señal *in vivo* mediante resonancia magnética o tomografía por emisión de positrones. Una alternativa a estas técnicas de imagen consiste en detectar por PCR cuantitativa a tiempo real la presencia de ADN humano transferido en el órgano de interés mediante elementos Alu, nombre que deriva de la presencia de un sitio de reconocimiento para la enzima de restricción Alu I.



magnética o tomografía por emisión de positrones⁸. Una alternativa a estas técnicas de imagen consiste en detectar por PCR cuantitativa a tiempo real la presencia de ADN humano transferido en el órgano de interés mediante elementos Alu⁹, nombre que deriva de la presencia de un sitio de reconocimiento para la enzima de restricción Alu I. Estos elementos Alu son secuencias cortas de unos 300 pares de bases, que se repiten a lo largo del genoma representando aproximadamente el 10% del total. Estas características y que la aparición de estas secuencias Alu se sitúa hace aproximadamente 65 millones de años, coincidiendo con el origen y expansión de los primates, las convierte en idóneas para detectar células humanas¹⁰. Sin embargo, los límites de detección de las actuales técnicas para el estudio de ADN genómico humano no permite distinguirlo de otros ADN no humanos.

En este número de la Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral, Del Real y cols.¹¹ desarrollan una metodología basada en el trabajo de Funakoshi y cols., utilizando un método de PCR cuantitativa a tiempo real altamente sensible y específico basado en secuencias Alu para discriminar las células humanas de las células de roedores¹². El objetivo de este trabajo fue estudiar, mediante análisis basado en PCR de secuencias Alu humanas, el rendimiento para detectar ADN humano después de la infusión de células madre de médula ósea humana en ratones inmunodeficientes. Las células madre de médula ósea humana se obtuvieron de la cabeza femoral de pacientes sometidos a cirugía de reemplazo de cadera.

Estos autores pudieron localizar el ADN humano en los pulmones de los ratones en el primer día y 7 días después de las infusiones celulares, pero este ADN humano se detectó de manera inconsistente en el hígado y los huesos

con una discreta disminución de ADN humano entre los días 1 y 7 en el pulmón, pero con claras diferencias en los niveles de ADN humano en el día 1 comparado con muestras que no contenían ADN humano.

Los autores comentan la necesidad de estudiar la distribución de estas células tras su infusión por vía sanguínea, para lo que se necesita un método muy sensible y específico de la detección de pequeñas poblaciones de células humanas entre las células del organismo receptor. Basándose en la metodología desarrollada por Funakoshi y cols.¹², Del Real y cols. pudieron detectar concentraciones muy bajas de ADN humano entre una alta concentración de ADN de ratón¹¹. Tras la inyección de células madre de médula ósea humana por vía intravenosa en ratones, estos autores comprobaron tras las primeras 24 horas y el séptimo día que las células humanas únicamente eran detectables en pulmón, sin aparecer de forma consistente ni en hígado ni en hueso. Como consecuencia de esta limitación práctica, se están ensayando varias estrategias para aumentar el tropismo de las células madre de médula ósea humana al tejido óseo, utilizando para ello la glicosilación de proteínas de membrana que permiten una mayor atracción por el hueso¹³.

Por tanto, como se ha comentado con anterioridad, si bien la utilización de células mesenquimales humanas mediante inyección por vía intravenosa para el tratamiento regenerativo del hueso es una estrategia muy prometedora, existen limitaciones metodológicas importantes al quedarse atrapadas en los pulmones y perderse rápidamente. La búsqueda de procedimientos que dirijan estas células de forma selectiva al hueso y la capacidad de mejorar su monitorización permitirá en un futuro cercano abrir una nueva vía terapéutica para el tratamiento de la osteoporosis.



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

Bibliografía

1. Díaz Curiel M. Osteoporosis: concepto. Fisiopatología. Clínica. Epidemiología. Rev Osteoporos Metab Miner. 2018;10 (1 Suplemento):2-4.
2. Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. Science. 1999;284:143-7.
3. Caplan AI, Dennis JE. Mesenchymal stem cells as trophic mediators. J Cell Biochem. 2006;98:1076-84.
4. Caplan AI. Why are MSCs therapeutic? New data: new insight. J Pathol. 2009;217:318-24.
5. Han Y, Li X, Zhang Y, Han Y, Chang F, Ding J. Mesenchymal stem cells for regenerative medicine. Cells. 2019;8(8): 886.
6. Horwitz EM, Gordon PL, Koo WK, Marx JC, Neel MD, McNall RY, et al. Isolated allogeneic bone marrow-derived mesenchymal cells engraft and stimulate growth in children with osteogenesis imperfecta: implications for cell therapy of bone. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002;99:8932-7.
7. Horwitz EM, Prockop DJ, Fitzpatrick LA, Koo WW, Gordon PL, Neel M, et al. Transplantability and therapeutic effects of bone marrow-derived mesenchymal cells in children with osteogenesis imperfecta. Nat Med. 1999;5:309-13.
8. Chikate TR, Tang L. Tracking and imaging of transplanted stem cells in animals. Methods Mol Biol. 2019; online ahead of print.
9. Schubert R, Sann J, Frueh JT, Ullrich E, Geiger H, Baer PC. Tracking of adipose derived mesenchymal stromal/stem cells in a model of cisplatin-induced acute kidney injury: Comparison of bioluminescence imaging versus qRT-PCR. Int J Mol Sci. 2018;19(9): E2564.
10. Batzer MA, Deininger PL. Alu repeats and human genomic diversity. Nat Rev Genet. 2002;3(5):370-9.
11. Del Real A, López-Delgado L, Sañudo C, Pérez-Núñez MI, Laguna E, Menéndez G, et al. Método sensible para monitorizar la migración de las células madre mesenquimales de la médula ósea en modelos murinos. Rev Osteoporos Metab Miner. 2020;12(2):40-44.
12. Funakoshi K, Bagheri M, Zhou M, Suzuki R, Abe H, Akashi H. Highly sensitive and specific Alu-based quantification of human cells among rodent cells. Sci Rep. 2017;7(1): 13202.
13. Sackstein R, Merzaban JS, Cain DW, Dagia NM, Spencer JA, Lin CP, et al. Ex vivo glycan engineering of CD44 programs human multipotent mesenchymal stromal cell trafficking to bone. Nat Med. 2008;14(2):181-7.

Método sensible para monitorizar la migración de las células madre mesenquimales de la médula ósea en modelos murinos

DOI: <http://dx.doi.org/10.4321/S1889-836X2020000200002>

Del Real A¹, López-Delgado L¹, Sañudo C¹, Pérez-Núñez MI², Laguna E², Menéndez G², Garcés C², García-Montesinos B³, García-Ibarbia C¹, Santurtún A⁴, Riancho JA¹

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

2 Servicio de Traumatología. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Universidad de Cantabria. Instituto de Investigación Valdecilla (IDIVAL). Santander (España)

3 Servicio de Cirugía Maxilofacial. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander (España)

4 Unidad de Medicina Legal. Universidad de Cantabria. Instituto de Investigación Valdecilla (IDIVAL). Santander (España)

Fecha de recepción: 23/01/2020 - Fecha de aceptación: 08/04/2020

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

Resumen

Objetivo: Las células madre mesenquimales (MSCs) son atractivas en la terapia regenerativa de patologías humanas. En los modelos murinos, en los que se trasplantan MSCs humanas, es muy importante poder distinguir el origen de las MSCs identificadas en los órganos de ratones. El objetivo de este estudio fue determinar el rendimiento del análisis basado en PCR de secuencias Alu humanas para detectar ADN humano después de la infusión de células madre de médula ósea humana (hBMSCs) en ratones inmunodeficientes.

Material y método: Las hBMSCs se obtuvieron de la cabeza femoral de pacientes sometidos a cirugía de reemplazo de cadera. Se infundieron 10⁶ hBMSCs por vía intravenosa mediante inyección en el seno retro-orbitario de ratones NOD/SCID. Después se evaluó la presencia de ADN humano en pulmón, hígado y hueso.

Resultados: En mezclas de ADN *in vitro*, el ADN humano se detectó fácilmente con una buena relación logarítmica-lineal. De manera similar, cuando se mezclaron osteoblastos humanos y de ratón, se detectaron fácilmente 1-10 células humanas entre 10⁵ células de ratón. Asimismo, se detectó el ADN humano en los pulmones 1 y 7 días después de las infusiones celulares en ratones NOD/SCID. Sin embargo, el ADN humano se detectó de manera inconsistente en el hígado y los huesos.

Conclusión: La detección de secuencias Alu es un procedimiento eficaz para detectar ADN humano. Los resultados confirman que la mayoría de las hBMSCs inyectadas por vía intravenosa quedan atrapadas en los pulmones. Por lo tanto, de cara al tratamiento de trastornos esqueléticos, se necesitan procedimientos para aumentar la migración de dichas células al hueso.

Palabras clave: células madre mesenquimales, osteoporosis, migración celular, terapia regenerativa, secuencias Alu.

INTRODUCCIÓN

La osteoporosis es la enfermedad ósea más frecuente, caracterizada por una baja masa ósea y alteración de la microestructura. Esto se debe a un desequilibrio entre la formación y la resorción óseas que causa pérdida de conexiones entre las distintas trabéculas óseas y un mayor adelgazamiento y porosidad del hueso cortical. En consecuencia, se produce mayor fragilidad del hueso y un incremento del riesgo de padecer fracturas (Fx)^{1,2}.

Los osteoblastos, las células especializadas en formar hueso, se originan por la diferenciación de células madre mesenquimales (MSCs)³. Estas células son multipoten-

tes y pueden diferenciarse a una amplia variedad de tipos celulares del mesodermo, como los osteoblastos, adipocitos o condrocitos. Las MSCs son candidatos de gran interés para la medicina regenerativa, porque migran a lesiones esqueléticas donde tienen la capacidad de formar nuevo hueso⁴. La importancia de las MSCs en el campo de la ingeniería de tejidos y la medicina regenerativa se ve reflejada en los numerosos estudios existentes en este campo^{5,6}. Además, en estos momentos hay más de 250 ensayos clínicos con MSCs, como se puede ver reflejado en la base de datos de ensayos clínicos (clinicaltrials.gov).

Para la monitorización de las células humanas trasplantadas en modelos animales se utilizan técnicas de imagen como la resonancia magnética y la tomografía por emisión de positrones, y células marcadas previamente con un fluoróforo para poder detectar la señal *in vivo*^{7,8}. Una aproximación alternativa consiste en detectar la presencia de ADN humano en modelos animales *ex-vivo*; es decir, una vez se haya completado el tratamiento, evaluar la presencia de ADN de origen humano en el órgano de interés por PCR cuantitativa a tiempo real (qPCR)⁹⁻¹¹. Las secuencias o elementos Alu son elementos cortos repetitivos e intercalantes del genoma (SINE), con aproximadamente una longitud de 300 pares de bases. Existen más de 1 millón de copias de secuencias Alu en el genoma humano, que ocupan sobre un 10% del genoma completo^{12,13}. Por su pequeño tamaño, distribución específica entre especies y su elevadísimo número de copias, son una diana muy útil para detectar células humanas. Sin embargo, gran parte de las técnicas experimentales basadas en Alu para detectar ADN genómico únicamente humano no alcanzan los límites de sensibilidad y especificidad necesarios para poder distinguirlos de ADN de otros primates o roedores^{13,14}. Funakoshi y cols. han desarrollado un método de PCR cuantitativa a tiempo real altamente sensible y específico basado en Alu para discriminar las células humanas de las células de roedores, para evitar posibles reacciones cruzadas con estos¹¹.

El objetivo de este estudio fue determinar el rendimiento del análisis basado en PCR de secuencias Alu humanas para detectar ADN humano después de la infusión de células madre de médula ósea humana (hBMSCs) en ratones inmunodeficientes (NOD/SCID).

MATERIAL Y MÉTODOS

Aislamiento de hBMSCs

Las hBMSCs se obtuvieron de la cabeza femoral de pacientes sometidos a cirugía de reemplazo de cadera. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación Clínica de Cantabria y los pacientes dieron su consentimiento informado por escrito. De la cabeza femoral se extrajeron cilindros de hueso trabecular con un trócar y de estos se realizaron lavados en PBS para obtener las células de la médula ósea. Los lavados se centrifugaron en Ficoll para obtener la capa mononuclear, que es la que finalmente se cultivó hasta llegar a un estado de confluencia del 80%.

Ratones NOD/SCID e infusión de células

Se utilizaron ratones inmunodeficientes NOD/SCID, obtenidos de Charles River Laboratories International, Inc. (Wilmington, Massachusetts, EE.UU.), a los que se les infundieron 10⁶ hBMSCs por vía intravenosa en el seno retro-orbitario.

Aislamiento de ADN y PCR cuantitativa a tiempo real

El fémur de ratón y los cilindros de hueso humano se homogeneizaron con un politrón en tampón de lisis y proteínasa k, que se mantuvo en una incubación durante toda la noche a 55°C con agitación. Los tejidos blandos, pulmón e hígado, se homogeneizaron directamente en tampón de lisis y proteínasa k. Después se aisló el ADN con fenol:cloroformo:alcohol isoamílico, y se precipitó con etanol 100%. Se evaluó la presencia de ADN humano en el ADN extraído de esos órganos (pulmón, hígado y hueso) mediante PCR en tiempo real, con una temperatura de hibridación de 56°C durante 40 ciclos, utilizando los cebadores y el protocolo propuestos por Funakoshi¹¹ (Tabla 1).

Tabla 1. Cebadores y la sonda de hidrólisis utilizada para la detección de secuencias ALU

Nombre	Secuencia (5'→3')
Cebador directo (101 F)	5'-GGTGAAACCCGCTCTACT-3'
Cebador reverso (206 R)	5'-GGTTCAAGCGATTCTCCTGC-3'
Sonda de hidrólisis (144RH)	5'-CGCCCGGCTAATTTTGTAT-3'

En todos los casos se incluyeron controles negativos sin ADN (NTC, *non template controls*) y ADN extraído de tejidos de ratones sin hBMSCs. Asimismo, se analizaron ADN extraído de mezclas artificiales de células humanas y de ratón, así como mezclas de ADN humano y ADN murino purificados. Se estimó el ciclo umbral (Ct) de cada muestra, es decir, el ciclo de amplificación a partir del cual eran detectables los amplicones. Lógicamente, existe una relación inversa entre la cantidad de ADN diana presente en la muestra y el Ct.

Se obtuvo el consentimiento informado por escrito de los pacientes que donaron las hBMSCs, siguiendo los formularios y procedimientos aprobados por el Comité de Ética de Investigación Clínica de Cantabria. Con respecto a los experimentos con animales, el protocolo fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación de la Universidad de Cantabria y la Consejería de Sanidad de Cantabria, según lo establecido por la normativa vigente.

RESULTADOS

Mezclas de ADN humano y de ratón

En los procedimientos de detección de ADN de origen humano en un organismo distinto, como, por ejemplo, el ratón, es imprescindible una alta sensibilidad y especificidad de la técnica. Para ello la primera valoración de la técnica de detección empleada en este artículo se realizó con mezclas de ADN y con mezclas de distinto número de células de origen humano y de ratón. Para evaluar la cantidad de ADN de cada muestra se ha utilizado un espectrofotómetro (DeNovix DS-11, Wilmington, EE.UU.). En primer lugar, se mezclaron soluciones patrón de 100 ng/μL de ADN humano con 100 ng/μL de ADN de ratón en relación 1:1 y se hicieron hasta 8 diluciones seriadas 1:10 en ADN de ratón. De esa manera, se obtuvieron diluciones progresivas de ADN humano, en presencia de cantidades de ADN de ratón prácticamente constantes. Los niveles de expresión en la escala Ct fueron 11,5; 14,6; 17,2; 21,0; 23,8; 26,8; 30,0; 32,5 y 33,6; para 100 ng/μL, 10 ng/μL, 1 ng/μL, 0,1 ng/μL, 0,01 ng/μL, 1 pg/μL, 0,1 pg/μL, 0,01 pg/μL y 0,001 pg/μL de ADN humano, respectivamente ($r^2=0,992$; $p<0,0001$) (Figura 1). En varios experimentos independientes, el ciclo umbral (Ct) para NTC fue de 34,6±1,8, por lo que se consideró 31 (2 desviaciones estándar por debajo de la media de los NTC) como el Ct máximo para considerar como positiva la presencia de ADN humano en una muestra. No se detectó señal cuando se analizaron hasta 100 ng de ADN únicamente de ratón (Ct fue de 34,7±1,6).

Posteriormente, se mezclaron osteoblastos humanos y de ratón a distintas proporciones previa a la extracción de ADN para simular la técnica de manera real. Se pudieron detectar fácilmente 10 células humanas en una mezcla de 10⁵ células de ratón (Ct 25,6) e incluso una sola célula quedaba próxima al límite de detección (Ct 30,8) (Figura 2).

Figura 1. A) Detección de distintas concentraciones de ADN humano en una alta concentración de ADN de ratón. B) Mismos resultados utilizando una escala logarítmica en el eje de abscisas que pone de manifiesto la relación log-lineal esperada. Se muestran en la figura el valor de r^2 de la regresión de Pearson y el valor p significativo para la regresión lineal. La línea discontinua en A) y B) muestra el valor umbral de detección de ADN de origen humano al mezclar distintas concentraciones

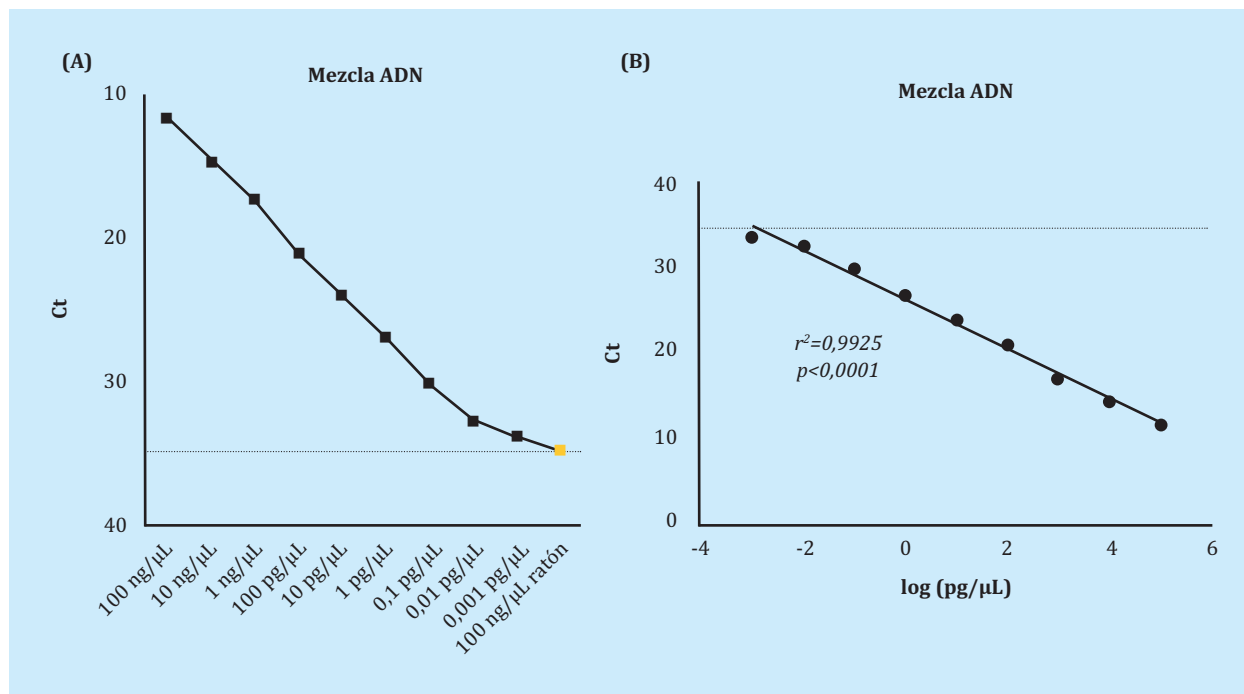
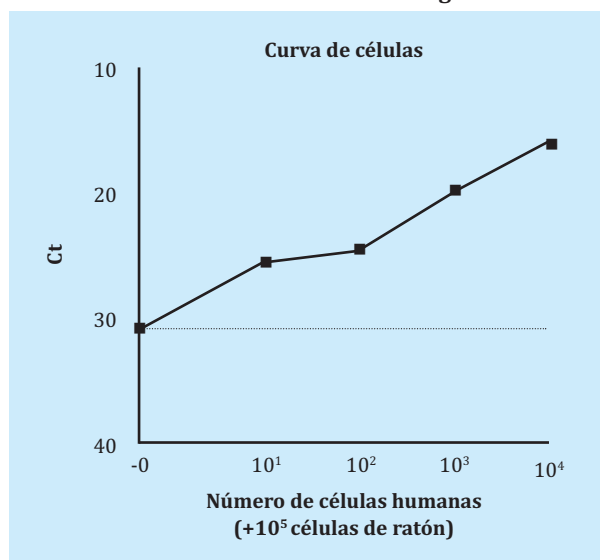


Figura 2. Curva de amplificación de la qPCR con el ADN obtenido de distintas mezclas. Las mezclas parten de distintos números de células de origen humano mezcladas con 10^5 células de ratón. La línea discontinua muestra el valor umbral de detección de ADN de origen humano



Análisis de ADN humano en tejidos de ratón

A continuación, se analizaron los tejidos de ratones NOD/SCID no fracturados tratados con hBMSCs por vía intravenosa. Además, se compararon estos niveles con los detectados en muestras de ADN de hueso humano diluido, como controles positivos. Se pudo localizar el ADN humano en los pulmones en el primer día y 7 días después de las infusiones celulares (Ct $22,6 \pm 0,7$ y $30,6 \pm 3,7$, respectivamente). Sin embargo, el ADN humano se de-

teció de manera inconsistente en el hígado y los huesos (Figura 3). Hay una disminución de ADN humano entre los días 1 y 7 en las muestras de pulmón, pero estas diferencias no son significativas. Sin embargo, al comparar los niveles de ADN humano del día 1 con las muestras que no tienen ADN sí son significativas (Figura 4).

DISCUSIÓN

La reparación de fracturas óseas es un proceso complejo, donde se dan una serie de mecanismos moleculares regulados por diversos factores que llevan a formar nuevo hueso. Esta reparación, en ocasiones, puede verse alterada por el envejecimiento y por distintas alteraciones óseas, como la osteoporosis o la necrosis avascular, entre otras⁵. La terapia regenerativa trata de solventar estos desequilibrios evitando los rechazos por alo-trasplantes y las reacciones inmunológicas adversas. Para ello se han empleado nuevos biomateriales osteoinductivos, factores de regulación osteogénica y las MSCs¹⁵. En particular, son de gran interés y existen múltiples estudios de las MSCs en este campo. Las MSCs se caracterizan por tener una capacidad de renovación alta y también de poder formar nuevos tipos celulares de origen mesodérmico, como los osteoblastos o los adipocitos. Además, tienen efectos in-muno-moduladores y segregan factores que inducen la diferenciación celular^{5,16}.

La función fisiológica y la capacidad de reparación de las MSCs humanas se estudian comúnmente en xenotrasplantes realizados en roedores. Tras los xenotrasplantes por vía intravenosa, las células pueden circular ampliamente por todo el organismo, y hay que estudiar su tropismo por distintos órganos. Consecuentemente, es necesario el estudio de la distribución de estas células tras su infusión por vía sanguínea, y para ello se necesita un método muy sensible y específico de la detección de

pequeñas poblaciones de células humanas entre las células del organismo receptor. Funakoshi y cols. han desarrollado un sistema de qPCR, teóricamente muy sensible y específico, que permite detectar estas pequeñas poblaciones de MSCs humanas que han sobrevivido tras su infusión en ratón. El mecanismo se basa en secuencias Alu que por evolución de especies difieren entre sí, logrando detectar de manera altamente específica aquellas de origen únicamente humano¹¹. Debido al número extremadamente alto de copias de la secuencia Alu en el genoma humano, un único cebador podría amplificar la secuencia genómica inter-Alu, lo que puede dar como resultado la formación de productos amplificados con patrones impredecibles y complejos. Para minimizar los efectos de tales señales no específicas, el método utiliza sondas de hidrólisis, que hibrida sobre la secuencia que ha de amplificar entre ambos cebadores. Aun así, en esta reacción hay hibridaciones inespecíficas con el genoma de ratón que provocan una inevitable señal de fluorescencia de fondo, que se considera ruido de la técnica. Nuestro objetivo fue confirmar la utilidad de esa metodología en nuestro modelo.

De hecho, con este procedimiento pudimos detectar concentraciones muy bajas de ADN humano entre una alta concentración de ADN de ratón, concretamente hasta 0,01 pg/ μ L de ADN humano entre 100 ng/ μ L de ratón. En mezclas de células, el umbral de detección fue de 1-10 células humanas en 10⁵ células de ratón.

Se inyectaron hBMSCs por vía intravenosa en ratones, y se pudo comprobar con este procedimiento que, tras las primeras 24 horas y el séptimo día, únicamente eran detectables en pulmón (no se detectaron de manera consistente ni en hígado ni en hueso). Se están ensayando varias estrategias para aumentar el tropismo de las hBMSCs al tejido óseo. Una de ellas se basa en modificar las proteínas de membrana, con partículas específicas de glicosilación que permiten la extravasación y un mayor tropismo por el hueso¹⁷.

Como conclusión, los resultados confirman que la mayoría de las hBMSCs inyectadas por vía intravenosa

Figura 3. Detección de las secuencias Alu humanas en distintos tejidos de ratón tras 1 y 7 días después de la infusión de BMSCs por vía intravenosa. En color naranja se encuentran las muestras control a las cuales no se les inyectaron células. La línea discontinua muestra el valor umbral de detección de ADN de origen humano. (●) Hígado; (■) Pulmón; (▲) Hueso. Las figuras geométricas de día 1 muestran la media de 3 ratones; Las del día 7 de 4 ratones; Y las sin células de 2 ratones. Los triángulos hacia abajo (▼), de color verde, son muestras de hueso de origen humano

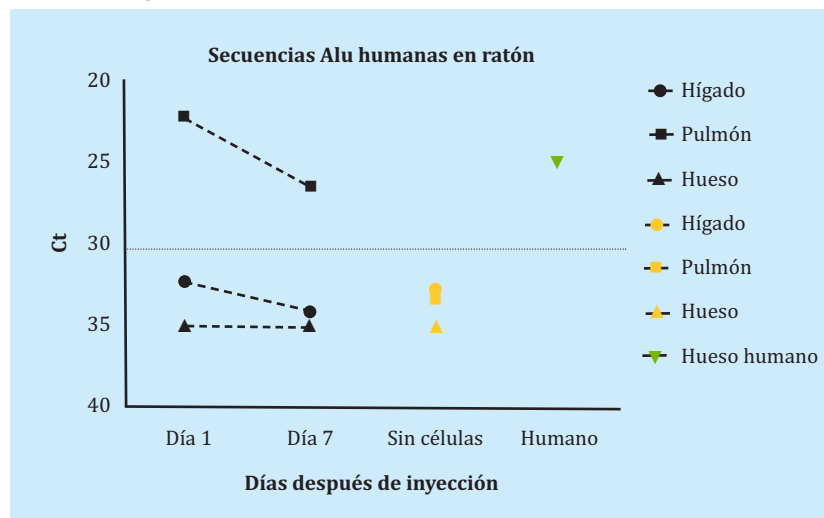
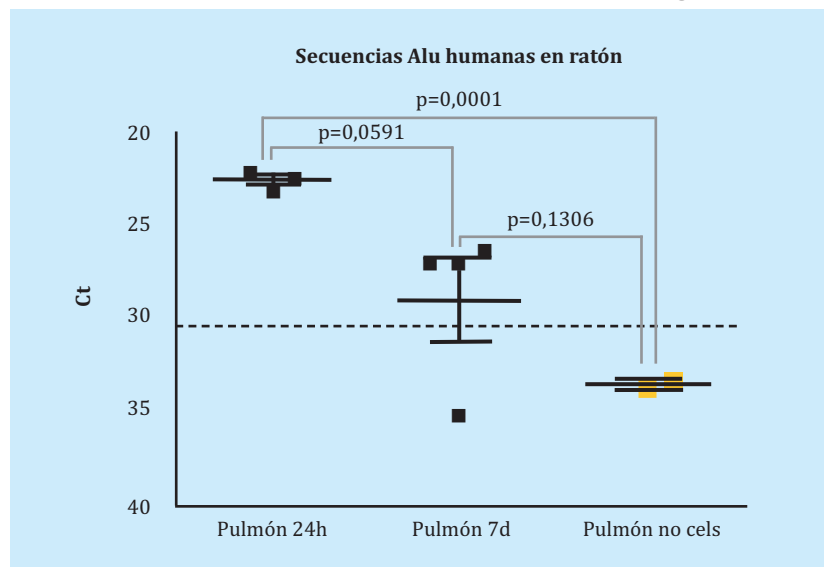


Figura 4. Detección de las secuencias Alu humanas en pulmón de ratón tras 1 y 7 días después de la infusión de BMSCs por vía intravenosa. En color naranja se encuentran las muestras control a las cuales no se les inyectaron células. La línea discontinua muestra el valor umbral de detección de ADN de origen humano



en ratones NOD/SCID se encuentran atrapadas en los pulmones y se pierden rápidamente. Por lo tanto, se necesitan procedimientos para aumentar el tropismo de estas células al hueso si se van a utilizar hBMSCs en procedimientos regenerativos esqueléticos de manera sistémica.

Financiación: Proyecto financiado por el Instituto de Salud Carlos III (PI16/915).

Bibliografía

- Eastell R, O'Neill TW, Hofbauer LC, Langdahl B, Reid IR, Gold DT, et al. Postmenopausal osteoporosis. *Nat Rev Dis Prim.* 2016;2(1):16069.
- Díaz Curiel M. Osteoporosis: concepto. *Fisiopatología. Clínica. Epidemiología. Rev Osteoporos Metab Miner.* 2018;10 (1 Suplemento):2-4.
- Katsimbri P. The biology of normal bone remodelling. *Eur J Cancer Care. (Engl).* 2017;26(6).
- Han Y, Li X, Zhang Y, Han Y, Chang F, Ding J. Mesenchymal stem cells for regenerative medicine. *Cells.* 2019;8(8):886.
- Iaquinta MR, Mazzoni E, Bononi I, Rotonondo JC, Mazziotta C, Montesi M, et al. Adult stem cells for bone regeneration and repair. *Front Cell Dev Biol.* 2019; 7:268.
- Brown C, McKee C, Bakshi S, Walker K, Hakman E, Halassy S, et al. Mesenchymal stem cells: Cell therapy and regeneration potential. *J Tissue Eng Regen Med.* 2019 Sep;13(9):1738-55.
- Freeman BT, Kouris NA, Ogle BM. Tracking fusion of human mesenchymal stem cells after transplantation to the heart. *Stem Cells Transl Med.* 2015; 4(6):685-94.
- Chikate TR, Tang L. Tracking and imaging of transplanted stem cells in animals. *Methods Mol Biol.* 2019; online ahead of print.
- Creane M, Howard L, O'Brien T, Coleman CM. Biodistribution and retention of locally administered human mesenchymal stromal cells: Quantitative polymerase chain reaction-based detection of human DNA in murine organs. *Cytotherapy.* 2017;19 (3):384-94.
- Schubert R, Sann J, Frueh JT, Ullrich E, Geiger H, Baer PC. Tracking of adipose-derived mesenchymal stromal/stem cells in a model of cisplatin-induced acute kidney injury: Comparison of bioluminescence imaging versus qRT-PCR. *Int J Mol Sci.* 2018;19(9):E2564.
- Funakoshi K, Bagheri M, Zhou M, Suzuki R, Abe H, Akashi H. Highly sensitive and specific Alu-based quantification of human cells among rodent cells. *Sci Rep.* 2017;7(1):13202.
- Salem A-H, Kilroy GE, Watkins WS, Jorde LB, Batzer MA. Recently integrated Alu elements and human genomic diversity. *Mol Biol Evol.* 2003;20(8):1349-61.
- Batzer MA, Deininger PL. Alu repeats and human genomic diversity. *Nat Rev Genet.* 2002;3(5):370-9.
- Jurka J. Evolutionary impact of human Alu repetitive elements. *Curr Opin Genet Dev.* 2004;14(6):603-8.
- Iaquinta MR, Mazzoni E, Manfrini M, D'Agostino A, Trevisiol L, Nocini R, et al. Innovative biomaterials for bone regrowth. *Int J Mol Sci.* 2019;20(3):618.
- Abdel Meguid E, Ke Y, Ji J, El-Hashash AHK. Stem cells applications in bone and tooth repair and regeneration: New insights, tools, and hopes. *J Cell Physiol.* 2018;233(3):1825-35.
- Sackstein R, Merzaban JS, Cain DW, Dagia NM, Spencer JA, Lin CP, et al. Ex vivo glycan engineering of CD44 programs human multipotent mesenchymal stromal cell trafficking to bone. *Nat Med.* 2008;14(2):181-7.

¿Pueden las mediciones 3D derivadas de la DXA lumbar predecir fracturas en las vértebras dorsales?

DOI: <http://dx.doi.org/10.4321/S1889-836X2020000200003>

López Picazo M^{1,2}, Humbert L¹, Di Gregorio S³, González Ballester MA^{2,4}, Del Río Barquero LM³

1 Unidad Musculoesquelética. Galgo Medical. Barcelona (España)

2 BCN Medtech (Centro Barcelona para Nuevas Tecnologías Médicas). Universidad Pompeu Fabra. Barcelona (España)

3 CETIR Grupo Médico. Barcelona (España)

4 ICREA (Institución Catalana de Investigación y Estudios Avanzados). Barcelona (España)

Fecha de recepción: 28/06/2019 - Fecha de aceptación: 27/02/2020

Trabajo premiado por una beca para asistir al 40º Congreso de la ASBMR (Montréal, 2018)

Resumen

Objetivo: Valorar la asociación de las mediciones tridimensionales (3D) derivadas de la absorciometría de rayos X de energía dual (DXA) lumbar con las fracturas osteoporóticas en las vértebras dorsales.

Material y métodos: Analizamos retrospectivamente 32 mujeres postmenopáusicas: 16 con fracturas incidentes en las vértebras dorsales y 16 controles sin ningún tipo de fractura. Las DXA lumbares se adquirieron en la visita inicial (es decir, antes del evento de fractura) y se midió la densidad mineral ósea de área (DMOa) en las vértebras L1 a L4. Las mediciones 3D derivadas de la DXA se evaluaron utilizando un *software* de modelado 3D (3D-SHAPER). La densidad mineral ósea volumétrica (DMOv) se calculó en el hueso trabecular, cortical e integral. También se midió el grosor cortical y la DMO superficial (DMOs) cortical. Las diferencias en las mediciones derivadas de la DXA entre los grupos de fracturados y controles se evaluaron utilizando una prueba t de Student no pareada. También se calculó la razón de probabilidades (OR) y el área bajo la curva característica operativa del receptor (AUC).

Resultados: En el presente estudio caso-control ajustado por edad no se encontraron diferencias significativas entre los grupos de fracturados y controles en términos de peso ($\rho=0,44$), altura ($\rho=0,25$) y DMOa ($\rho=0,11$). Sin embargo, sí se encontraron diferencias significativas ($\rho<0,05$) en la DMOv integral y trabecular y en la DMOs cortical. La DMOv trabecular en el cuerpo vertebral fue la medida que mejor discriminó entre ambos grupos, con un AUC de 0,733, respecto a 0,682 para la DMOa.

Conclusión: Este estudio muestra la capacidad de los modelos 3D derivados de la DXA lumbar para discriminar entre sujetos con fracturas incidentes en las vértebras dorsales y controles. Es necesario analizar cohortes mayores para determinar si estas mediciones podrían mejorar la predicción del riesgo de fractura en la práctica clínica.

Palabras clave: modelado 3D, riesgo de fractura, osteoporosis, trabecular, cortical, fractura vertebral, densidad mineral ósea volumétrica, densidad mineral ósea superficial.

INTRODUCCIÓN

Cada año se producen 8,9 millones de fracturas relacionadas con la osteoporosis en todo el mundo, lo que supone una fractura cada 3 segundos¹, siendo las fracturas vertebrales las fracturas osteoporóticas más comunes².

La absorciometría de rayos X de energía dual (DXA, por sus siglas en inglés) es el examen estándar para el diagnóstico de la osteoporosis y la evaluación del riesgo de fractura^{3,4}, gracias a ser una técnica de baja radiación y bajo coste. La DXA proporciona imágenes bidimensionales (2D) en las que se mide la densidad mineral ósea del área (DMOa) proyectada a lo largo de la dirección an-

teroposterior (AP). Diversos estudios demuestran que un valor bajo de DMOa medido en las exploraciones de AP DXA se encuentra entre los mayores riesgos de fractura³⁻⁵. Una disminución de una desviación estándar en la DMOa conduce a un aumento de entre 1,5 a 3,0 veces el riesgo de fractura, dependiendo del lugar de la fractura y del respectivo lugar de medición⁵. Sin embargo, un valor bajo de DMOa no es suficiente para explicar todas las fracturas. Estudios recientes sugieren que el riesgo de fractura es alto cuando existe un valor bajo de DMOa, pero esto no significa que el riesgo de fractura sea despreciable cuando el valor de DMOa es normal³⁻⁸.

La mayoría de las fracturas vertebrales relacionadas con la osteoporosis se localizan en el cuerpo vertebral⁹. En las imágenes AP DXA de la columna vertebral, el cuerpo vertebral se superpone con los elementos vertebrales posteriores, por lo que la DMO en el cuerpo vertebral no se puede estimar por separado. Por otro lado, el riesgo de fractura depende de la arquitectura del hueso trabecular y el grosor del hueso cortical¹⁰. Sin embargo, los compartimentos óseos trabeculares y corticales son difíciles de evaluar por separado en las exploraciones AP DXA.

Como alternativa a la DXA, la tomografía computarizada cuantitativa (QCT, por sus siglas en inglés) proporciona un análisis tridimensional (3D) de las estructuras óseas. En las imágenes de QCT, la DMO volumétrica (DMOV) se puede medir en el cuerpo vertebral independientemente de los elementos vertebrales posteriores, e incluso se pueden evaluar por separado las estructuras trabeculares y corticales^{3,11,12}. En estudios previos se ha evaluado la asociación entre la DMOV derivada de la QCT con la fractura vertebral^{8,13-17}. También se han analizado los modelos de elementos finitos basados en la QCT para conocer las propiedades mecánicas de las vértebras y predecir el riesgo de fractura vertebral¹⁷⁻²⁰. Sin embargo, las exploraciones de QCT en comparación con las de DXA suponen la exposición a una dosis más alta de radiación, además de ser económicamente más costosas. En consecuencia, la QCT rara vez se utiliza en la práctica clínica para la evaluación del riesgo de fractura.

Con el fin de superar las limitaciones de las exploraciones de DXA y QCT, diversos estudios proponen el uso de métodos de modelado 3D para estimar la forma y la distribución de densidad de los huesos a partir de un número limitado de exploraciones DXA²¹⁻²⁵. Dichos estudios utilizan un modelo estadístico tridimensional de la forma y la densidad del hueso, el cual se registra en las exploraciones DXA para obtener un modelo personalizado en 3D del hueso (tipo QCT). La precisión de esos métodos²¹⁻²⁵ se evaluó mediante la comparación de modelos y mediciones en 3D derivados de DXA y QCT. Sin embargo, según nuestro conocimiento, no se ha realizado ningún estudio sobre la asociación de las mediciones proporcionadas por las técnicas de modelado 3D basadas en la DXA con la fractura vertebral.

Por otro lado, la AP DXA suele incluir sólo la región lumbar (L1 a L4), ya que la caja torácica se superpone en la proyección, evitando el uso de la DXA para determinar la DMOa en la columna torácica. Sin embargo, diversos estudios indican que el mayor número de fracturas vertebrales relacionadas con la osteoporosis se producen en la unión toracoabdominal (T12-L1)^{15,26}. Aunque se desconoce la razón de esta prevalencia más alta, se ha sugerido que la cifosis torácica y la rigidez de la caja torácica predisponen esta área a la fractura al aumentar la carga vertebral en esta ubicación. Aunque las mediciones realizadas en el mismo sitio de la fractura muestran un poder mayor de discriminación, Budoff *et al.*²⁷ encontraron una alta correlación entre DMOV trabecular en las vértebras lumbares y DMOV trabecular en vértebras dorsales.

El objetivo de este estudio fue la evaluación de la capacidad de las mediciones 3D derivadas de la DXA para discriminar entre grupos de sujetos con fracturas incidentes en las vértebras dorsales y controles. Para ello se realizó un estudio retrospectivo de casos y controles, el cual incluyó mujeres caucásicas postmenopáusicas que experimentaron un evento de fractura en las vértebras

dorsales (casos) y mujeres controles de la misma edad sin ningún tipo de fractura. Para cada sujeto, las mediciones 3D derivadas de la DXA lumbar se obtuvieron en la visita inicial de referencia (la cual tuvo lugar al menos un año antes del evento de fractura vertebral para sujetos en el grupo de fracturados) utilizando escaneos de la AP DXA lumbar y una técnica de modelado 3D basada en la DXA²⁵.

MATERIALES Y MÉTODOS

Población de estudio

Analizamos retrospectivamente una base de datos recopilada en CETIR Grup Mèdic (Barcelona, España). La base de datos está compuesta por mujeres caucásicas postmenopáusicas de más de 40 años con visita inicial de referencia y visita de seguimiento, ambas realizadas entre los años 2000 y 2010. Los sujetos de la base de datos se estratificaron en dos grupos: pacientes con fracturas incidentes relacionadas con la osteoporosis en las vértebras dorsales (grupo de fracturados) y sujetos sin ningún tipo de fractura (grupo de controles). Los criterios de inclusión para el grupo de fracturados fueron: ausencia de fracturas osteoporóticas prevalentes, fractura osteoporótica incidente en las vértebras dorsales durante el periodo de seguimiento (entre uno y diez años desde la visita inicial de referencia), y ausencia de fracturas osteoporóticas no vertebrales durante el periodo de seguimiento. Los criterios de inclusión para el grupo de controles fueron: ausencia de cualquier tipo de fractura osteoporótica en la visita inicial y durante al menos siete años desde la visita inicial de referencia. Se excluyó a los individuos de ambos grupos si tenían una enfermedad ósea distinta de la osteoporosis, como osteoartritis grave, escoliosis grave, espondilitis, infección de la columna o crecimiento anormal de los huesos; o se habían sometido a una cirugía de columna. Cada sujeto del grupo de fracturados fue emparejado por edad (± 5 años) con un sujeto del grupo de controles (1:1). Los parámetros clínicos como la edad, el peso, la altura y el índice de masa corporal (IMC) se recopilaron para cada sujeto en la visita inicial de referencia. La base de datos utilizada en el presente estudio forma parte de un estudio anterior en el que se evaluó la asociación de las mediciones 3D derivadas de la DXA lumbar con distintos tipos de fracturas vertebrales²⁸.

Las fracturas vertebrales fueron confirmadas por un radiólogo especialista, el cual utilizó la evaluación de fracturas vertebrales de acuerdo con los criterios de clasificación semicuantitativos de Genant⁹. La ausencia de fractura se determinó revisando la historia clínica de los sujetos, analizando las exploraciones AP DXA en las visitas iniciales y de seguimiento, y descartando a los sujetos cuya altura disminuyó 2 cm o más entre la visita inicial de referencia y la visita de seguimiento. La presencia (grupo de fracturados) o ausencia (grupo de controles) de fracturas en las vértebras dorsales no se pudo confirmar mediante morfometría para todos los sujetos, por lo que el estudio se limita a fracturas clínicas.

Este estudio fue realizado según lo prescrito por la última versión de la Declaración de Helsinki. El Comité Científico del CETIR Grup Mèdic dio su aprobación ética para el uso de datos clínicos retrospectivos y de los resultados de las mediciones en el alcance de este estudio. Se aseguró el anonimato de cada sujeto que se mantuvo mediante el uso de códigos numéricos en todos los registros.

Imágenes médicas y mediciones 2D derivadas de la DXA

Se adquirió una exploración AP DXA lumbar en la visita inicial de referencia para todos los sujetos incluidos en el estudio. Las exploraciones DXA se realizaron con un densitómetro Prodigy (GE Healthcare, Madison, Wisconsin, EE.UU.) y se analizaron con el *software* enCORE (v14.10, GE Healthcare, Madison, Wisconsin, EE.UU.). Los escaneos y análisis DXA fueron realizados por un radiólogo en el CETIR Grup Mèdic de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. Las medidas 2D derivadas de DXA, como DMOa (en g/cm²), contenido de mineral óseo (CMO, en g) y área (en cm²), se midieron en las exploraciones de AP DXA en las vértebras L1 a L4. El *T-score* se evaluó utilizando las curvas de referencia de GE-Lunar para España.

Mediciones 3D derivadas de la DXA

Las mediciones 3D derivadas de la DXA en el segmento L1-L4 se obtuvieron con el *software* 3D-SHAPER (Galgo Medical, Barcelona, España) y las exploraciones AP DXA adquiridas en la visita inicial de referencia (antes de la fractura). 3D-SHAPER calcula un modelo personalizado en 3D de la forma y la densidad de la columna lumbar a partir de una única imagen AP DXA, como se describe en López Picazo *et al.*²⁵ y se resume brevemente a continuación. Primero, la estimación personalizada en 3D se obtiene al registrar y ajustar un modelo estadístico de forma y densidad en la imagen AP DXA. El modelo estadístico es previamente generado utilizando una base de datos de entrenamiento con exploraciones QCT de hombres y mujeres caucásicos. A continuación, se segmenta el hueso cortical del cuerpo vertebral utilizando un algoritmo basado en modelos de intensidad^{25,29}. Dicho algoritmo calcula el perfil de densidad a lo largo del vector normal en cada nodo de la malla de superficie 3D y lo ajusta a una función definida por el grosor y la densidad cortical, la ubicación de la corteza cortical, la densidad de los tejidos circundantes y el desenfoque de la imagen. Finalmente, las mediciones 3D derivadas de la DXA se realizan en diferentes regiones vertebrales y compartimentos óseos. La DMOv (en mg/cm³), el CMO (en g) y el volumen (en cm³) se midieron en el hueso integral de la vértebra total y del cuerpo vertebral. Estas mediciones también se obtuvieron para los compartimentos trabecular y cortical en el cuerpo vertebral. La media del grosor cortical (Cort. Th., en mm) y la densidad mineral ósea superficial del cortical (DMOs cortical, en mg/cm²) se midieron en el cuerpo vertebral. La DMOs cortical es la cantidad de hueso cortical por unidad de área integrada a lo largo del vector normal en cada nodo de la malla de superficie del cuerpo vertebral. Se calculó como la multiplicación de la DMOv cortical (en mg/cm³) y el Cort. Th. (en cm).

Análisis estadístico

Las estadísticas descriptivas, incluida la media y la desviación estándar, se utilizaron para analizar los grupos de fracturados y controles en la visita inicial de referencia. Las diferencias entre los grupos se evaluaron utilizando la prueba t de Student no pareada, después de verificar la normalidad de los datos. Se consideró estadísticamente significativo un valor de p<0,05. Se utilizaron regresiones logísticas invariadas para investigar posibles correlaciones entre variables independientes (peso, altura, IMC, medidas 2D y 3D derivadas de la DXA) y el estado de la fractura. La capacidad de las mediciones derivadas de la DXA para discriminar entre sujetos con fracturas y sujetos control se evaluó mediante el uso del área bajo la curva característica operativa del receptor (AUC, por sus siglas en inglés). Se calculó la razón de probabilidades u *odd ratio* (OR) con intervalos de confianza (IC) del 95% para estimar las probabilidades de que se produzca una fractura vertebral por cada cambio de una desviación estándar en las mediciones derivadas de la DXA. Para cada grupo se calculó el promedio de la forma 3D y la densidad para visualizar las diferencias en la distribución de DMOv. Se utilizaron cortes en el plano medio del cuerpo vertebral para visualizar la distribución anatómica de las diferencias en DMOv. La distribución de DMOs cortical también se calculó para cada grupo. Las diferencias en la distribución DMOs cortical se mostraron en una instancia de la forma promedio. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando Matlab Academic (versión R2015b, MathWorks, Inc., Natick, Massachusetts, EE.UU.).

RESULTADOS

Características de los sujetos

En este estudio se incluyeron 32 mujeres caucásicas postmenopáusicas: 16 pacientes con al menos una fractura osteoporótica incidente en las vértebras dorsales (grupo de fracturados) y 16 sujetos de la misma edad sin ningún tipo de fractura (grupo de controles). El grupo de fracturados estaba compuesto por 11 sujetos con una única vértebra dorsal fracturada y 5 sujetos con múltiples fracturas vertebrales. Se encontraron un total de 25 fracturas vertebrales incidentes en los pacientes del grupo de fracturados: dos T4, dos T7, una T8, una T9, tres T10, una T11, nueve T12, cinco L1 y una L2. Se desconoce si las fracturas vertebrales tenían deformidad en cuña, biconcava o aplastamiento.

Los pacientes en el grupo de fracturados tuvieron un evento de fractura vertebral en un promedio (\pm desviación estándar) de 3,2 \pm 2,4 años desde la visita inicial de referencia. Se aseguró la ausencia de eventos de fractura osteoporótica para los controles durante un periodo promedio de 8,4 \pm 1,0 años. No se observaron diferencias significativas (valor de p \geq 0,05) entre los grupos de fracturados y controles en términos de edad, peso, altura e IMC (Tabla 1).

Tabla 1. Características de los sujetos en la visita inicial

	Controles	Fracturados	p*
Número	16	16	
Edad (años)	63,9 \pm 7,7 [50,0 - 74,0]	64,9 \pm 8,4 [48,8 - 75,7]	0,738
Peso (kg)	61,7 \pm 10,1 [46,0 - 85,0]	64,2 \pm 8,2 [54,0 - 83,0]	0,444
Altura (cm)	154,0 \pm 4,7 [143,0 - 161,0]	156,0 \pm 5,1 [148,0 - 169,5]	0,251
IMC (kg/m ²)	26,0 \pm 3,6 [21,0 - 32,8]	26,4 \pm 2,9 [22,0 - 30,8]	0,733

Resultados expresados como media \pm desviación estándar [mínimo - máximo]; *: valores p de la prueba t de Student no pareada; IMC: índice de masa corporal.

Mediciones 2D derivadas de la DXA

Según los criterios de clasificación de la OMS, el 94% de los pacientes en ambos grupos tenían una DMOa baja (*T-score* de L1-L4 <-1). El grupo de fracturados estaba compuesto por 12 mujeres con osteoporosis, 3 con baja masa ósea y 1 con masa ósea normal; mientras que el grupo de controles estaba compuesto por 5 mujeres con osteoporosis, 10 con baja masa ósea y 1 con masa ósea normal.

La media de DMOa en el segmento L1-L4 del grupo de fracturados fue 8,1% más baja en comparación con el grupo de controles, aunque no significativa ($p=0,11$; tabla 2). Tampoco se observaron diferencias significativas en CMO y área ($p>0,05$). La DMOa discriminó entre el grupo de fracturados y controles con un AUC=0,662. Cada disminución de una desviación estándar en la DMOa se asoció con un aumento de casi dos veces las probabilidades de presentar una fractura osteoporótica en las vértebras dorsales (OR=1,862; IC del 95%: 0,862-4,022).

Mediciones 3D derivadas de la DXA

La DMOv integral en la vértebra total en el grupo de fracturados fue un 10,2% menor que en el grupo de controles ($p<0,05$; tabla 2). En el cuerpo vertebral, las diferencias en la DMOv fueron más pronunciadas en el hueso trabecular (-16,2%, $p<0,01$) que en el hueso integral (-12,8%, $p<0,01$). La DMOv cortical en el cuerpo vertebral fue 2,3% más baja en el grupo de fracturados, además de no significativa ($p=0,477$). La DMOs cortical en el cuerpo vertebral en el grupo de fracturados fue 10,0% más baja que en el grupo de controles ($p=0,018$). La distribución anatómica de las diferencias promedio en la DMOv trabecular en el cuerpo vertebral entre los sujetos incluidos en los grupos de fracturados y controles se muestra en la figura 1. En ella se observa como las diferencias en la DMOv trabecular son más pronunciadas cerca de las placas terminales del cuerpo vertebral.

Tabla 2. Mediciones derivadas de la DXA de la visita inicial en ambos grupos, diferencias entre grupos, AUC y OR

L1-L4	Controles	Fracturados	Diferencias	p*	AUC	OR [IC 95%]
Mediciones 2D derivadas de la DXA						
DMOa	0,931 ± 0,126	0,856 ± 0,133	-0,076 (-8,1%)	0,110	0,662	1,862 [0,862 - 4,022] ^a
CMO	46,6 ± 7,8	44,4 ± 9,6	-2,7 (-5,8%)	0,392	0,613	1,382 [0,672 - 2,841] ^a
Área	50,0 ± 3,9	51,1 ± 6,2	1,2 (2,4%)	0,523	0,488	0,785 [0,382 - 1,614] ^b
Mediciones 3D derivadas de la DXA						
Hueso integral, vértebra total						
Int. DMOv	256,2 ± 36,6	230,0 ± 34,0	-26,2 (-10,2%)	0,044	0,691	2,296 [0,974 - 5,413] ^a
Int. CMO	40,5 ± 6,9	38,1 ± 8,4	-2,4 (-6,0%)	0,379	0,602	1,394 [0,677 - 2,868] ^a
Int. volumen	157,9 ± 14,1	165,2 ± 23,7	7,3 (4,6%)	0,300	0,574	0,670 [0,317 - 1,417] ^b
Hueso integral, cuerpo vertebral						
Int. DMOv	207,6 ± 24,1	181,0 ± 20,5	-26,6 (-12,8%)	0,002	0,793	4,557 [1,411 - 14,718] ^a
Int. CMO	21,3 ± 3,1	19,2 ± 3,9	-2,1 (-9,7%)	0,109	0,652	1,865 [0,863 - 4,029] ^a
Int. volumen	102,6 ± 9,3	105,8 ± 15,5	3,2 (3,1%)	0,484	0,531	0,766 [0,371 - 1,583] ^b
Hueso trabecular, cuerpo vertebral						
Trab. DMOv	134,5 ± 21,2	112,7 ± 16,3	-21,8 (-16,2%)	0,003	0,801	5,060 [1,406 - 18,208] ^a
Trab. CMO	12,0 ± 2,0	10,5 ± 2,0	-1,5 (-12,7%)	0,038	0,688	2,338 [0,996 - 5,486] ^a
Trab. volumen	89,4 ± 8,7	93,3 ± 13,8	3,8 (4,3%)	0,357	0,563	0,702 [0,334 - 1,473] ^b
Hueso cortical, cuerpo vertebral						
Cort. DMOv	704,3 ± 47,9	687,9 ± 77,2	-16,3 (-2,3%)	0,477	0,543	1,307 [0,639 - 2,673] ^a
Cort. CMO	9,3 ± 1,4	8,7 ± 2,2	-0,6 (6%)	0,401	0,570	1,373 [0,668 - 2,823] ^a
Cort. volumen	13,2 ± 1,3	12,5 ± 1,9	-0,6 (-4,7%)	0,294	0,621	1,492 [0,716 - 3,110] ^a
Cort. Th.	0,66 ± 0,06	0,62 ± 0,05	-0,05 (-7,1%)	0,017	0,734	2,659 [1,115 - 6,342] ^a
Cort. DMOs	52,2 ± 6,5	47,0 ± 5,1	-5,2 (-10,0%)	0,018	0,734	2,649 [1,111 - 6,313] ^a
Hueso cortical, regiones del cuerpo vertebral						
Cort. DMOs (Superior)	58,7 ± 8,0	52,5 ± 5,8	-6,3 (-10,7%)	0,017	0,730	2,722 [1,115 - 6,644]
Cort. DMOs (Inferior)	56,9 ± 6,8	51,5 ± 5,7	-5,3 (-9,4%)	0,023	0,754	2,793 [1,060 - 7,358]
Cort. DMOs (Anterior)	41,1 ± 7,4	35,9 ± 5,9	-5,3 (-12,8%)	0,035	0,699	2,363 [1,020 - 5,477]
Cort. DMOs (Posterior)	54,1 ± 8,8	50,1 ± 8,8	-4,0 (-7,4%)	0,209	0,637	1,629 [0,762 - 3,480]

Las mediciones de los grupos de fracturados y controles se expresan como media ± desviación estándar. Las diferencias entre grupos se expresan como media (porcentaje). *: valores p de la prueba t de Student no pareada; valores $p<0,05$ se muestran en negrita; ^a: razón de probabilidades correspondiente a una desviación estándar de decremento en la medida; ^b: razón de probabilidades correspondiente a una desviación estándar de incremento en la medida; AUC: área por debajo de la curva de característica operativa del receptor; OR: razón de probabilidades; IC: intervalo de confianza; Int.: integral; Trab.: trabecular; Cort.: cortical; DMOa: densidad mineral ósea del área (g/cm^2); CMO: contenido mineral óseo (g); área (cm^2); DMOv: densidad mineral ósea volumétrica (mg/cm^3); volumen (cm^3); Cort. Th.: espesor cortical (mm); DMOs: densidad mineral ósea de superficie (mg/cm^2); Int.: hueso integral; Trab.: hueso trabecular; Cort.: hueso cortical; Total: vértebra total; Cuerpo: cuerpo vertebral.

La DMOv trabecular en el cuerpo vertebral fue la medida asociada con unos valores mayores de AUC (0,801) y OR (5,060; IC 95%: 1,406-18,208), en comparación con las otras mediciones derivadas de la DXA (Tabla 2). Se encontraron valores ligeramente más bajos para la DMOv integral en el cuerpo vertebral (AUC=0,793 y OR=4,557; IC 95%: 1,411-14,718). El mapa AUC asociado con los valores de DMOv trabecular calculados en cada vóxel de las imágenes volumétricas de los sujetos incluidos en los grupos de fracturados y controles se muestra en la figura 2. Sólo se representan los AUC del percentil 90 (AUC >0,720). Se alcanzó un valor AUC máximo de 0,815. Las mediciones de DMOv trabecular muestran un valor AUC mayor cerca de las placas terminales.

La DMOs cortical en el cuerpo vertebral se asoció con unos valores mayores de AUC (0,734) y OR (2,649; IC

95%: 1,111-6,313), en comparación con las otras mediciones realizadas en el hueso cortical (Tabla 2). La distribución anatómica de las diferencias promedio en la DMOs cortical entre los sujetos incluidos en los grupos de fracturados y controles se muestra en la figura 3 (superior). Se encontraron diferencias más pronunciadas (color magenta) en las placas terminales de las vértebras L1, L2 y L4. La DMOs cortical en la placa terminal inferior fue la medida de DMOs con mayores valores de AUC (0,754) y OR (2,793; IC 95%: 1,060-7,358). La figura 3 (inferior) muestra el valor AUC calculado utilizando DMOs cortical en cada vértice de la superficie del cuerpo vertebral. Los valores AUC del percentil 90 (es decir, en el rango de 0,777-0,836) están rodeados con un círculo rojo y se encontraron principalmente en las placas terminales.

Figura 1. Distribución anatómica de las diferencias promedio de la DMOv trabecular entre los sujetos incluidos en el grupo de fracturados y los controles. Las diferencias se muestran en el plano medio coronal (centro) y en el plano medio lateral (derecha) del cuerpo vertebral. La imagen izquierda muestra los planos usados. Los colores rojo-amarillo (respectivamente azul-verde) indican regiones donde la diferencia en la DMOv trabecular entre los sujetos con fractura vertebral en comparación con los controles es en promedio más baja (respectivamente más alta). Los cambios no significativos (prueba t de Student no pareada) se muestran en negro. El contorno en rosa indica la superficie perióstica del cuerpo vertebral

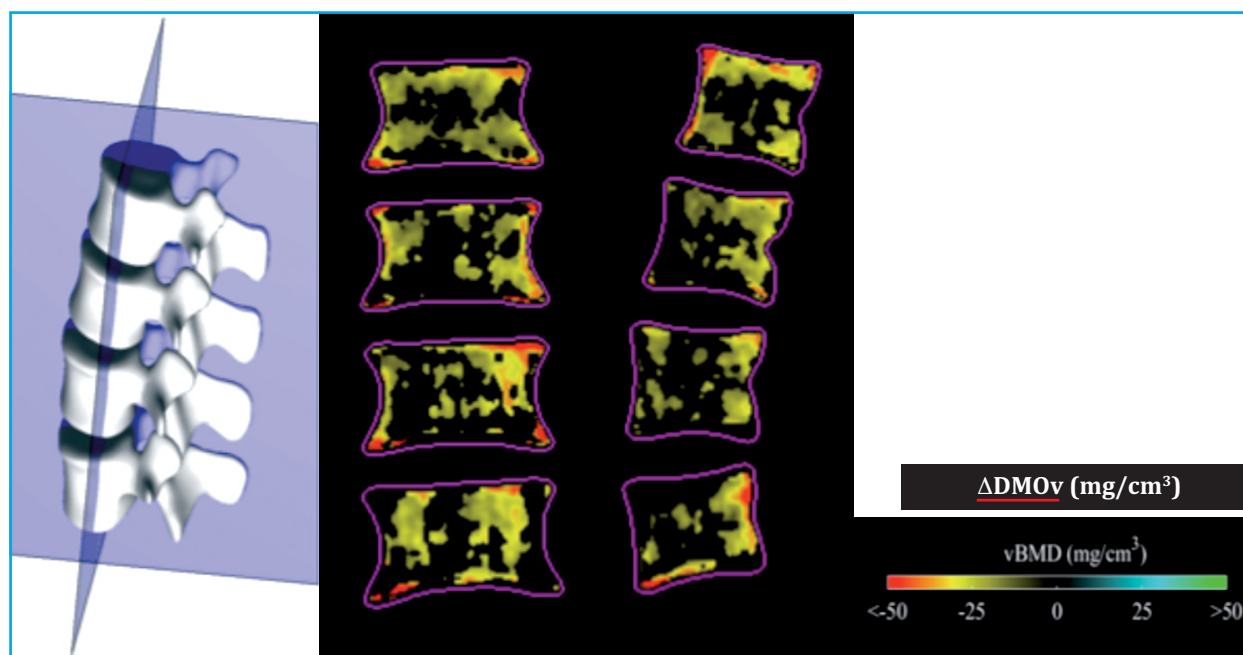


Figura 2. Mapa de AUC calculado usando la DMOv trabecular en cada vóxel de las imágenes volumétricas de los sujetos incluidos en los grupos de fracturados y los controles. Solo se muestran AUC mayores al percentil 90 (AUC >0,778). El máximo AUC observado es 0,930

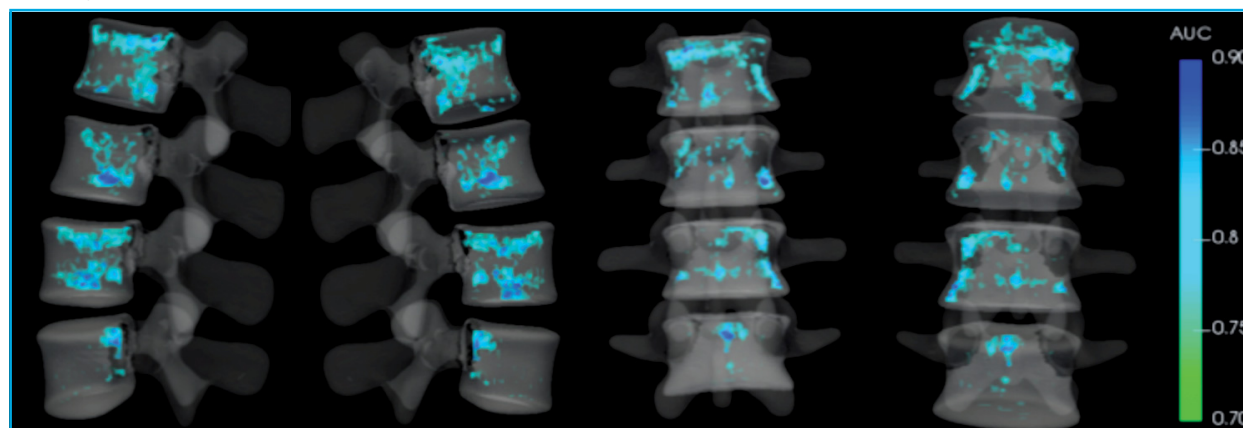
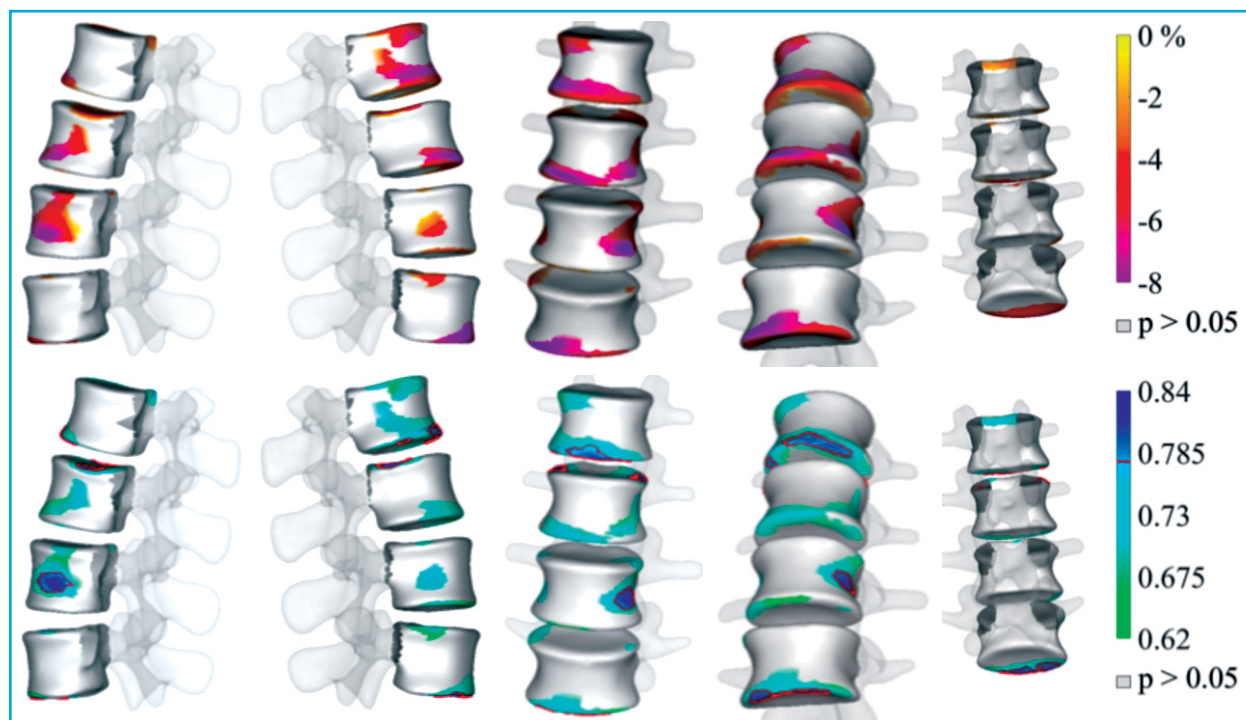


Figura 3. Superior: distribución anatómica de las diferencias promedio en la DMOs cortical del cuerpo vertebral entre los sujetos incluidos en el grupo de fracturados y de controles. Los cambios no significativos (prueba t de Student no pareada) se muestran en gris. **Inferior:** el AUC se calculó utilizando la DMOs cortical en cada vértice de la superficie del cuerpo vertebral de los sujetos incluidos en los grupos de fracturados y controles. Las regiones donde las diferencias en la DMOs cortical no fueron significativas (prueba t de Student no pareada) en la región de interés de la vértebra total se muestran en gris. Las regiones que muestran un AUC mayor que el percentil 90 (es decir, un $AUC > 0,777$) están circuladas en rojo. El AUC máximo fue de 0,836



DISCUSIÓN

En el presente estudio se evaluó la capacidad de las mediciones 3D derivadas de la DXA lumbar para discriminar entre mujeres postmenopáusicas con y sin fracturas osteoporóticas en las vértebras dorsales. Las mediciones 3D derivadas de la DXA se realizaron en la visita inicial de referencia (al menos un año antes del evento de fractura vertebral), utilizando exploraciones DXA estándar y una técnica de modelado 3D²⁵.

La edad, el sexo y el IMC son factores de riesgo independientes para las fracturas relacionadas con la osteoporosis^{3,4}. En este estudio se utilizó una base de datos de mujeres postmenopáusicas pareadas por edad, para eliminar el posible efecto de esta y el sexo en los resultados. Aunque no se utilizaron criterios de inclusión relacionados con la altura o el peso para reclutar a los sujetos, no se encontraron diferencias significativas entre los grupos en términos de altura, peso e IMC en la visita inicial de referencia.

No se observaron diferencias significativas en la DMOa (-8,1%, $p=0,110$), pero sí en la DMOv integral (-10,2%, $p=0,044$). Por otro lado, se encontraron OR mayores para las mediciones de DMOv derivadas de la DXA en el cuerpo vertebral (OR=4,557; IC 95%: 1,411-14,718 en el hueso integral, y OR=5,060; IC 95%: 1,406-18,208 en el hueso trabecular) en comparación con DMOa (OR=1,862; IC 95%: 0,862-4,022). Estos resultados son consistentes con diversos estudios de la literatura, donde se encontró que el OR para las mediciones de DMOv derivadas de la QCT son similares o superiores, en comparación con las mediciones de DMOa¹⁴⁻¹⁶. Melton *et al.*¹⁴ reportaron un OR ligeramente mayor para DMOv en el segmento L1-L3 (OR=2,2;

IC 95%: 1,1-4,3) en el hueso integral y (OR=1,9; IC 95%: 1,0-3,6) en el hueso trabecular, en comparación con DMOa (OR=0,7; IC 95%: 0,4-1,2). Anderson *et al.*¹⁵ reportaron un OR mayor para DMOv en L3 (OR=5,3; IC 95%: 1,3-21) en el hueso integral y (OR=5,6; IC 95%: 1,3-23,4) en el hueso trabecular, en comparación con DMOa (OR=2,8; IC 95%: 1,0-8,0). Grampp *et al.*¹⁶ reportaron un OR mayor para DMOv en el segmento L1-L4 (OR=3,0; IC 95%: 1,5-6,1) en el hueso integral y (OR=4,3; IC 95%: 1,8-10,1) en el hueso trabecular, en comparación con DMOa (OR=2,4; IC 95%: 1,4-4,2).

La DMOv trabecular en el cuerpo vertebral fue la medida que mejor discriminó entre los grupos de fracturados y de controles, con un AUC de 0,801, frente al 0,662 para DMOa. En la literatura se ha encontrado hallazgos similares en estudios basados en QCT^{3,4,11-17,30}. Chalhoub *et al.*¹³ reportaron un AUC de 0,79 para DMOv trabecular, frente al 0,72 para DMOa. Melton *et al.*¹⁴ reportaron un AUC de 0,78 para DMOv trabecular, frente al 0,75 para DMOa. Grampp *et al.*¹⁶ reportaron un AUC de 0,82 para DMOv trabecular, frente al 0,78 para DMOa. Imai *et al.*²⁰ reportaron un AUC de 0,77 para DMOv trabecular, frente al 0,71 para DMOa.

Las enfermedades degenerativas de la columna vertebral, la calcificación aórtica abdominal y otras lesiones escleróticas aumentan artificialmente la DMOa medida en la AP DXA^{3,4,11,30}, a pesar de que los pacientes con tales patologías tienen mayor riesgo de fractura. La DMOv trabecular en el cuerpo vertebral podría ser menos sensible a los artefactos producidos por esas enfermedades, que a menudo se encuentran en la superficie vertebral (hueso cortical) o en el arco posterior. Esto podría explicar los

valores de AUC más altos encontrados para las mediciones de DMOv trabecular de nuestro estudio. En este sentido, las mediciones 3D derivadas de la DXA del hueso trabecular en el cuerpo vertebral podrían proporcionar una medida alternativa, superando la limitación del diagnóstico basado en DMOa al descartar espolones óseos, deformaciones locales en la superficie perióstica o en los procesos vertebrales posteriores³⁰.

En el presente estudio, las diferencias fueron menos pronunciadas en el hueso cortical (DMOs cortical: -10,1%, AUC=0,734) que en el hueso trabecular (DMOv trabecular: -16,2%, AUC=0,801). Estudios biomédicos demostraron que la contribución del hueso cortical a la fuerza vertebral suele ser baja en sujetos normales, pero podría ser considerable en sujetos con osteoporosis^{30,31}. La precisión de las mediciones derivadas de la DXA en el hueso trabecular y cortical se evaluó en trabajos anteriores²⁷. Sin embargo, la corteza del cuerpo vertebral es muy delgada (de 180 a 600 μm con un grosor medio de 380 μm)³², y los métodos de modelado 3D basados en la DXA difícilmente pueden modelar deformidades locales, lo que podría afectar la precisión de la cortical. La DMOs cortical se considera una medida más robusta del hueso cortical que la DMOv cortical, ya que, en general, es más fácil de medir en imágenes de baja resolución^{31,32}.

Las diferencias locales entre los grupos de fracturados y de controles se analizaron utilizando imágenes codificadas por colores. Las diferencias promedio en la DMOv trabecular entre los sujetos incluidos en los grupos de fracturados y los controles y su respectivo AUC fueron mayores cerca de las placas terminales y menores en el centro del cuerpo vertebral. Estudios experimentales de fracturas vertebrales en especímenes muestran como las placas terminales del cuerpo vertebral son las regiones donde comienza el fallo a nivel del tejido³³⁻³⁶. Esos hallazgos son consistentes con los estudios biomecánicos que muestran que la fracción de carga máxima en el hueso trabecular ocurre normalmente cerca de las placas terminales^{20,35,36}. La distribución anatómica de las diferencias promedio en la DMOs cortical entre los sujetos incluidos en el subgrupo de fractura de columna torácica y su respectivo subgrupo de control muestra diferencias más pronunciadas en las placas terminales³³⁻³⁶. Los resultados son consistentes con los estudios biomecánicos que muestran el grosor y la densidad de la placa terminal, y la densidad del hueso trabecular adyacente como buenos factores predictivos de rigidez y resistencia locales.

La limitación más importante del presente estudio es el número pequeño de sujetos incluidos. Las principales dificultades para incluir sujetos en el grupo de fracturados fueron encontrar pacientes con imágenes DXA antes de la fractura incidente, ya que la mayoría de los pacientes acuden al consultorio médico después del evento de fractura, y asegurarse de que los sujetos no presentaran fracturas osteoporóticas prevalentes en ningún hueso en la visita de referencia inicial. Además, nuestro estudio es monocéntrico, solo incluye mujeres caucásicas postme-

nopáusicas y no todas ellas tienen la misma vértebra fracturada. Por lo tanto, los resultados solo pueden extrapolarse a poblaciones con características similares. Además, debido al diseño de nuestro estudio (retrospectivo y caso-control), no podemos implicar directamente una asociación causal entre la reducción de las mediciones 3D derivadas de DXA y la fractura osteoporótica. Otra limitación es que los participantes incluidos en este estudio no se sometieron a un examen QCT. Por lo tanto, no pudimos realizar una comparación directa entre los resultados obtenidos utilizando mediciones 3D derivadas de DXA con mediciones derivadas de QCT. Tampoco se realizó una comparación de las medidas 3D derivadas de la DXA con otros métodos usados en la práctica clínica para la predicción del riesgo de fractura (como el *Trabecular Bone Score* -TBS- o la herramienta FRAX®). Además, la presencia/ausencia de fractura vertebral se confirmó mediante exploraciones DXA anteroposteriores y morfometría vertebral (VFA, *Vertebral Fracture Assessment*). Hubiera sido interesante incluir otras modalidades de imagen, como QCT o rayos X para evaluar más a fondo las fracturas vertebrales.

CONCLUSIONES

Este estudio de casos y controles mostró la asociación de mediciones 3D derivadas de DXA lumbar con las fracturas osteoporóticas incidentes en las vértebras dorsales. El grupo de fracturados mostró valores inferiores de DMOv medidos en diferentes regiones vertebrales y compartimentos en comparación a los valores medidos en el grupo de controles. La DMOv trabecular en el cuerpo vertebral fue la medida que mejor discriminó entre los grupos de fracturados y de controles. Los métodos basados en modelado 3D a partir de la DXA podrían ser una opción valiosa para complementar las mediciones 2D estándar derivadas de DXA en el manejo de la osteoporosis. En trabajos futuros se realizarán estudios similares que incluyan cohortes mayores para determinar si las mediciones 3D derivadas de la DXA lumbar podrían mejorar la predicción del riesgo de fractura en la práctica clínica. También se realizarán estudios caso-control con sujetos que presenten exclusivamente osteopenia según los criterios de la DMOa.

Agradecimientos: Nos gustaría agradecer el apoyo del programa de Doctorado Industrial de la Generalitat de Catalunya, así como la Fundación QUAES - Cátedra UPF de Herramientas Computacionales para la Salud. La investigación que condujo a estos resultados también recibió fondos del Programa Estatal de Investigación, Desarrollo e Innovación Orientada a los Retos de la Sociedad, Ministerio de Economía y Competitividad (Referencia: RTC-2014-2740-1) y del programa Eurostars (ID del proyecto: 9 140) financiado por el Centro para el Desarrollo Tecnológico Industrial, Ministerio de Economía y Competitividad. Por otro lado, la autora Mirella López Picazo recibió la beca FEIOMM para presentar los resultados del presente trabajo en ASBMR 2018.



Conflicto de intereses: López Picazo M es empleado de Galgo Medical. Humbert L es accionista y empleado de Galgo Medical. Di Gregorio S, González Ballester MA y Del Río Barquero LM no tienen conflicto de intereses.

Bibliografía

- Johnell O, Kanis JA. An estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures. *Osteoporos Int.* 2006;17:1726-33.
- Ballane G, Cauley JA, Luckey MM, El-Hajj Fuleihan G. Worldwide prevalence and incidence of osteoporotic vertebral fractures. *Osteoporos Int.* 2017;28:1531-42.
- Kanis JA. Diagnosis of osteoporosis and assessment of fracture risk. *Lancet.* 2002;359:1929-36.
- Kanis J A, Johansson H, Oden A, McCloskey EV. Assessment of fracture risk. *Eur J Radiol.* 2009;71:392-7.
- Marshall D, Wedel H. Meta-analysis of how well measures of bone mineral density predict occurrence of osteoporotic fractures. *BMJ.* 1996;312:1254-59.
- Siris ES, Chen YT, Abbott TA, Barrett-Connor E, Miller PD, Wehren LE, et al. Bone mineral density thresholds for pharmacological intervention to prevent fractures. *Arch Intern Med.* 2004;164:1108-12.
- Dimai HP. Use of dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) for diagnosis and fracture risk assessment; WHO-criteria, T- and Z-score, and reference databases. *Bone.* 2017;104:39-43.
- Gordon CM, Lang TF, Augat P, Genant HK. Image-based assessment of spinal trabecular bone structure from high-resolution CT images. *Osteoporos Int.* 1998;8:317-25.
- Genant HK, Wu CY, van Kuijk C, Nevitt MC. Vertebral fracture assessment using a semiquantitative technique. *J Bone Miner Res.* 1993;8:1137-48.
- Prevrhal S, Fox JC, Shepherd JA, Genant HK. Accuracy of CT-based thickness measurement of thin structures: Modeling of limited spatial resolution in all three dimensions. *Med Phys.* 2003;30:1-8.
- Li N, Li XM, Xu L, Sun WJ, Cheng XG, Tian W. Comparison of QCT and DXA: Osteoporosis detection rates in postmenopausal women. *Int J Endocrinol.* 2013;2013:895474.
- Engelke K, Libanati C, Fuerst T, Zysset P, Genant HK. Advanced CT based in vivo methods for the assessment of bone density, structure, and strength. *Curr Osteoporos Rep.* 2013;11:246-55.
- Chalhoub D, Orwoll ES, Cawthon PM, Ensrud KE, Boudreau R, Greenspan S, et al. Areal and volumetric bone mineral density and risk of multiple types of fracture in older men. *Bone.* 2016;92:100-6.
- Melton LJ 3rd, Riggs BL, Keaveny TM, Achenbach SJ, Hoffmann PF, Camp JJ, et al. Structural determinants of vertebral fracture risk. *J Bone Miner Res.* 2007;22:1885-92.
- Anderson DE, Demissie S, Allaire BT, Bruno AG, Kopperdahl DL, Keaveny TM, et al. The associations between QCT-based vertebral bone measurements and prevalent vertebral fractures depend on the spinal locations of both bone measurement and fracture. *Osteoporos Int.* 2014;25:559-66.
- Grampp S, Genant HK, Mathur A, Lang P, Jergas M, Takada M, et al. Comparisons of noninvasive bone mineral measurements in assessing age-related loss, fracture discrimination, and diagnostic classification. *J Bone Miner Res.* 1997;12:697-711.
- Kopperdahl DL, Aspelund T, Hoffmann PF, Sigurdsson S, Siggeirsdottir K, Harris TB, et al. Assessment of incident spine and hip fractures in women and men using finite element analysis of CT scans. *J Bone Miner Res.* 2014;29:570-80.
- Wang X, Sanyal A, Cawthon PM, Palermo L, Jekir M, Christensen J, et al. Prediction of new clinical vertebral fractures in elderly men using finite element analysis of CT scans. *J Bone Miner Res.* 2012;27:808-16.
- Zysset P, Qin L, Lang T, Khosla S, Leslie WD, Shepherd JA, et al. Clinical use of quantitative computed tomography-based finite element analysis of the hip and spine in the management of osteoporosis in adults: the 2015 ISCD Official Positions-Part II. *J Clin Densitom.* 2015;18:359-92.
- Imai K, Ohnishi I, Matsumoto T, Yamamoto S, Nakamura K. Assessment of vertebral fracture risk and therapeutic effects of alendronate in postmenopausal women using a quantitative computed tomography-based nonlinear finite element method. *Osteoporos Int.* 2009;20:801-10.
- Ahmad O, Ramamurthi K, Wilson KE, Engelke K, Prince RL, Taylor RH. Volumetric DXA (VXA): A new method to extract 3D information from multiple in vivo DXA images. *J Bone Miner Res.* 2010;25:2744-51.
- Väänänen SP, Grassi L, Flivik G, Jurvelin JS, Isaksson H. Generation of 3D shape, density, cortical thickness and finite element mesh of proximal femur from a DXA image. *Med Image Anal.* 2015;24:125-34.
- Humbert L, Martelli Y, Fonolla R, Steghofer M, Di Gregorio S, Malouf J, et al. 3D-DXA: assessing the femoral shape, the trabecular macrostructure and the cortex in 3D from DXA images. *IEEE Trans Med Imaging.* 2017;36:27-39.
- Whitmarsh T, Humbert L, Del Río Barquero LM, Di Gregorio S, Frangi AF. 3D reconstruction of the lumbar vertebrae from anteroposterior and lateral dual-energy X-ray absorptiometry. *Med Image Anal.* 2013;17:475-87.
- López Picazo M, Magallon Baro A, Del Río Barquero LM, Di Gregorio S, Martelli Y, Romera J, et al. 3D 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;37:1-12.
- Van der Klift M, De Laet CE, McCloskey EV, Hofman A, Pols HA. The incidence of vertebral fractures in men and women: the Rotterdam Study. *J Bone Miner Res.* 2002;17:1051-6.
- Budoff MJ, Hamirani YS, Gao YL, Ismaeel H, Flores FR, Child J, et al. Measurement of thoracic bone mineral density with quantitative CT. *Radiology.* 2010;257:434-40.
- 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;30:1099-110.
- 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;43:1945-54.
- Guglielmi G, Floriani I, Torri V, Li J, van Kuijk C, Genant HK, et al. Effect of spinal degenerative changes on volumetric bone mineral density of the central skeleton as measured by quantitative computed tomography. *Acta Radiol.* 2005;46:269-75.
- Treece GM, Gee AH. Independent measurement of femoral cortical thickness and cortical bone density using clinical CT. *Med Image Anal.* 2015;20:249-64.
- Winzenrieth R, Humbert L, Di Gregorio S, Bonel E, García M, Del Río L. Effects of osteoporosis drug treatments on cortical and trabecular bone in the femur using DXA-based 3D modeling. *Osteoporos Int.* 2018;29:2323-33.
- Noshchenko A, Plaseied A, Patel VV, Burger E, Baldini T, Yun L. Correlation of vertebral strength topography with 3-dimensional computed tomographic structure. *Spine (Phila Pa 1976).* 2013;38(4):339-49.
- Jackman TM, Hussein AI, Adams AM, Makhnejia KK, Morgan EF. Endplate deflection is a defining feature of vertebral fracture and is associated with properties of the underlying trabecular bone. *J Orthop Res.* 2014;32:880-6.
- Eswaran SK, Gupta A, Adams MF, Keaveny TM. Cortical and trabecular load sharing in the human vertebral body. *J Bone Miner Res.* 2006;21:307-14.
- Jackman TM, Hussein AI, Curtiss C, Fein PM, Camp A, De Barros L, et al. Quantitative, 3D visualization of the initiation and progression of vertebral fractures under compression and anterior flexion. *J Bone Miner Metab.* 2016;31:777-88.

Impacto de la calcificación vascular en la mortalidad y salud ósea en pacientes con trasplante renal

DOI: <http://dx.doi.org/10.4321/S1889-836X2020000200004>

García Castro R¹, Alonso Montes C², Gómez Alonso C², Martín Carro B², Suárez Hevia MA³, Fernández Gómez JM³, Suárez Fernández ML⁴, Cannata Andía JB², Fernández Martín JL², Rodríguez García M⁴

1 Servicio de Nefrología. Hospital Juaneda Miramar. Red Asistencial Juaneda. Palma de Mallorca (España)

2 Unidad de Gestión Clínica de Metabolismo Óseo. Hospital Universitario Central de Asturias (HUCA). Instituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (ISPA). Red de Investigación Renal – Instituto de Salud Carlos III (REDinREN-ISCIII). Universidad de Oviedo. Oviedo (España)

3 Unidad de Gestión Clínica de Urología. Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo (España)

4 Área de Gestión Clínica de Nefrología. Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo (España)

Fecha de recepción: 17/03/2020 - Fecha de aceptación: 08/04/2020

Resumen

Objetivos: Evaluar la prevalencia de calcificación vascular y fracturas vertebrales en una cohorte de pacientes sometidos a trasplante renal, y su asociación con mortalidad por todas las causas y disfunción del injerto, así como la relación con parámetros bioquímicos del metabolismo óseo y mineral.

Material y métodos: Estudio prospectivo, observacional, unicéntrico, en el que se incluyeron 405 pacientes sometidos a trasplante renal, con recogida de parámetros clínicos, bioquímicos, epidemiológicos y de calcificación vascular radiológica y fracturas vertebrales mediante radiografía simple en el momento del trasplante, con un seguimiento mínimo de dos años, evaluando mortalidad cardiovascular y por todas las causas y descenso del filtrado glomerular. Se dispuso además de 39 estudios de densitometría ósea realizados en los meses previos al trasplante.

Resultados: La supervivencia de los pacientes fue significativamente menor en el grupo de pacientes con calcificación vascular (131±1,5 meses sin calcificación frente a 110±3,5 meses con calcificación vascular, $p<0,001$). Se observó un mayor descenso del filtrado glomerular estimado (FGE) mediante la fórmula CKD-EPI en todos los pacientes que presentaban calcificación vascular, siendo esta un factor de riesgo independiente (OR=2,7; IC 95%: 1,6-4,4; $p<0,001$). La prevalencia de fracturas vertebrales fue significativamente mayor en el grupo de calcificación vascular (12%), independientemente de otros factores de riesgo (OR=9,2; IC 95%: 1,2-73,4; $p=0,036$). Se ha asociado la prevalencia de fracturas vertebrales con menor masa ósea en cadera evaluada mediante densitometría ósea (T -score -1,2 vs. -2,4, $p=0,02$)

Conclusiones: La calcificación vascular previa al trasplante, evaluada mediante un método sencillo, barato y accesible como la radiografía simple, condiciona la morbimortalidad del paciente sometido a trasplante renal y tiene un gran impacto sobre la evolución de la función del injerto, independientemente de otros factores de riesgo tradicionales. La asociación entre la fragilidad ósea, la calcificación vascular y el pronóstico del paciente y del injerto renal nos debe hacer pensar en añadir la densitometría ósea en el protocolo de inclusión en lista de espera de trasplante. Es relevante promover no sólo la mejor salud vascular posible sino también promover el menor impacto en el tejido óseo en la progresión de la enfermedad renal crónica antes del momento del trasplante.

Palabras clave: calcificación vascular, fractura vertebral, radiografía simple, densitometría, trasplante renal, mortalidad.

INTRODUCCIÓN

Las alteraciones del metabolismo óseo y mineral asociadas a la enfermedad renal crónica (ERC), conocidas por sus siglas sajonas CKD-MBD (*Chronic Kidney Disease – Mineral and Bone Disorders*), se definieron ya en el año 2009 como un conjunto de trastornos sistémicos del metabolismo óseo y mineral debidos a la enfermedad renal crónica, que se traducen en una combinación de las siguientes manifestaciones^{1,2}:

I) Anomalías del metabolismo del calcio, fósforo, paratohormona o vitamina D.

II) Anomalías del remodelado óseo, mineralización, volumen, crecimiento lineal o resistencia.

III) Calcificaciones vasculares y de otros tejidos blandos.

Esta definición, actualizada recientemente³, y los documentos de consenso de diversas sociedades científicas⁴, han destacado la importancia del papel de la calcificación vascular en la morbimortalidad del paciente con enfermedad renal crónica.

El trasplante renal constituye el tratamiento de elección en la terapia renal sustitutiva de los pacientes con ERC,



Correspondencia: Raúl García Castro (rgccandanedo@gmail.com)

dado que mejora la esperanza de vida y la calidad de la misma. Sin embargo, el impacto de la recuperación de la función renal tras la cirugía sobre las alteraciones del metabolismo óseo mineral es controvertido⁵. Las calcificaciones vasculares no revierten tras el trasplante, y coexisten con otras alteraciones del metabolismo óseo-mineral en el marco del tratamiento inmunosupresor. La variedad de métodos empleados en la detección de las calcificaciones vasculares en los estudios previos al trasplante renal, así como la heterogeneidad de los estudios disponibles hasta ahora, no permiten analizar con precisión la magnitud del impacto de la calcificación en la evolución del injerto renal⁶.

La pérdida de masa ósea después del trasplante renal ocurre principalmente en los primeros 6 meses tras el trasplante y se reduce a medida que disminuye la dosis de corticoides⁷. El descenso es del 5,5-19,5% durante los primeros 6 meses, del 2-8% entre los 6 y los 12 meses, y de 1-2% a partir de entonces. La rápida pérdida ósea que ocurre después del trasplante condiciona unas altas prevalencias (7-20%) e incidencias (3-4%/año) de fracturas, muy superiores tanto a las de la población general como a las de la población en hemodiálisis⁸.

El objetivo primario de este estudio fue evaluar la prevalencia de calcificación vascular y fracturas vertebrales en una cohorte de pacientes sometidos a trasplante renal, y su asociación con disfunción del injerto y con mortalidad cardiovascular y por todas las causas, así como el papel de la pérdida de masa ósea y de otras alteraciones del metabolismo óseo y mineral en la evolución postrasplante.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se diseñó un estudio prospectivo, observacional, unicéntrico, en el que se incluyeron los 405 pacientes sometidos a trasplante renal entre los años 2008 y 2017, previa firma de consentimiento informado. Se excluyeron del estudio aquellos receptores que no dieron su consentimiento para participar en el mismo y aquellos cuyo seguimiento fue inferior a dos años o se realizó en otra región, así como los pacientes con complicaciones quirúrgicas intraoperatorias que obligaron a la exéresis inmediata del injerto o que fallecieron en el postoperatorio inmediato (n=95). El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Investigación del Principado de Asturias.

Se realizó una recogida sistemática de parámetros clínicos, bioquímicos, epidemiológicos en el momento del trasplante y un seguimiento tras la intervención mínimo de dos años en todos los pacientes incluidos. Así, se recogieron:

1. Datos generales y antropométricos: edad en el momento del trasplante, sexo, estatura, peso, índice de masa corporal.

2. Datos sobre enfermedad renal y terapia renal sustitutiva (TRS) previa al trasplante: causa de la ERC, diuresis residual, tiempo en diálisis, modalidad de TRS.

3. Factores de riesgo cardiovascular y antecedentes clínicos: hipertensión arterial (HTA), diabetes *mellitus* (DM), dislipemia (DL), consumo de tabaco.

4. Datos bioquímicos promedio de los 6 meses previos al trasplante: calcio sérico (Ca), fósforo sérico (P), hemoglobina sérica (Hb), paratohormona (PTH) y albúmina (Alb).

5. Datos sobre el trasplante renal: se recogieron datos sobre la edad de los donantes, la tasa de injerto renal no funcionante, la tasa de disfunción inicial del injerto (aquellos pacientes que precisaron continuar con diálisis

durante los primeros días tras la cirugía), la tasa de rechazo agudo inmune, y la compatibilidad HLA (*human leukocyte antigen*).

6. Evaluación radiológica de las calcificaciones vasculares y de las fracturas vertebrales en los estudios pretrasplante: el estudio radiológico consistió en la realización de radiografías de pelvis anteroposterior, columna dorsal y lumbosacra en proyecciones anteroposterior y lateral.

Los estudios radiológicos fueron evaluados de forma ciega, por parte de dos expertos de forma independiente. Se evaluó la concordancia entre un mismo observador e interobservador⁹, con un índice *kappa* de 0,74, en ambos casos (para la presencia de calcificación vascular aórtica, y presencia o no de fracturas vertebrales, sin considerar la gravedad de las calcificaciones o el tipo/grado de las fracturas).

Se definió como presencia de calcificaciones vasculares a cualquier calcificación del territorio de la aorta abdominal, las arterias ilíacas, femorales, uterinas/espermáticas (más de dos calcificaciones parcheadas aisladas o una calcificación lineal visible en una sección del vaso)¹⁰. Para el análisis de mortalidad y eventos cardiovasculares se ha empleado la calcificación de aorta abdominal por ser la más prevalente en la cohorte a estudio.

Se ha empleado la clasificación semicuantitativa de Genant¹¹ para establecer la existencia de fractura vertebral osteoporótica en las imágenes radiológicas dorsales y lumbosacras anteroposterior y laterales, siempre y cuando presentasen un acúñamiento, biconcavidad y/o aplastamiento grado 1 de Genant o superior.

7. Evaluación mediante densitometría de la CKD-MBD: la densidad mineral ósea (DMO) se midió en columna lumbar posteroanterior (L2-L4) y en cuello femoral derecho, mediante densitómetro DXA Hologic® QDR-1000 (Hologic Inc., Waltham, Massachusetts. EE.UU.). Se disponía de 39 estudios realizados en los dos años pretrasplante.

8. Evaluación de la función renal y metabolismo óseo del paciente con trasplante: creatinina, filtrado glomerular estimado (FGE) según la fórmula CKD-EPI (*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*), Ca, P, PTH en intervalos de 3, 6, 12 y 24 meses. Se evaluó la mortalidad por todas las causas, con un tiempo de seguimiento medio de 7,2±2,4 años (mínimo de 2 años, máximo de once años), así como la mortalidad por evento cardiovascular (infarto agudo de miocardio -IAM- y/o accidente cerebrovascular -ACV-), y la disfunción del injerto no justificado por causa inmunológica¹², entendido este como un descenso marcado del filtrado glomerular en el seguimiento postrasplante.

Análisis estadístico

El análisis descriptivo se muestra en forma de porcentajes (%), medias (X) y desviaciones estándar (DE), o medianas (Mn) y rango intercuartílico en las variables que no tenían una distribución normal.

Para el análisis de las diferencias entre los parámetros clínicos y bioquímicos, y la asociación de los mismos con la calcificación vascular, se utilizaron las pruebas estadísticas de T-Student, test de Chi-cuadrado, análisis de regresión logística múltiple y pruebas no paramétricas (U-Mann Whitney) cuando fueron necesarias, con un intervalo de confianza (IC) de 95%, y considerando un valor de $p < 0,05$ como estadísticamente significativo.

Para el análisis de la supervivencia, se calcularon las curvas de Kaplan Meier, junto con el análisis multivariante de regresión logística y de regresión de Cox.

El análisis estadístico se realizó mediante el software IBM® SPSS® Statistics v.20.00 para Windows.

RESULTADOS

Las características generales de los pacientes incluidos en el estudio se muestran en la tabla 1. En lo referente a los parámetros bioquímicos relacionados con el metabolismo óseo mineral en los seis meses previos al trasplante, el valor medio de calcio sérico fue 9,17±0,85 mg/dl, de fósforo sérico 4,45±1,31 mg/dl, de albúmina 38,3±4,4 mg/dl, de hemoglobina del 11,3±1,9 g/dl y la mediana de PTH de 244 pg/ml, con un rango intercuartílico comprendido entre 150 y 360.

La edad media de los donantes fue de 54±12 años, con una correlación con la edad de los receptores de R=0,645 (p<0,001), la tasa de injerto nunca funcionante fue del 3,5%, el porcentaje de disfunción inicial del injerto con posterior recuperación fue del 35,5%, la tasa de rechazo agudo del 11%, y la media de compatibilidades HLA fue de 2±1.

El 66,4% de los pacientes incluidos en el estudio presentaban algún tipo de calcificación vascular radiológica en los territorios analizados, no encontrando diferencias entre las distintas modalidades de diálisis. Así, el 64,2% presentaban calcificación a nivel de aorta abdominal, el 53% presentaban calcificación a nivel de ilíacas, el 40,6% presentaban calcificación en el territorio femoral y el 23,9% presentaban calcificación en las arterias uterinas o espermatícas, aunque en el trabajo actual se hará referencia únicamente a la calcificación en aorta abdominal. Las características basales de los pacientes y los parámetros de la CKD-MBD, según la existencia o no de calcificación vascular radiológica previa, se muestran en la tabla 2.

La prevalencia global de fracturas vertebrales en los estudios pretrasplante fue del 8,4%; en lo referente a los estudios de densitometría ósea (n=39), los valores de masa ósea en columna vertebral fueron de 0,915±0,176 g/cm², con un promedio de T-score de -1,3±1,6, y de 0,717±0,131 g/cm² en cadera, con un promedio de T-score de -1,3±1,1, significativamente menor en pacientes con calcificación vascular radiológica (1,1±1,1 vs. -0,6±0,9; p=0,045). Los resultados y las características de los pacientes, en base a la detección previa o no de fracturas vertebrales, así como el resultado de las densitometrías óseas disponibles (n=39), se muestran en la tabla 3.

Se ha encontrado una fuerte asociación entre calcificación vascular y fracturas vertebrales (estando estas presentes en el 95% de los pacientes con calcificación vascular), y a su vez con los valores de densitometría ósea, como se muestra en la figura 1. Los resultados del análisis de regresión logística de los factores de riesgo de calcificación vascular se muestran en la tabla 4.

La evolución de los parámetros bioquímicos del metabolismo óseo mineral y de la función del injerto renal en el seguimiento postrasplante se muestra en la figura 2. Se observó un menor FGE en todos los pacientes que presentaban calcificación, y analizando el descenso del filtrado glomerular entre los 3 y los 24 meses de seguimiento, una reducción media de 3,36 ml/min en los pa-

Tabla 1. Características generales de los pacientes incluidos en el estudio

	N=310
Edad (años), X ± DE	55 ± 12
Sexo (hombre), %	61,6
Estatura (cm), X ± DE	166 ± 9
Peso medio (kg), X ± DE	74 ± 15
IMC (kg/m ²), X ± DE	26,68 ± 4,84
Etiología ERC, %	
Glomerulonefritis	24,5
PQHR	18,4
Idiopática	15,5
Diabetes mellitus	13,4
Hipertensión arterial	11,6
Otras	6,1
Modalidad TRS, %	
HD	56,5
DP	35,8
ERCA	7,7
T en diálisis (meses), Mn [Rn]	15 [8-31]
HTA (Sí), %	86,1
DM (Sí), %	21,3
DL (Sí), %	39
Tabaquismo activo (Sí), %	21,3

N: población de estudio; X: media; DE: desviación estándar; IMC: índice de masa corporal; ERC: enfermedad renal crónica; PQHR: poliquistosis hepatorenal; HD: hemodiálisis; DP: diálisis peritoneal; ERCA: enfermedad renal avanzada; T: tiempo; Mn: mediana; Rn: rango; HTA: hipertensión arterial; DM: diabetes mellitus; DL: dislipemia.

cientes con calcificación vascular en algún territorio, frente a un aumento de 7,31 ml/min en los pacientes sin calcificación vascular. Los resultados del análisis multivariante de regresión de Cox, para evaluar los factores de riesgo para el descenso del FGE en el seguimiento postrasplante, se muestran en la tabla 4.

La tasa de mortalidad global por todas las causas fue del 13,8%, de las que el 35% fueron de etiología cardiovascular, el 25,8% por complicaciones infecciosas, el 16,1% de etiología neoplásica y el resto por otras causas. La supervivencia de los pacientes fue significativamente menor en el grupo de pacientes con calcificación vascular (131±1,5 meses sin calcificación frente a 110±3,5 meses con calcificación vascular, p<0,001), como se muestra en el análisis de Kaplan-Meier en la figura 3. Analizando exclusivamente la mortalidad de etiología cardiovascular (accidente cerebrovascular isquémico o infarto agudo de miocardio), los hallazgos fueron idénticos (Log Rank=7,43, p<0,001), sin presentar ningún paciente sin calcificación vascular previa un evento cardiovascular fatal. Los factores de riesgo independientes de mortalidad, según el análisis multivariante de regresión de Cox, tanto cardiovascular como por todas las causas, se muestran en la tabla 5, donde no se incluyeron los resultados de los estudios de densitometría ósea, dado su reducido número. La DMO vertebral fue de 0,902±0,172 g/cm² en los pacientes no fallecidos (n=37) frente a 1,114±0,096 g/cm² en los fallecidos (n=2) (T-score -1,5 vs. 0,6), y la DMO a nivel de cadera fue de 0,721±0,134 g/cm² en los no fallecidos frente a 0,678±0,044 g/cm² en los fallecidos (T-score -1,4 vs. -2), sin diferencia estadística entre ambos grupos.

Tabla 2. Características basales, existencia de fracturas vertebrales y datos del trasplante de los pacientes en función de la existencia de calcificación vascular radiológica en cualquier territorio previa al trasplante

	No CV (N=104)	Sí CV (N=206)	p
<i>Datos generales y antropométricos</i>			
Edad (años), X ± DE >60 años, %	48 ± 13 17,9	58 ± 10 42,8	<0,001**
Sexo (hombre), %	48,7	64,2	0,01*
IMC (kg/m ²), X ± DE	25,52 ± 5,93	26,98 ± 4,36	NS**
<i>Datos sobre enfermedad renal y terapia sustitutiva</i>			
Modalidad TRS: HD, %	51,3	62	NS*
Modalidad TRS: DP, %	48,6	37	NS*
T dialisis >12 meses, %	53	66	0,04*
Diuresis residual (ml), X	731	635	NS**
<i>Factores de riesgo cardiovascular y antecedentes clínicos</i>			
DM (Sí), %	12,8	31,1	<0,001*
HTA (Sí), %	83,3	87,7	NS*
DL (Sí), %	25,9	45,7	<0,001*
Tabaquismo (Sí), %	19,2	33,1	0,018*
<i>Parámetros bioquímicos de CKD-MBD en los 6 meses previos al trasplante</i>			
Ca (mg/dl), X ± DE	9,21 ± 0,97	9,14 ± 0,78	NS**
P (mg/dl), X ± DE	4,23 ± 1,21	4,57 ± 1,35	NS**
PTH (pg/ml), X ± DE	253 ± 221	299 ± 208	NS**
Alb (mg/dl), X ± DE	38,5 ± 4,7	38,25 ± 4,3	NS**
Hb (g/dl), X ± DE	11,4 ± 1,2	11,4 ± 1,1	NS**
<i>Datos sobre el trasplante renal</i>			
Edad donante (años), X ± DE <50 años, %	51 ± 12 78,2	56 ± 12 59,1	0,001**
Injerto no funcionante, %	2,5	5,1	NS*
Disfunción inicial (Sí), %	24,3	41,5	0,007*
Rechazo agudo (Sí), %	8,9	9,7	NS*
>2 HLA compatible, %	32	27,9	NS*
<i>Evaluación radiológica de fracturas vertebrales y DMO</i>			
Fracturas (Sí), %	1	12	0,002*
DMO vertebral (g/cm ²), X ± DE	0,929 ± 0,191	0,905 ± 0,171	NS**
T-score vertebral, X ± DE	-1,2 ± 1,7	-1,4 ± 1,6	NS**
DMO cadera (g/cm ²), X ± DE	0,751 ± 0,126	0,694 ± 0,132	NS**
T-score cadera, X ± DE	-1,1 ± 1,1	-1,6 ± 0,9	0,045**

N: número de pacientes; X: media; DE: desviación estándar; IMC: índice de masa corporal; TRS: terapia renal sustitutiva; HD: hemodiálisis; DP: diálisis peritoneal; T: tiempo; DM: diabetes *mellitus*; HTA: hipertensión arterial; DL: dislipemia; Hb Ca: calcio; P: fósforo sérico; PTH: paratohormona; Alb: albúmina; Hb: hemoglobina; DMO: densitometría ósea; NS: no significativo; *: Chi-Cuadrado; **: T Student.

DISCUSIÓN

La mortalidad cardiovascular es la principal causa de muerte en el paciente sometido a trasplante renal, con un riesgo anual de eventos letales o no letales del 3 al 5% mayor que en población general. El fallecimiento con injerto renal funcionante supone hasta el 42% de las pérdidas del injerto, siendo la causa más frecuente la cardiovascular, con una prevalencia según las series entre el 36 y el 55%¹³ (en nuestra serie del 35%).

El papel de las alteraciones del metabolismo óseo mineral asociadas a la ERC en la morbimortalidad del trasplante

renal ya ha sido descrito por otros autores^{8,14}. Una de las manifestaciones principales de la CKD-MBD es la calcificación vascular; existen múltiples métodos validados para la detección de la calcificación, y múltiples escalas que permiten cuantificarla; Cianciolo *et al.*⁶, en su metaanálisis publicado en 2014, incluyeron hasta 13 estudios de calcificación en pacientes receptores de trasplante renal, evaluando distintos territorios y con diferentes técnicas diagnósticas. En la mayoría de estos estudios, se observó una progresión de la calcificación en el postrasplante en todos los territorios, dependiente de la gravedad inicial de las mismas¹⁵.

Tabla 3. Fracturas vertebrales y características clínicas de los pacientes

	No fracturas (N=284)	Sí fracturas (N=26)	p
<i>Datos generales y antropométricos</i>			
Edad >60 años, %	32,7	47,6	NS*
Sexo (mujer), %	40,3	47,7	NS*
IMC (kg/m ²), X ± DE	26,73 ± 4,9	27,31 ± 2,98	NS**
<i>Datos sobre enfermedad renal y terapia sustitutiva</i>			
T diálisis (meses), Mn [Rn]	17 [9-33]	26 [11-32]	NS***
<i>Factores de riesgo cardiovascular y antecedentes clínicos</i>			
DM (Sí), %	27%	9%	NS*
Tabaquismo (Sí), %	27,4%	19%	NS*
<i>Parámetros bioquímicos de CKD-MBD en los 6 meses previos al trasplante</i>			
CV (Sí), %	63,9	95	0,01*
Ca (mg/dl), X ± DE	9,1 ± 0,9	9,3 ± 0,6	NS**
P (mg/dl), X ± DE	4,5 ± 1,3	3,9 ± 1,1	0,04**
PTH (pg/ml), X [Rn]	250 [155-365]	130 [96-385]	NS***
Alb (mg/dl), X ± DE	38,16 ± 4,5	40,34 ± 2,98	0,03**
Hb (g/dl), X ± DE	11,4 ± 1,2	11,5 ± 1,1	NS**
<i>Evaluación radiológica de calcificaciones vasculares y DMO</i>			
CV (Sí), %	63,9	95	0,01*
DMO vertebral (g/cm ²), X ± DE	0,927 ± 0,172	0,847 ± 0,204	NS**
T-score vertebral, X ± DE	-1,2 ± 1,6	-2,1 ± 1,7	NS**
DMO cadera (g/cm²), X ± DE	0,739 ± 0,121	0,599 ± 0,137	0,01**
T-score cadera, X ± DE	-1,2 ± 0,9	-2,4 ± 1,2	0,02**

N: número de pacientes; X: media; DE: desviación estándar; IMC: índice de masa corporal; T: tiempo; Mn: mediana; Rn: rango intercuartílico; DM: diabetes mellitus; CV: calcificación vascular; Ca: calcio; P: fósforo sérico; PTH: parathormona; Alb: albúmina; Hb: hemoglobina; DMO: densitometría ósea; NS: no significativo; *: Chi-Cuadrado; **: T Student; ***: U Mann-Whitney.

La presencia de fracturas vertebrales también tiene un impacto negativo en el pronóstico de los pacientes con ERC, siendo un factor independiente de mortalidad en pacientes con ERC en estadios 3-5, y se ha asociado con la existencia de calcificaciones vasculares en pacientes en hemodiálisis¹⁰, y en estudios en población general¹⁶; estos hallazgos son idénticos a los de nuestra serie, donde la existencia de fracturas vertebrales previas incrementaba en nueve veces el riesgo de existencia de calcificación vascular.

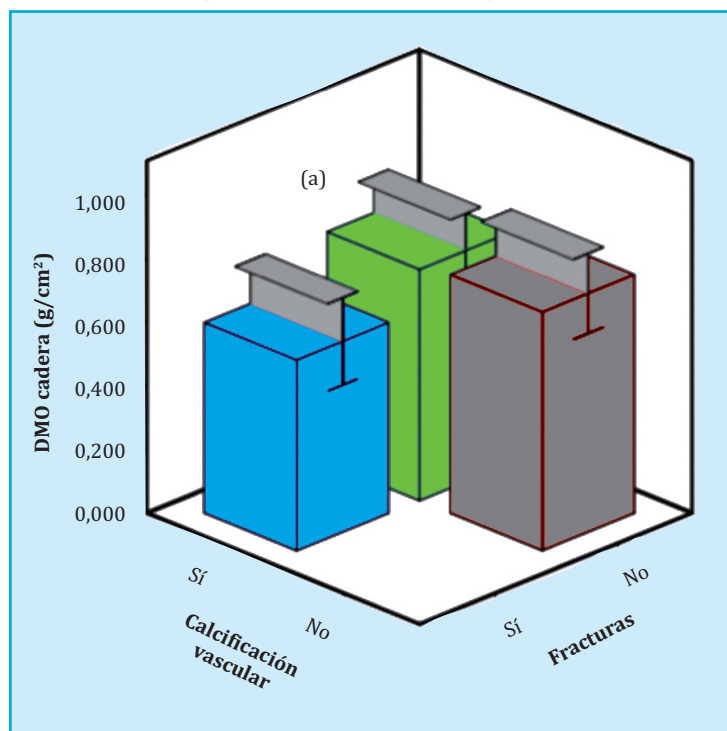
Sin embargo, dada la ausencia de síntomas agudos o la existencia de dolor de espalda de múltiples causas, raramente se investiga la existencia de fracturas en la práctica clínica cotidiana. Se ha demostrado una prevalencia de fractura vertebral entre el 8 y el 45% en pacientes sometidos a trasplante renal cuando se investigaron las deformidades óseas¹⁷ (en nuestra serie, del 8,4% en los seis meses previos al trasplante). Hasta la actualización reciente de las guías KDIGO (*Kidney Disease: Improving Global Outcomes*)³, la DMO no estaba recomendada de forma sistemática, por lo que en nuestra serie disponemos de un número muy reducido de estudios; a pesar de ello, hemos podido encontrar un T-score menor en cuello femoral de los pacientes con calcificación vascular, y a su vez asociado con la existencia de fracturas vertebrales previas. Que la masa ósea en cuello femoral sea mejor marcador de fracturas vertebrales que la masa ósea lumbar entra dentro de lo esperable considerando la posibilidad de artefactos de la imagen

radiológica, entre otros, por la propia calcificación aórtica¹⁸, unido al hecho de la existencia de valores de PTH elevados en los pacientes antes del trasplante, lo que conlleva una mayor afectación en una localización ósea con predominio cortical, como el cuello femoral, frente a zonas de predominio trabecular, como la columna lumbar. Nuestros resultados concuerdan además con un estudio reciente que determina la importancia de la DMO como predictor de fracturas en pacientes renales¹⁹, si bien será necesario realizar estudios con densitometría con un mayor número de pacientes que permitan ratificar nuestros hallazgos.

Entre los parámetros bioquímicos llaman la atención unos valores significativamente mayores de la albúmina entre los pacientes fracturados (que indicaría que la fragilidad ósea de estos pacientes no estaría condicionada por un mayor deterioro nutricional)^{20,21}.

La radiología simple aporta la menor dosis de radiación posible, permite evaluar de forma conjunta calcificación vascular y fracturas, y ha demostrado su utilidad como predictor de mortalidad en pacientes en diálisis. Rodríguez *et al.*¹⁰, en un estudio de 193 pacientes en hemodiálisis a los que se realizó una radiografía simple de columna lumbar y pelvis, demostraron un aumento de la prevalencia de la calcificación en aorta de pacientes con enfermedad renal crónica en hemodiálisis, y se asoció la gravedad de la misma con el tiempo en diálisis, con las fracturas vertebrales y con la morbimortalidad.

Figura 1. Calcificación vascular, fracturas vertebrales y densitometría ósea de cadera en pacientes sometidos a trasplante renal



(a): se muestran en las figuras los valores medios de masa ósea a nivel de cadera para distintas categorías de calcificación vascular (barras) y la desviación estándar de dichos valores; cm²: centímetro cuadrado; DMO: densitometría ósea; g: gramo.

Figura 2. Evolución de los parámetros bioquímicos y de la función del injerto



En nuestra serie, la prevalencia global de calcificación vascular en el momento del trasplante fue del 66,4%, coincidente con los hallazgos de series previas^{10,22}. Como era de esperar, se ha asociado la existencia de calcificación vascular radiológica con la diabetes *mellitus* previa al trasplante, el sexo, el tiempo en diálisis superior a 12 meses, el tabaquismo activo, la existencia de fracturas vertebrales y, sobre todo, a partir de la sexta década. Estos hallazgos son similares a otros ya publicados, incluso en población general^{6,10,16}. No se encontraron diferencias significativas en cuanto a la existencia de calcificación entre las modalidades de terapia renal sustitutiva, y tampoco hubo diferencias con respecto a los valores de calcio, fósforo y PTH sérica en los 6 meses previos al trasplante, de forma similar a algunos estudios publicados²³ donde tampoco se encuentran diferencias con respecto a la asociación con la calcificación vascular; si bien hay controversia entre diversos autores²⁴.

En lo referente al injerto renal, la edad de los donantes fue superior en los pacientes con calcificación vascular, y se correlacionó con la edad de los receptores ($R=0,65$; $p<0,001$), con tasas de disfunción inicial del injerto superiores (41,5% frente a 24,3%); este hallazgo tiene relación con la selección de donantes de más edad para pacientes de edad más avanzada, de acuerdo con los protocolos de las distintas sociedades científicas que recomiendan que los órganos extraídos a pacientes de determinada edad, sean trasplantados en pacientes en un rango de ± 15 años²⁵. En el seguimiento postrasplante, se objetivó una mayor tasa de descenso del FGE en el grupo de pacientes con calcificación; aunque esto podría achacarse únicamente a la edad de los donantes (menor en pacientes sin calcificación), el análisis de regresión de Cox demostró como factor de riesgo independiente la calcificación vascular en cualquier territorio ($OR=2,8$; $p<0,001$). Otros factores, como la disfunción inicial del injerto, que pudiera entenderse como predisponente para una peor evolución *a posteriori*, no mostraron significación estadística.

No se ha encontrado asociación entre el descenso del FGE y el resto de parámetros bioquímicos del metabolismo óseo mineral evaluados en el seguimiento, al igual que en otros estudios recientes, como el de Wolf *et al.*¹⁴, donde solamente el FGF-23 mostró impacto en la evolución del filtrado a largo plazo (no incluido en nuestro análisis). En el postrasplante inmediato, la hipercalcemia se ha descrito como uno de los principales factores de disfunción del injerto a medio plazo, por la aparición de microcalcificaciones tubulares²⁶; en nuestro análisis, la calcemia no ha mostrado impacto sobre el descenso del filtrado. En futuros trabajos, sería interesante analizar el impacto de otros biomarcadores, como α -klotho, en el seguimiento postrasplante.

Tabla 4. Factores de riesgo evaluados

Factores de riesgo para la existencia de calcificación vascular en cualquier territorio (Análisis de regresión logística múltiple)		
	Odds ratio ^(a) (IC 95%)	p
Edad (>60 años), (34,5%)	4 (1,9-8,5)	0,01
Sexo (hombre), (61,6%)	2 (1,1-3,8)	0,032
Diabetes mellitus (Sí), (23,3%)	2,8 (1,2-6,3)	0,014
Dislipemia (Sí), (61%)	1,8 (0,9-3,5)	NS
Tabaquismo (Sí), (21,3%)	2,6 (1,3-5,6)	0,01
T diálisis (>12 meses), (58,7%)	2,2 (1,1-4,2)	0,017
Fracturas (Sí), (8,4%)	9,2 (1,2-73,4)	0,036
Factores de riesgo para el descenso del filtrado glomerular en el seguimiento postrasplante (Análisis de regresión multivariante de Cox)		
	Odds ratio ^(a) (IC 95%)	p
Edad >60 años (Sí), (34,5%)	1,2 (0,7-1,9)	0,42
Sexo (hombre), (61,6%)	0,9 (0,6-1,4)	0,77
Diabetes mellitus (Sí), (23,3%)	1,1 (0,7-1,6)	0,8
Dislipemia (Sí), (39%)	1,1 (0,7-1,6)	0,91
Tabaquismo activo (Sí), (21,3%)	1,1 (0,7-1,7)	0,66
T diálisis (> 12 meses), (58,7%)	1,4 (0,9-2,2)	0,09
Edad del donante < 50 años, (65,2%)	0,5 (0,3-0,8)	0,008
Disfunción inicial (Sí), (35,5%)	0,7 (0,5-1,1)	0,09
Calcificación vascular (Sí), (66,4%)	2,7 (1,6-4,4)	<0,001
Fracturas previas (Sí), (8,4%)	1,3 (0,7-2,5)	0,45

IC: intervalo de confianza; T: tiempo; NS: no significativo; ^(a): ajustado para todos los factores de riesgo incluidos en la tabla. Se muestra entre paréntesis el porcentaje de pacientes en la cohorte de estudio que presentaba dicho factor de riesgo.

La supervivencia global del paciente sometido a trasplante fue mayor en los pacientes sin calcificación radiológica previa, como ocurre en otros estudios previos²⁷, incluso en población general²⁸. En el análisis multivariante, la calcificación vascular en aorta abdominal mostró impacto en la mortalidad de los pacientes en el seguimiento postrasplante, junto con el descenso del filtrado glomerular, el tabaquismo y la edad avanzada; no se ha encontrado asociación entre mortalidad por todas las causas y la existencia de fracturas vertebrales, que sí ha sido referida por otros autores^{10,16}. Del mismo modo, la supervivencia libre de eventos cardiovasculares fatales fue mayor en los pacientes sin calcificación vascular. En nuestra cohorte, todos los pacientes fallecidos por eventos cardiovasculares presentaban algún tipo de calcificación vascular en aorta abdominal, al menos moderada, además de haber sufrido una o más fracturas vertebrales, por lo que no hemos podido analizar su impacto en la mortalidad cardiovascular.

Figura 3. Supervivencia global del paciente trasplantado renal en base a la existencia de calcificación vascular radiológica

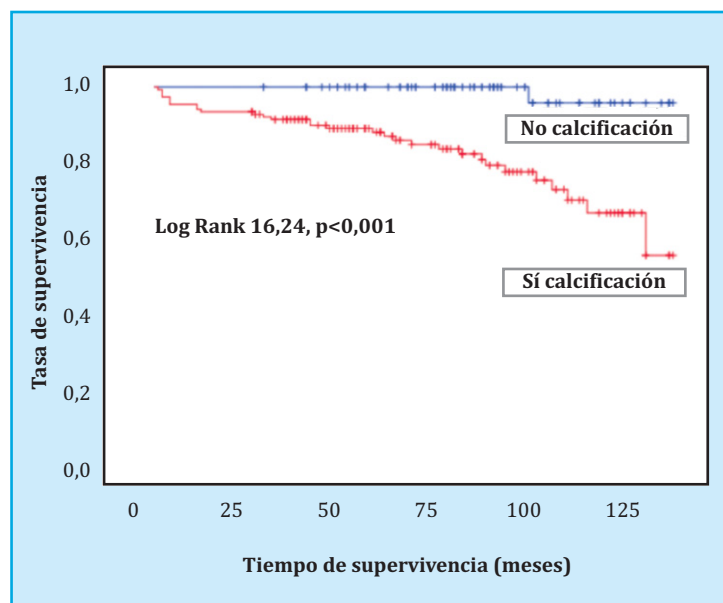


Tabla 5. Factores de riesgo de mortalidad por todas las causas y de etiología cardiovascular (Análisis de regresión multivariante de Cox)

Mortalidad	Global (N= 43) ^(a)		Cardiovascular (N=15) ^(b)	
	HR ^(a) (IC 95%)	p	HR ^(a) (IC 95%)	p
Edad (>60 años), (34,5%)	3,5 (1,4-8,4)	0,005	2,9 (0,7-12,1)	0,12
HTA (Sí), (86,1%)	0,7 (0,2-1,9)	0,46	0,5 (0,1-2,5)	0,4
DM (Sí), (23,3%)	1,1 (0,4-2,3)	0,99	1,1 (0,3-4,1)	0,92
Dislipemia (Sí), (39%)	0,5 (0,2-1,1)	0,07	0,6 (0,1-2,2)	0,41
Tabaco (Sí), (21,3%)	4,6 (1,6-12,7)	0,003	4,8 (1,1-23,5)	0,049
CV AA (Sí), (64,2%)	8,8 (1,1-69,3)	0,04		
Fracturas (Sí), (8,4%)	2,1 (0,5-7,7)	0,27		
↓ FGE (Sí), (50,2%)	4,1 (1,7-12,7)	0,003	12,1 (1,5-99,2)	0,02

N: número de pacientes; HR: *hazard ratio*; IC: intervalo de confianza; HTA: hipertensión arterial; DM: diabetes *mellitus*; CV: calcificación vascular; AA: aorta abdominal; ↓ FGE: descenso filtrado glomerular estimado; ^(a): ajustado para todos los factores de riesgo incluidos. Se muestra entre paréntesis el porcentaje de pacientes en la cohorte de estudio que presentaba dicho factor de riesgo. ^(b): no se incluyó la variable calcificación aorta abdominal ni fracturas vertebrales en el análisis por ser positivas en el 100% de los pacientes fallecidos por mortalidad cardiovascular.

La principal limitación de este estudio es que no se han incluido factores de riesgo como la terapia inmunosupresora y las complicaciones infecciosas durante el seguimiento, así como el reducido número de estudios de densitometría ósea disponibles, dada la baja recomendación para su realización en guías previas². Es importante señalar la necesidad de incluir este estudio en la práctica clínica diaria, como parte de la evaluación previa al trasplante renal, por su asociación con la calcificación vascular, que a su vez condiciona una importante morbimortalidad. Otra limitación existente es la ausencia de determinaciones regladas de vitamina D, puesto que valores muy bajos se asocian con un aumento de la progresión de la calcificación aórtica, así como de mortalidad incluso en población general²⁹.

La principal fortaleza del estudio es que incluye la evolución de la función del injerto renal en el tiempo, y su impacto directo en la morbimortalidad del paciente, y que a su vez se va a asociar de forma directa con la calcificación vascular previa.

CONCLUSIÓN

Los resultados de este estudio corroboran que la calcificación vascular previa al trasplante (asociada además con fracturas vertebrales y pérdida de masa ósea) condiciona la morbimortalidad del paciente sometido a trasplante renal y, además, nos permiten ver su impacto sobre la evo-

lución de la función del injerto, independientemente de otros factores de riesgo tradicionales. La radiografía simple, más barata e inocua que otros procedimientos, e incluida en la mayoría de protocolos de evaluación previos al trasplante renal, nos puede dar, por tanto, información cierta sobre el pronóstico y la evolución de los pacientes, y ayudar a prevenir potenciales complicaciones futuras. Es relevante promover no sólo la mejor salud vascular posible, sino también el menor impacto en el tejido óseo en la progresión de la ERC antes del momento del trasplante. Por ello, aunque el estudio no dispone de un elevado número de pacientes con densitometría, se aconseja su realización como un estudio previo a la inclusión en lista de espera de trasplante, dada la asociación entre la fragilidad ósea y la calcificación vascular, y, a su vez, con el pronóstico tanto del paciente como del injerto renal.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido posible gracias a la financiación obtenida del Plan Estatal de I+D+I 2013-2016, Plan de Ciencia, Tecnología e Innovación 2013-2017 y 2018-2022 del Principado de Asturias (GRUPIN14-028, IDI-2018-000152) y por la RETIC del ISCII REDinREN (RD06/0016/1013, RD12/0021/1023 y RD16/0009/0017), Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER) y el Instituto de Salud Carlos III (proyectos PI11/00667, PI14/00707 y PI17/00384).

Conflicto de intereses: Los autores declaran que no existen conflictos de intereses. La realización de este estudio estuvo de acuerdo con los principios éticos de la declaración de Helsinki sobre estudios clínicos.

Bibliografía

- Moe S, Drüeke T, Cunningham J, Goodman W, Martin K, Olgaard K, et al. Definition, evaluation, and classification of renal osteodystrophy: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int.* 2006;69:1945-53.
- Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Kidney Int.* 2009;76 (Supl 113): S1-S130.
- Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Update Work Group. KDIGO 2017 clinical practice guideline update for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Kidney Int Suppl.* 2017;7:1-59.
- Torregrosa JV, Bover J, Cannata-Andía JB, Lorenzo V, De Francisco ALM, Martínez I, et al. Recomendaciones de la Sociedad Española de Nefrología para el manejo de las alteraciones del metabolismo óseo-mineral en los pacientes con enfermedad renal crónica (S.E.N.-M.M.). *Nefrología Sup Ext.* 2011;31(1):3-32.
- D'Marco L, Bellasi A, Mazzaferro S, Raggi P. Vascular calcification, bone and mineral metabolism after kidney transplantation. *World J Transplant.* 2015;5(4):222-30.
- Cianciolo G, Capelli I, Angelini ML, Valentini C, Baraldi O, Scolari MP, et al. Importance of vascular calcification in kidney transplant recipients. *Am J Nephrol.* 2014;39(5):418-26.
- Bandenburg VM, Politt D, Ketteler M, Fassbender WJ, Heussen N, Westenfeld R, et al. Early rapid loss followed by long-term consolidation characterizes the development of lumbar bone mineral density after kidney transplantation. *Transplantation.* 2004;77(10):1566-71.
- Kalantar-Zadeh K, Molnar MZ, Kovesdy CP, Mucsi I, Bunnapradist S. Management of mineral and bone disorder after kidney transplantation. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2012;21(49):389-403.
- Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics.* 1977;33(1):159-74.
- Rodríguez-García M, Gómez-Alonso C, Naves-Díaz M, Díaz-López JB, Díaz-Corte C, Cannata-Andía JB, et al. Vascular calcifications, vertebral fractures and mortality in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2009;24(1):239-46.
- Genant HK, Wu CY, van Kuijk C, Nevitt MC. Vertebral fracture assessment using a semiquantitative technique. *J Bone Miner Res.* 1993;8(9):1137-48.
- Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Transplant Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Am J Transplant.* 2009;9(Supl 3): S1-S157.
- Ojo AO, Morales JM, González-Molina M, Steffick DE, Luan FL, Merion RM, et al. Comparison of the long-term outcomes of kidney transplantation: USA versus Spain. *Nephrol Dial Transplant.* 2013;28(1):213-20.
- Wolf M, Molnar MZ, Amaral AP, Czira ME, Rudas A, Ujaszasi A, et al. Elevated fibroblast growth factor 23 is a risk factor for kidney transplant loss and mortality. *J Am Soc Nephrol.* 2011;22(5):956-66.
- Maréchal C, Coche E, Goffin E, Dragean A, Schlieper G, Nguyen P, et al. Progression of coronary artery calcification and thoracic aorta calcification in kidney transplant recipients. *Am J Kidney Dis.* 2012;59(2):258-69.
- Naves M, Rodríguez-García M, Díaz-López JB, Gómez-Alonso C, Cannata-Andía JB. Progression of vascular calcifications is associated with greater bone loss and increased bone fractures. *Osteoporos Int.* 2008;19(8):1161-6.
- Akaber S, Simonsen O, Lindergård B, Nyberg G. Can DXA predict fractures in renal transplant patients? *Am J Transplant.* 2008;8(12):2647-51.
- Watts NB. Fundamentals and pitfalls of bone densitometry using dual-energy X-ray absorptiometry (DXA). *Osteoporos Int.* 2004;15(11):847-54.
- Prasad B, Ferguson T, Tangri N, Yong-Ng Chee, Nickolas TL. Association of bone mineral density with fractures across the spectrum of chronic kidney disease: The Regina CKD-MBD study. *Can J Kidney Health Dis.* 2019;6. 2054358119870539.
- Gupta A, Upadhyaya S, Cha T, Schwab J, Bono C, Hershman S. Serum albumin levels predict which patients are at increased risk for complications following surgical management of acute osteoporotic vertebral compression fractures. *Spine J.* 2019;19(11):1796-802.
- Nakano T, Kuwabara A, Mizuta H, Tanaka K. Contribution of hypoalbuminemia and decreased renal function to the increased mortality after newly diagnosed vertebral fracture in Japanese subjects. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2016;25(3):472-7.
- Russo D, Palmiero G, De Blasio AP, Balletta MM, Andreucci VE. Coronary artery calcification in patients with CRF not undergoing dialysis. *Am J Kidney Dis.* 2004;44(6):1024-30.
- Jansz TT, van Reekum FE, Özyilmaz A, de Jong PA, Boereboom FTJ, Hoekstra T, et al. Coronary artery calcification in hemodialysis and peritoneal dialysis. *Am J Nephrol.* 2018;48:369-77.
- Noordzij M, Korevaar JC, Bos WJ, Boeschoten EW, Dekker FW, Bossuyt PM, Krediet RT. Mineral metabolism and cardiovascular morbidity and mortality risk: peritoneal dialysis patients compared with haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2006;21:2513-20.
- Melilli E, Bestard O, Cruzado JM, Navarro-Zorita I, Grinyó JM, Martínez-Castelao A. Trasplante de riñones con criterios expandidos: manejo y resultados a largo plazo. *Nefrología Sup Ext.* 2011;2(5):98-104.
- Egbuna OI, Taylor JG, Bushinsky DA. Elevated calcium phosphate product after renal transplantation is a risk factor for graft failure. *Clin Transplant.* 2007;21(4):558-66.
- Hernández D, Rufino M, Bartolomei S, González-Rinne A, Lorenzo V, Cobo M, et al. Clinical impact of preexisting vascular calcifications on mortality after renal transplantation. *Kidney Int.* 2005;67(5):2015-20.
- Iribarren C, Sidney S, Stenfeld B, Browner WS. Calcification of the aortic arch. Risk factors and association with coronary heart disease, stroke and peripheral vascular disease. *JAMA.* 2000;28(21):2810-15.
- Zittermann A., Schleithoff S.S., Koerfer R. Vitamin D and vascular calcification. *Curr Opin Lipidol.* 2007;18:41-6.

Fragilidad relativa de fémures osteoporóticos evaluados con DXA y simulación de caídas con elementos finitos guiados por radiografías de urgencias

DOI: <http://dx.doi.org/10.4321/S1889-836X2020000200005>

Ruiz Wills C¹, Tassani S¹, Di Gregorio S², Martínez S³, González Ballester MA^{1,4}, Humbert L⁵, Noailly J¹, Del Río LM²

1 Centro para Nuevas Tecnologías Médicas (BNC MedTech). Universidad Pompeu Fabra (UPF). Barcelona (España)

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

3 Servicio de Reumatología. Mutua de Terrassa. Terrassa (España)

4 Institución Catalana de Investigación y Estudios Avanzados (ICREA). Barcelona (España)

5 Galgo Medical S.L. Barcelona (España)

Fecha de recepción: 23/01/2020 - Fecha de aceptación: 10/02/2020

Trabajo remitido como prestación por una beca FEIOMM de Investigación Clínica 2016

Resumen

Objetivo: El diagnóstico de osteoporosis se ha fundamentado en la medición de la densidad mineral ósea, si bien esta variable tiene una capacidad limitada en la discriminación de pacientes con o sin fracturas. La aplicación del análisis de elementos finitos (FE) sobre imágenes volumétricas de tomografía computarizada ha mejorado la clasificación de sujetos hasta 90%, aunque la dosis de radiación, complejidad y coste no aconsejan su práctica regular. Nuestro objetivo es aplicar el análisis FE a modelos tridimensionales con absorciometría radiológica dual (3D-DXA), para clasificar pacientes con fractura osteoporótica de fémur proximal y sin fractura.

Material y métodos: Se seleccionó una cohorte de 111 pacientes con osteoporosis densitométrica: 62 con fractura y 49 sin ella. Se utilizaron modelos FE sujeto-específicos para el impacto, como la simulación estática de la caída lateral. Las simulaciones de impacto permiten identificar la región crítica en el 95% de los casos, y la respuesta mecánica a una fuerza lateral máxima. Se realizó un análisis mediante un clasificador discriminativo (*Support Vector Machine*) por tipo de fractura, tejido y género, utilizando las mediciones DXA y parámetros biomecánicos.

Resultados: Los resultados mostraron una sensibilidad de clasificación del 100%, y una tasa de falsos negativos de 0% para los casos de fractura de cuello para el hueso trabecular en las mujeres. Se identifica la variable tensión principal mayor (MPS) como el mejor parámetro para la clasificación.

Conclusión: Los resultados sugieren que el uso de modelos 3D-DXA podría ayudar a discriminar mejor a los pacientes con elevado riesgo de fracturarse.

Palabras clave: densitometría ósea, DXA, resistencia ósea, elementos finitos, radiografía.

INTRODUCCIÓN

El aumento de la población anciana y la creciente preocupación por las consecuencias de las fracturas, junto con las tasas insuficientes de detección de situaciones de fragilidad ósea^{1,2}, ha aumentado la indicación de la evaluación del riesgo de fractura³ en personas de ambos sexos mayores de 64 años. La técnica de absorciometría de doble energía radiológica (DXA) es actualmente el estándar clínico para este tipo de medición ósea.

En la actualidad, en la evaluación del riesgo de fractura se aplican diferentes métodos, si bien los más usados incluyen la presencia de factores de riesgo clínico y la medición de la densidad mineral ósea areal (DMOa). Las mediciones óseas se realizan en fémur proximal y columna lumbar mediante la técnica de DXA. Sin embargo, la DMOa solo permite una evaluación limitada de los determinantes mecánicos de la fractura ósea^{4,5}.



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

El análisis de elementos finitos (FE) se ha aplicado para evaluar la resistencia ósea en modelos óseos volumétricos, a partir de exploraciones de tomografía computarizada (TC), identificando, de forma precisa, los determinantes mecánicos sujeto-específicos de la fractura. En este tipo de análisis se incluyen la geometría tridimensional del hueso, la cantidad y la distribución del tejido óseo, y las cargas a las que se somete al hueso⁶. Con este proceso se superan las limitaciones de la DMOa. Los modelos de FE basados en CT se han validado ampliamente *ex vivo*⁷⁻¹², y han mostrado un mejor rendimiento en comparación con la DMOa en la predicción de la resistencia del fémur proximal *in vitro*^{6,13}. En un estudio *in vivo*¹⁴ también se ha reportado una asociación significativa entre fracturas óseas y resistencia estimada con FE.

Los modelos numéricos también han abordado en los últimos años la clasificación del riesgo de fractura. En este sentido, la resistencia ósea obtenida del análisis por FE es mejor clasificador que la DMOa^{15,16}. Falcinelli y cols.¹⁵ estudiaron el efecto de la condición de carga en la fractura a través de la resistencia ósea. En dicho estudio, en el análisis de curvas ROC (*Receiving Operating Characteristic*), el área bajo la curva (AUC), tanto en posición como en condiciones de carga múltiple, era más alta que los valores obtenidos para el DMOa. Qasim y cols.¹⁶ señalaron que la resistencia ósea calculada a partir de imágenes TC con FE era un predictor de fractura confiable mejor que la DMOa obtenida con DXA. Ambos estudios utilizaron la regresión logística para la clasificación de fracturas.

Nishiyama y cols.¹⁷ clasificaron 35 casos de mujeres que sufrían fracturas osteoporóticas mediante la resistencia del fémur obtenida usando un modelo FE basado en TC cuantitativo (QCT) y compararon su poder de clasificación con la DMOv. Los resultados obtenidos con la técnica de máquina de soporte vectorial mostraron valores de AUC de 0,79 y 0,94 para las fracturas de trocánter y cuello, respectivamente. Pese al logro obtenido en este tipo de estudio, los modelos de FE basados en QCT están lejos de convertirse en una práctica clínica habitual. Recientemente, los modelos FE tridimensionales (3D) basados en DXA permitieron la discriminación de casos de fractura con AUC >0,80 al usar la tensión principal mayor (MPS) como parámetro para la discriminación, realizando el análisis para tipo tejido óseo, clase de fractura y género.

Una posible mejora del análisis mecánico de la fractura de fémur pasa por el estudio de fractura por regiones, lo cual permite filtrar los datos más relevantes del cálculo. Sin embargo, hacen falta criterios robustos para estimar correctamente las zonas de alto riesgo de fractura y optimizar el análisis. Además, en la mayoría de los estudios numéricos publicados, la simulación de una caída lateral se ha centrado en un único vector de carga. En condiciones reales, el principal vector de carga, origen de la fractura, puede tener una orientación distinta a la que se asume en los modelos FE, afectando a la distribución de cargas internas y, consecuentemente, a las zonas de interés más relevantes. Algunos autores¹⁸ ya han expresado la necesidad de disponer de un enfoque más amplio en la simulación del componente de carga, entre los diversos condicionantes de la fractura ósea. En el único estudio en el que se simularon tres condiciones de carga de caída¹⁹ se evidenciaron diferencias en los resultados.

Por lo tanto, nuestra hipótesis fue que el análisis de una de las primeras radiografías de diagnóstico de la

fractura permite inferir la orientación espacial de la carga principal, e identificar el sector estructural más débil del fémur proximal, mediante la simulación de caída por FE. El objetivo de este estudio, pues, fue verificar, en un estudio de casos y controles de fracturas de fémur proximal, si la asociación de los parámetros biomecánicos relacionados con la resistencia ósea derivada de los modelos de FE basados en DXA mejora, teniendo en cuenta representaciones más avanzadas de las cargas asociadas a la caída y de las zonas del hueso más afectadas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sujetos

La metodología aplicada en este estudio y el uso de los datos clínicos e imágenes médicas fueron valorados por parte del comité ético del Hospital Universitario Mutua de Terrasa, recibiendo su aprobación en noviembre de 2016.

Se utilizaron datos de exploración con DXA de 111 pacientes de ambos sexos con indicación de densitometría ósea, y que habían sido explorados en el departamento de CETIR en el Hospital Universitario Mutua de Terrasa. Todos los pacientes tenían osteoporosis de acuerdo con la clasificación de la OMS, (*T-score* de columna lumbar, cuello de fémur o área total de fémur <-2,5). No hubo en los pacientes con fractura una selección bajo el criterio de un *T-score* >-2,5. De estos pacientes, 62 habían padecido recientemente una fractura en alguno de los sectores del tercio proximal de fémur tras una caída fortuita (grupo de casos), y 49 pacientes, de similares características en cuanto edad, peso, talla, y categoría según el *T-score*, no tenían antecedentes de fractura previa (grupo de controles). Los datos de los pacientes se han descrito en la tabla 1, considerando el tipo de fractura y género.

Imágenes médicas

• Radiografías

Se han usado las imágenes escaneadas o por copia intra-PACS (*Picture Archiving and Communication System*) de las radiografías del tercio proximal del fémur, realizadas para confirmación del diagnóstico de fractura a su ingreso en el departamento de Urgencias del Hospital, y previamente a la cirugía de la extremidad en la que se sospechaba la lesión. De las radiografías de pelvis y sector superior de fémur en proyección anteroposterior y lateral, se seleccionaron aquellas que mostraban de forma fehaciente la fractura, su exacta localización, el número de fragmentos y su desplazamiento.

Teniendo en cuenta la presencia y la localización de las alteraciones, se estableció la siguiente clasificación:

a) Alteraciones en cuello de fémur:

1. Impacto en valgo sobre la cabeza femoral.
2. Fractura completa del cuello sin desplazamiento de fragmentos.
3. Desplazamiento en varo de la cabeza femoral.
4. Solución de continuidad completa entre ambos fragmentos.

b) Alteraciones de trocánter:

1. Fractura conminuta con desprendimiento del trocánter menor; el extremo caudal del fragmento del cuello se encuentra dentro de la cavidad medular de la diáfisis femoral, con pared posterior conminuta.
2. Fractura conminuta con el extremo inferior del cuello fuera de la diáfisis, desviación medial.

3. Fractura trocantérica en donde la diáfisis está desplazada hacia dentro; con trazo inverso al primer tipo de alteración.

• DXA

La exploración con DXA en los pacientes que han sufrido la fractura del tercio superior de fémur se realiza a los pocos días de haber sufrido la fractura, y tras el tratamiento quirúrgico acorde al tipo de fractura.

Se utilizó un densitómetro Prodigy Advance DXA (GE Healthcare, Madison, Wisconsin, EE.UU.). Este dispositivo utiliza un haz en abanico de ángulo estrecho que produce rayos X en dos bajas energías distintas mediante un filtro K de cerio, con una distorsión mínima en la imagen. Todos los pacientes fueron posicionados y escaneados teniendo en cuenta las recomendaciones del fabricante. Los pacientes fueron colocados en la mesa de exploración de la DXA en posición de decúbito supino, con los pies juntos, y una rotación interna de la pierna a escanear de 25-30°. Se aplicó en el análisis el *software* EnCore V12.3. La exploración con DXA se realizó en el fémur opuesto al que se había padecido la fractura, siguiendo las recomendaciones del fabricante y las posiciones oficiales de la ISCD (*The International Society for Clinical Densitometry*).

En los pacientes sin fractura se efectuó la exploración con similares criterios en la columna lumbar y fémur derecho.

• 3D-DXA

Los ficheros de DXA de fémur proximal obtenidos en proyección posteroanterior bidimensionales (2D), fueron reconstruidos a 3D mediante el *software* 3D Shaper® (versión 2.6, Galgo Medical, Barcelona, España), con el que se obtuvieron modelos 3D específicos de cada sujeto, de acuerdo con el método de modelado implementado y descrito¹⁴. Brevemente, el algoritmo utiliza un modelo estadístico 3D de forma y densidad del fémur proximal, construido a partir de una base de datos de escaneos mediante tomografía computarizada cuantitativa (QCT) de hombres y mujeres caucásicos. Las variables calculadas a partir de la reconstrucción en 3D son:

- Densidad mineral ósea volumétrica (DMOV): mg/cm³, en hueso trabecular, hueso cortical y hueso integrado.

- Grosor de hueso cortical en las siguientes regiones: cuello femoral, trocánter, diáfisis y área total.

- Densidad de superficie cortical: variable obtenida multiplicando la densidad del hueso cortical local, por el grosor cortical (en mg) en cada punto de la superficie cortical externa (en cm²).

• Modelos FE paciente-específicos

La creación de los modelos FE en 3D siguió la metodología descrita en trabajos anteriores^{20,21}. En total se reconstruyeron 111 modelos a partir de los ficheros de exploraciones con DXA. El hueso fue considerado como un elemento elástico isotrópico con coeficiente de Poisson de 0,3²². Se obtuvo la distribución volumétrica de la densidad ósea (DMOV) para cada modelo, y la rigidez ósea para el hueso cortical y trabecular, se calculó usando las siguientes relaciones empíricas^{23,24}:

$$E_{cortical} = 10200 \rho_{ash}^{2,01} \quad [1]$$

$$E_{trabecular} = 0,0057 \rho_{app}^{1,96} \quad [2]$$

donde $E_{cortical}$ y $E_{trabecular}$ son el módulo de Young cortical y trabecular (en megapascas, MPa), respectiva-

Tabla 1. Número de pacientes reclutados por grupo, sexo y tipo de fractura

Sexo	Fracturas		Controles
	Cuello	Trocánter	
Mujeres	26	19	37
Hombres	10	7	12
Total	36	26	49

mente, ρ_{ash} es la densidad de cenizas óseas en g/cm³, y ρ_{app} es la densidad aparente en g/cm³. Los dos últimos se calcularon con las siguientes expresiones²⁵:

$$\rho_{ash} = 0,87 \rho_{QCT}^{-0,079} \quad [3]$$

$$\rho_{app} = \frac{\rho_{ash}}{0,6} \quad [4]$$

donde ρ_{QCT} es la densidad obtenida por las imágenes QCT aproximada por el vBMD, en g/cm³, obtenidas por el *software* 3D Shaper® (Galgo Medical).

Simulaciones

• Simulaciones de caída

Para todos los modelos se realizaron simulaciones de caída lateral. La simulación consistió en el movimiento axial del fémur y el impacto sobre una superficie sólida. Se aplicó una velocidad constante máxima a la parte superior de la cabeza femoral en la dirección axial hacia la superficie que se fijó por completo (Figura 1a). La velocidad (V_{impact}), era específica del paciente considerando la altura del paciente (h) y la fuerza de la gravedad (g) según la ecuación [5]²⁶.

Entre las variables biomecánicas, la tensión principal mayor (MPS), que es el valor absoluto máximo entre los esfuerzos principales máximo y mínimo, se utilizó para identificar regiones críticas, que se puedan comparar con las radiografías tomadas inmediatamente después de la fractura, para validar las predicciones de los modelos.

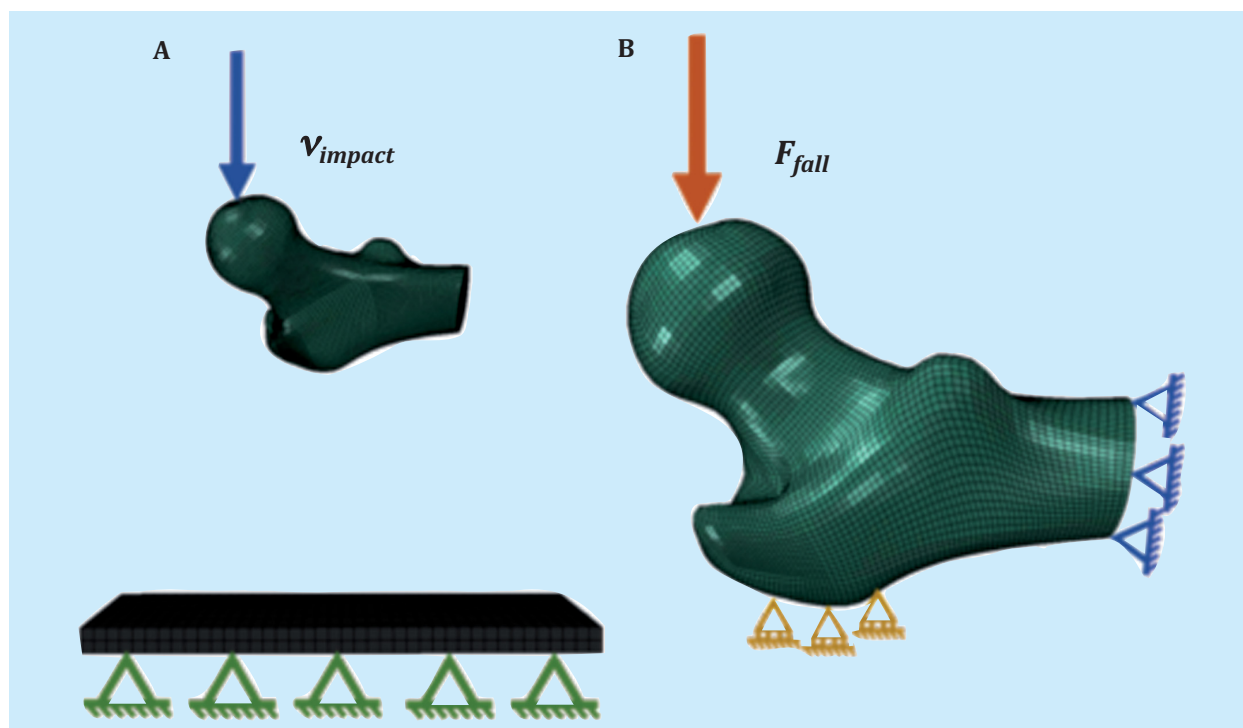
$$V_{impact} = \sqrt{2 \cdot g \cdot h_c} \quad [5]$$

$$h_c = 0,51h \quad [6]$$

• Simulaciones estáticas

La respuesta mecánica del fémur debido a una caída lateral, se evaluó mediante simulaciones estáticas. Se aplicó una fuerza de caída máxima (F_{fall}) en la parte superior de la cabeza femoral, el trocánter menor se restringió en la dirección de la fuerza, y la base del fémur proximal se fijó en todas las direcciones (Figura 1b). La fuerza de caída depende del peso y la altura del paciente²⁷. Los valores de deformación principal máxima, deformación principal mayor (MPE), densidad de energía de deformación (SED), tensión principal máxima y tensión principal mayor (MPS), se analizaron en la región de interés (ROI) obtenida de las simulaciones de caída para las zonas del trocánter y del cuello. Todos los cálculos de FE se realizaron con el equipo ABAQUS v2018 (Dassault Systèmes Simulia Corp., Johnston, Rhode Island, EE.UU.). La deformación (*strain*) es la modificación de la dimensión en relación con la dimensión previa a la tensión, expresada en unidad de longitud. La tensión (*stress*) es la presión por unidad de área y se expresa en pascales (Pa). En nuestro caso la magnitud de los resultados hace necesario utilizar megapascas (MPa).

Figura 1. Condiciones límite de las simulaciones: A) simulaciones de impacto, y B) simulaciones estáticas



Análisis ROC-AUC

Siguiendo las pautas del estudio de Ruiz Wills y cols.²¹, se probó el poder de discriminación de seis parámetros: la DMOv relacionada con las imágenes DXA extrapoladas en 3D, y 5 parámetros derivados de las simulaciones FE, i.e., la deformación principal máxima, la MPE, la SED, la tensión principal máxima y la MPS. El análisis consideró los grupos de pacientes (casos y controles), tipo de fractura (cuello y trocánter), tipo de hueso (trabecular y cortical) y género (femenino y masculino). El área bajo la curva ROC se utilizó para cuantificar el poder de discriminación de los parámetros evaluados. Además, se aplicó una validación cruzada de 5 y 4 iteraciones para las discriminaciones por fractura de cuello y trocánter, respectivamente. Esta técnica es utilizada en instrumentos de inteligencia artificial para validar los modelos generados, garantizando que la partición entre datos de entrenamiento y prueba son independientes. Consiste en repetir y calcular la media aritmética obtenida de las medidas de evaluación sobre diferentes particiones. El proceso de validación cruzada es repetido durante k iteraciones, con cada uno de los posibles subconjuntos de datos de prueba. Finalmente se realiza la media aritmética de los resultados de cada iteración para obtener un único resultado. Este método es muy preciso, puesto que se evalúa a partir de K combinaciones de datos de entrenamiento y de prueba.

Método de clasificación

Se utilizó la máquina de soporte vectorial (*Support Vector Machine, SVM*) para la clasificación de fracturas. Las máquinas de soporte vectorial son un conjunto de algoritmos de aprendizaje supervisado. Estos métodos están indicados para resolver situaciones en los que se requiere una separación óptima entre componentes de una cohorte, y en la que se pueden presentar problemas de clasificación y regresión. El análisis utilizó los mismos parámetros eva-

luados en la sección anterior: uno relacionado con las imágenes DXA y cinco variables biomecánicas obtenidas del análisis FE. Todos los parámetros se normalizaron con la media y con la desviación estándar:

$$X_{normalizada} = \frac{X - \bar{X}}{SD} \quad [7]$$

donde X son los valores del parámetro a normalizar, \bar{X} es la media de los valores del parámetro para todos los elementos del área analizada, y SD es la desviación estándar correspondiente.

Además, se consideraron para la clasificación el grupo a que correspondían los pacientes como el tipo de fractura. El tejido y el sexo se seleccionaron a partir de los resultados, donde el poder de discriminación, obtenido en la sección anterior, fue el más alto. Se incluyó una validación cruzada de 5 iteraciones en el análisis. La tasa de falsos negativos (error tipo II) se verificó como el tipo de error que debería ser nulo o pequeño para considerar que el análisis es bueno.

RESULTADOS

Región de interés (ROI)

La simulación de impacto permitió identificar zonas en el fémur con valores máximos de MPS. El grupo de fractura de cuello mostró 15.023 elementos (fragmentos geométricamente regulares en los que es dividido el volumen óseo tras el mallado de los elementos finitos) con valores altos de MPS, mientras que el grupo de trocánter tenía 42.880 elementos (Figura 2). El número de elementos identificados es 17,9% y 37% más bajo que los elementos utilizados en un estudio previo realizado en nuestro grupo para cuello y trocánter, respectivamente²¹. La zona identificada para cada tipo de fractura, coincidió el 95% de las veces con la línea de fractura de las imágenes de rayos X posteriores a la fractura disponibles (Figura 3). Como resultado, los elementos identificados se utilizaron para realizar el análisis ROC-AUC y la clasificación.

Análisis ROC

El análisis ROC se realizó considerando el género de los pacientes. Como se muestra en la tabla 1, el número de hombres fue muy pequeño en comparación con el número de mujeres para ambos tipos de fracturas. Para evitar cualquier interpretación errónea de los resultados, el análisis se aplicó solo a la población femenina. La tabla 2 presenta los valores de AUC obtenidos en el análisis. En el hueso trabecular los valores más bajos de AUC fueron 0,65 para la DMOv, y los más altos fueron 0,82 para la MPS, seguido por la SED con 0,76, para los pacientes con fractura de cuello. Los casos de fractura del trocánter mostraron resultados similares, con valores de AUC de 0,72, 0,82 y 0,83 para DMOv, SED y tensión principal máxima, respectivamente. El valor máximo de AUC fue de 0,93 para la MPS. En cuanto al hueso cortical, la DMOv llevaba a valores de AUC de 0,57 y 0,61 para fracturas de cuello y trocánter, respectivamente. La MPS para los casos de trocánter dio el valor más alto de AUC: 0,80.

Clasificación

En base a los resultados obtenidos en la sección anterior, se aplicó la técnica del SVM a los datos para mujeres, hueso trabecular en las fracturas de cuello y trocánter. La matriz de confusión para la fractura de cuello mostró que los 15 pacientes sin fractura (15/26) fueron clasificados correctamente, y había una clasificación perfecta de los casos de fractura (Figura 4a). Para las fracturas de trocánter, 17 (17/23) y 13 (13/15) casos de control y fractura se clasificaron correctamente, respectivamente (Figura 4b).

El número de errores tipo I (falso positivo, amarillo en la figura 4) fue de 11 (11/37) y 2 (2/15) para fracturas de cuello y trocánter, respectivamente. Además, en las fracturas de trocánter, se predijeron 6 casos (6/23) como control cuando, en realidad, se fracturaron: esto fue un error de tipo II (Falso negativo, rojo en la figura 4).

Las ecuaciones 8 y 9 representan la ecuación de Kernel lineal del hueso trabecular para fracturas de cuello y trocánter, respectivamente. Los valores representan el peso específico de cada variable en el proceso de clasificación. Las variables SED, tensión principal máxima y MPS, tenían todas mayor peso que la DMOv, en los casos de fractura de cuello. En cuanto a la fractura del trocánter, la variable MPS fue la única que superaba la DMOv. Para ambos tipos de fracturas, las variables relacionadas con la deformación, es decir, la deformación principal máxima y la MPE, fueron las de menor peso de todas.

$$M_{\text{cuello}} = 1,31 (\text{DMOv}) + 0,15 (\text{Max. Prin. Strain}) + 0,54 (\text{MPE}) + 1,96 (\text{SED}) + 1,80 (\text{Max. Prin. Stress}) - 2,60 (\text{MPS}) - 1,13 \quad (8)$$

$$M_{\text{trocánter}} = 1,33 (\text{DMOv}) - 0,42 (\text{Max. Prin. Strain}) - 0,38 (\text{MPE}) + 1,17 (\text{SED}) + 0,49 (\text{Max. Prin. Stress}) + 2,15 - 1,87 \quad (9)$$

Figura 2. Zona con altos valores de tensión principal mayor (MPS). Los elementos azules corresponden con el elemento para fracturas de cuello y los elementos rojos son para la fractura del trocánter

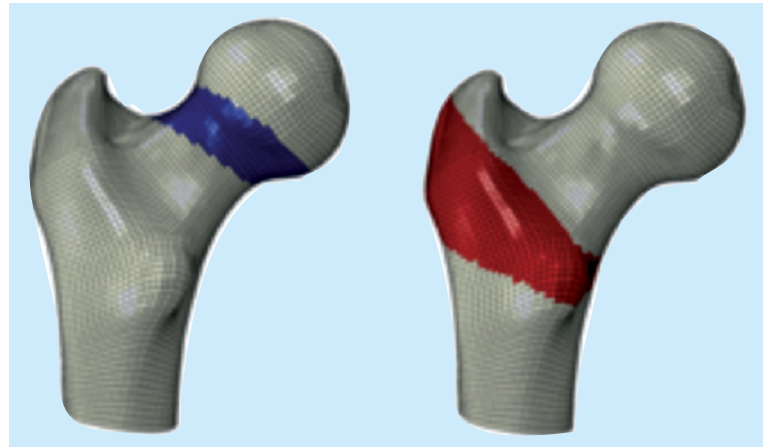
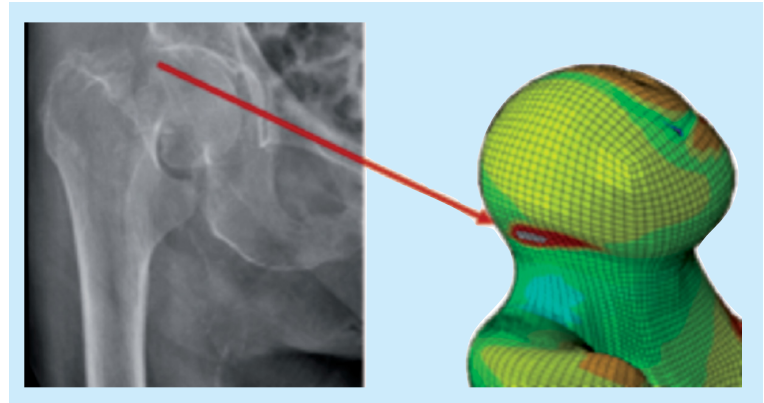


Figura 3. Comparación entre la línea de fractura y el área crítica identificada para un caso de fractura de cuello con altos valores de tensión principal mayor (MPS)



DISCUSIÓN

Las simulaciones de impacto permitieron identificar elementos críticos, de acuerdo con los altos valores de la MPS. Este resultado condujo al refinamiento de las ROI para las simulaciones estáticas (Figura 5). Por un lado, la selección de elementos críticos como ROI hace posible la exclusión de elementos que podrían aportar ruido en la identificación de concentraciones críticas de tensión o deformación en esas áreas. Por otro lado, el refinamiento de la ROI aceleró la extracción de datos y el análisis en general.

En la literatura no es habitual la consideración de las zonas de fractura, y cuando se considera, la ROI utilizada se selecciona de acuerdo con la región anatómica definida para cada tipo de fractura. Según el conocimiento de los autores, este es el primer estudio que utiliza campos mecánicos obtenidos con simulaciones FE para la definición de la ROI para las zonas de cuello y trocánter. Dicha ROI coincide con las líneas de fractura observadas en las radiografías realizadas inmediatamente después de la producción de la fractura. Este resultado indica que el modelo de impacto es válido para la identificación de las áreas críticas para los casos de fractura. Es relevante mencionar que la ROI definida en nuestro estudio provino del promedio de todos los elementos críticos de los modelos para cada tipo de fractura, es decir, cuello o trocánter.

Figura 4. Matriz de confusión en la máquina de soporte vectorial (SVM) para mujeres y hueso trabecular: A) fractura de cuello, y B) fractura de trocánter. En color verde están los verdaderos casos positivos, en naranja los verdaderos negativos, en amarillo los falsos positivos (error de tipo I) y en rojo los falsos negativos (error de tipo II)

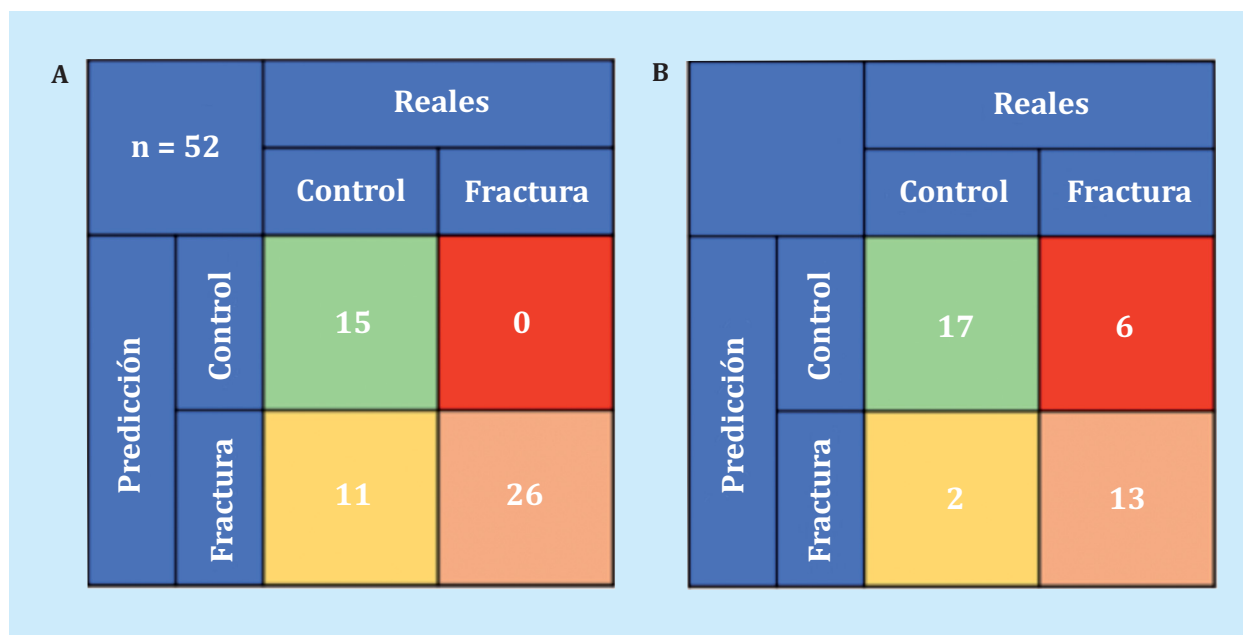
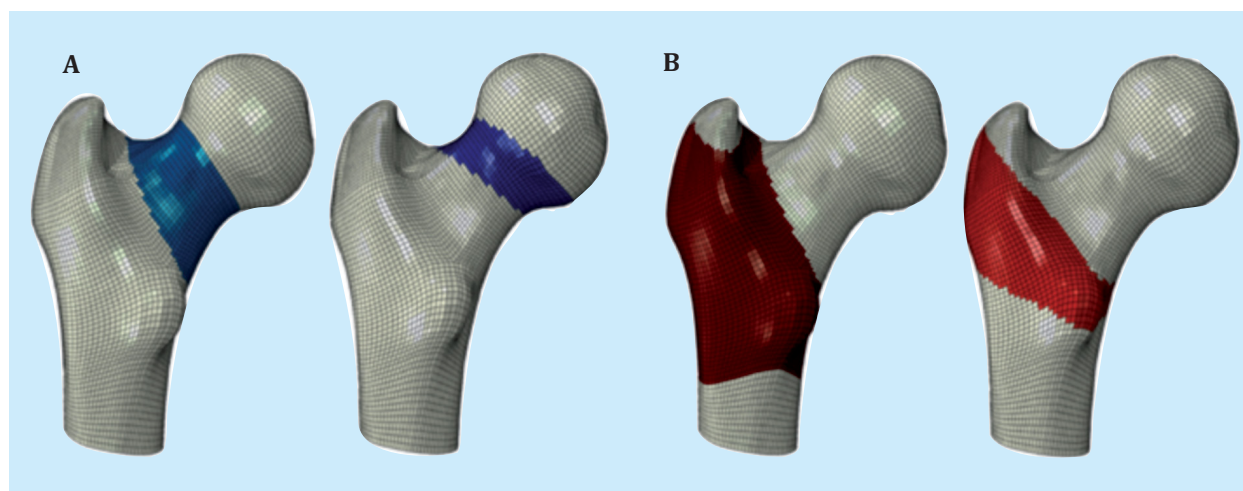


Figura 5. Refinamiento de la región de interés para: a) fractura de cuello, y b) fractura de trocánter



1: zonas de análisis de fractura propuestas en Ruiz Wills y cols. (2019).
 2: zonas reales.

El análisis ROC-AUC para el hueso trabecular indicó que los valores de AUC para la SED, la tensión principal máxima y la MPS fueron mayores que los valores de la DMOv, tanto para la fractura del cuello como del trocánter (Tabla 2). El AUC para la MPS aumentó un 2% (de 0,91 a 0,93) su poder de discriminación con la nueva ROI del trocánter en comparación con la previamente reportada en la literatura²¹. Este incremento puede ser pequeño en términos absolutos; sin embargo, un incremento del 2% en valores de AUC superiores a 0,90 es un resultado excelente. Los valores de AUC para el hueso cortical en la ROI del trocánter fueron 0,8, representando una mejora del 13% en comparación con los valores reportados en un estudio anterior (0,67)²¹. Estos resultados indican que la selección del ROI para el análisis tiene una influencia importante en los resultados de discriminación. Además,

este resultado confirma que la MPS podría ser el mejor parámetro para la clasificación de fracturas, como se presentó en un estudio anterior realizado en nuestro laboratorio²¹.

El análisis de clasificación se realizó utilizando una máquina de soporte vectorial solo para el hueso trabecular y las mujeres. Los resultados mostraron una clasificación perfecta, con una sensibilidad de 100%, de los casos de fractura de cuello femoral. En cuanto a los pacientes sin fractura, el 58% de los casos se clasificaron como verdaderos negativos, es decir, una especificidad de 58%, y el resto de los casos se predijeron como fracturas. Estos 11 casos clasificados erróneos corresponden al error tipo I (falso positivo), lo que significa que la predicción dice que el paciente sufrirá una fractura cuando esto no sucederá o aún no ha ocurrido, con el

Tabla 2. Valores AUC, en el análisis de curvas ROC (promedio de validación cruzada) para mujeres por ROI y tipo de tejido óseo

Variable	Cuello de fémur		Trocánter	
	Trabecular	Cortical	Trabecular	Cortical
DMOv	0,65	0,57	0,72	0,61
Deformación principal máxima	0,65	0,72	0,53	0,65
Deformidad principal mayor (MPE)	0,64	0,72	0,55	0,64
Densidad de energía de deformación (SED)	0,76	0,73	0,82	0,67
Tensión principal máxima	0,82	0,74	0,83	0,74
Tensión principal mayor (MPS)	0,82	0,74	0,93	0,80

AUC: área bajo la curva; ROC: *receiving operating characteristics*; ROI: región de interés.

mayor inconveniente de pedirle al paciente que se someta a un análisis o tome medicamentos cuando no es necesario. Este tipo de error, en la práctica clínica, no sería tan malo, ya que se podrían tomar medidas para prevenir la fractura que es posible que no ocurra. Por el contrario, si la predicción llevara a un error tipo II, sería un escenario peor, ya que indicaría que el paciente no sufrirá ninguna fractura cuando realmente si sucederá. No se encontró ningún error tipo II para la clasificación de fractura de cuello femoral.

En el caso de las fracturas trocántéricas, el 68% de los casos de fractura se predijeron como fractura (sensibilidad del 68%), con 6 pacientes que se predijeron como control cuando se fracturaron, es decir, error tipo II. Una posible explicación podría ser la definición de la ROI para el análisis del trocánter. Aunque la ROI se seleccionó en función de los campos mecánicos críticos, la ROI podría incluir algunos elementos que realmente podrían afectar los resultados obtenidos. Sin embargo, el 89% de los casos de control se clasificaron como control (especificidad del 89%), y solo se obtuvieron 2 casos como error tipo I. Estos resultados sugieren que podría ser necesario un mayor número de pacientes para extrapolar los resultados de los casos de fractura del trocánter.

En ambos casos de fractura, el valor de AUC para la predicción de fractura fue del 0,79. Para la fractura de trocánter, estos valores coinciden con los valores reportados en la literatura para el mismo tipo de fractura¹⁹. Estos resultados sugieren que el modelo volumétrico de fémur basado en la 3D-DXA puede funcionar igual que los modelos de FE basados en la QCT para la clasificación de fracturas trocántéricas. Este sería un punto clave para el uso de modelos de FE en la práctica clínica habitual, ya que la exploración con DXA se puede aplicar a los pacientes para hacer la valoración predictiva de posibles fracturas. El AUC para fractura de cuello fue inferior al reportado en la literatura utilizando un modelo basado en la QCT¹⁹. El valor de AUC destaca el total de casos clasificados con éxito, incluyendo fracturados y controles. Sin embargo, como se comentó anteriormente, no hubo errores de tipo II en la clasificación de los casos de fractura de cuello. En general, estos resultados también indican que nuestro modelo se puede utilizar para la predicción con fiabilidad de fracturas de cuello.

El presente estudio presenta limitaciones. El número de hombres necesita ser aumentado. La extrapolación de los resultados obtenidos se vería reforzada

por el estudio de un mayor número de hombres. Esto proporcionaría una mejor comprensión de la clasificación de fracturas utilizando modelos FE. En cuanto a las propiedades del hueso: la rigidez del hueso trabecular y cortical se calculó mediante relaciones empíricas a partir de DMOv. Se sabe que las propiedades óseas macroscópicas se pueden estimar a partir de la composición ósea a nanoescala a través de la teoría de la homogeneización²⁸⁻³¹. Sin embargo, la estimación de rigidez utilizada en este estudio es precisa, ya que el mecanismo de fractura está fuera del alcance de nuestro objetivo³². El modelo usado en las simulaciones de caída solo podía moverse en la dirección de la velocidad. Tal restricción podría influir en la respuesta mecánica del hueso. Sin embargo, el impacto relacionado con la caída lateral, ocurre en segundos o una fracción de segundos, y es muy probable que el pico de fuerza dañina ocurra efectivamente en la dirección de la velocidad, justo antes del impacto. Como tal, la restricción de todos los grados de libertad excepto en la dirección de la velocidad es un enfoque razonable. Otro punto para considerar, es que no se haya tenido en cuenta la participación de la piel y tejidos blandos en el impacto con la superficie. Sin embargo, la fuerza de caída sujeto-específica utilizada en la simulación estática, incluye la influencia de los tejidos blandos²⁷. La fuerza de caída sujeto-específica utilizada en las simulaciones estáticas se fijó en una dirección. Se ha reportado que el ángulo de fuerza afecta la respuesta mecánica del hueso^{33,34}. El ángulo de aplicación de la fuerza no se modificó en este estudio para simular el efecto máximo que la fuerza de caída puede tener sobre la respuesta mecánica del hueso. La definición de la ROI para fracturas de cuello y trocánter debe mejorarse. Este estudio mostró que la selección de la ROI podría tener influencia en los resultados obtenidos. Se puede implementar la selección automática sujeto-específica de los elementos críticos, mediante la identificación de diferencias significativas entre el campo mecánico obtenido de las simulaciones. Este aspecto debe ser explorado más a fondo.

El siguiente paso sería encontrar una fuerte correlación entre la MPS y los parámetros derivados de la DXA. Para lograr este objetivo, el número de datos debe incrementarse para garantizar la precisión de la correlación encontrada. Una vez que se establezca la correlación, la estimación de la MPS y la predicción de la fractura de cadera se pueden lograr sin la necesidad de ninguna simulación numérica, lo que definitivamente puede ahorrar

mucho tiempo en el diagnóstico. En este sentido, el uso de la MPS como un clasificador/predicador de fracturas en la práctica clínica regular podría ser posible en el futuro cercano.

La identificación de la variable MPS, con un alto valor predictivo sobre las fracturas óseas por fragilidad, abre una nueva etapa en la obtención de un instrumento diagnóstico que, potencialmente, permitirá identificar los pacientes sobre la base de la resistencia de sus huesos disminuida por debajo de un nivel crítico sujeto-específico. Inferir el resultado de esta variable MPS a partir de las mediciones óseas 3D es el siguiente objetivo y su integración con los factores clínicos de riesgo de fractura, no tan solo con la aplicación en las fracturas de fémur, sino también en las principales fracturas osteoporóticas.

CONCLUSIONES

Los modelos de fémur 3D FE basados en la DXA podrían ser una herramienta adecuada para la clasificación de pacientes que pueden sufrir fracturas. La definición de las

regiones de interés más específicas para la zona de análisis es importante para mejorar la calidad de la clasificación. Como tal, la definición debe hacerse con cuidado. En general, nuestros resultados sugieren que, en la práctica clínica, los modelos FE de fémur a partir de exploraciones con DXA se pueden usar en la práctica habitual para ayudar a prevenir las fracturas de cadera. Se necesitan aumentar el número de exploraciones para definir la correlación entre la MPS y los parámetros de la DXA, con el objetivo de evitar el uso de la simulación y acelerar la clasificación fiable de los pacientes con fracturas. Este punto requiere una continuidad en la línea de estudios y una revisión cuidadosa de los resultados, modelando un futuro instrumento predictor de fracturas a partir de exploraciones con DXA con un enfoque biomecánico, incluyendo otros factores de riesgo clínico bien reconocidos.

Financiación: Este estudio ha sido posible gracias al soporte a la investigación que ha supuesto la beca FEIOMM y ayuda financiera del MINECO (RYC-2015-18888).



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

Bibliografía

- King AB, Fiorentino DM. Medicare payment cuts for osteoporosis testing reduced use despite tests' benefit in reducing fractures. *Health Aff (Millwood)*. 2011;30(12):2362-70.
- Siris ES, Pasquale MK, Wang Y, Watts NB. Estimating bisphosphonate use and fracture reduction among US women aged 45 years and older, 2001-2008. *J Bone Miner Res*. 2011;26(1):3-11.
- Lewiecki EM, Laster AJ, Miller PD, Bizikjian JP. More bone density testing is needed, not less. *J Bone Miner Res*. 2012;27(4):739-42.
- Bouxsein ML. Determinants of skeletal fragility. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2005;19:897-911.
- Seeman E, Delmas P. Bone quality - the material and structural basis of bone strength and fragility. *N Engl J Med*. 2006;354:2250-61.
- Cody DD, Gross GJ, Hou FJ, Spencer HJ, Goldstein SA, Fyhrie DP. Femoral strength is better predicted by finite element models than QCT and DXA. *J Biomech*. 1999;32:1013-20.
- Bessho M, Ohnishi I, Matsuyama J, Matsumoto T, Imai K, Nakamura K. Prediction of strength and strain of the proximal femur by a CT-based finite element method. *J Biomech*. 2007;40:1745-53.
- Keyak J, Kaneko T, Tehranzadeh J, Skinner H. Predicting proximal femoral strength using structural engineering models. *Clin Orthop Relat Res*. 2005;347:219-28.
- Nishiyama KK, Gilchrist S, Guy P, Crippen P, Boyd SK. Proximal femur bone strength estimated by a computationally fast finite element analysis in a sideways fall configuration. *J Biomech*. 2013;46:1231-6.
- Koivumäki J, Thevenot J, Pulkkinen P, Kuhn V, Link TM, Eckstein F, et al. Cortical bone finite element models in the estimation of experimentally measured failure loads in the proximal femur. *Bone*. 2012;51:737-40.
- Trabelsi N, Yosibash Z. Patient-specific finite-element analyses of the proximal femur with orthotropic material properties validated by experiments. *J Biomech Eng*. 2011;133:061001.
- Schileo E, Taddei F, Cristofolini L, Viceconti M. Subject-specific finite element models implementing a maximum principal strain criterion are able to estimate failure risk and fracture location on human femurs tested in vitro. *J Biomech*. 2008;41:356-67.
- Dall'Ara E, Luisier B, Schmidt R, Kainberger F, Zysset P, Pahr D. A nonlinear QCT-based finite element model validation study for the human femur tested in two configurations in vitro. *Bone*. 2013;52:27-38.
- Kopperdahl DL, Aspelund T, Hoffmann PF, Sigurdsson S, Siggeirsdottir K, Harris TB, et al. Assessment of incident spine and hip fractures in women and men using finite element analysis of CT scans. *J Bone Miner Res*. 2014;29(3):570-80.
- Falcinelli C, Schileo E, Balistreri L, Baruffaldi F, Bordini B, Viceconti M, et al. Multiple loading conditions analysis can improve the association between finite element bone strength estimates and proximal femur fractures: A preliminary study in elderly women. *Bone*. 2014;67:71-80.
- Qasim M, Farinella G, Zhang J, Li X, Yang L, Eastell R, et al. Patient-specific finite element estimated femur strength as a predictor of the risk of hip fracture: the effect of methodological determinants. *Osteoporos Int*. 2016;27:2815-22.
- Nishiyama KK, Ito M, Harada A, Boyd SK. Classification of women with and without hip fracture based on quantitative computed tomography and finite element analysis. *Osteoporos Int*. 2014;25:619-26.
- Orwoll ES, Marshall LM, Nielson CM, Cummings SR, Lapidus J, Cauley JA, et al. Finite element analysis of the proximal femur and hip fracture risk in older men. *J Bone Miner Res*. 2009;24:475-83.
- Keyak JH, Sigurdsson S, Karlsdottir GS, Oskarsdottir D, Sigmarsdottir A, Kornak J, et al. Effect of finite element model loading condition on fracture risk assessment in men and women: the AGES-Reykjavik study. *Bone*. 2013;57:18-29.
- Humbert L, Martelli Y, Fonolla R, Steghofer M, Di Gregorio S, Malouf J, et al. 3D-DXA: assessing the femoral shape, the trabecular macrostructure and the cortex in 3D from DXA images. *IEEE Trans Med Imaging*. 2017;36:27-39.
- Ruiz Wills C, Olivares AL, Tassani S, Ceresa M, Zimmer V, Gonzalez Ballester MA, et al. 3D patient-specific finite element models of the proximal femur based on DXA towards the classification of fracture and non-fracture cases. *Bone*. 2019;121:89-99.
- Schileo E, Balistreri L, Grassi L, Cristofolini L, Taddei F. To what extent can linear finite element models of human femora predict failure under stance and fall loading configurations? *J Biomech*. 2014;47:3531-8.
- Hodgkinson R, Currey JD. Young's modulus, density and material properties in cancellous bone over a large density range. *J Mater Sci Mater Med*. 1992;3:377-81.
- Keller TS, Carter DR, Hernandez CJ, Beaupre GS. The Influence of Bone Volume Fraction and Ash Fraction on Bone Strength and Modulus. *Bone*. 2001;29:74-8.
- Schileo E, Dall'Ara E, Taddei F, Malandrino A, Schotkamp T, Baleani M, et al. An accurate estimation of bone density improves the accuracy of subject-specific finite element models. *J Biomech*. 2008;41:2483-91.
- van den Kroonenberg AJ, Hayes WC, McMahon T. Dynamic models for sideways falls from standing height. *J Biomech Eng*. 1995;117:309-18.
- Bouxsein ML, Szulc P, Munoz F, Thrall E, Sornay-Rendu E, Delmas PD. Contribution of trochanteric soft tissues to fall force estimates, the factor of risk, and prediction of hip fracture risk. *J Bone Miner Res*. 2007;22:825-31.
- Blanchard R, Dejaco A, Bongaers E, Hellmich C. Intravoxel bone micromechanics for microCT-based finite element simulations. *J Biomech*. 2013;46:2710-21.
- Fritsch A, Hellmich C, Dormieux L. Ductile sliding between mineral crystals followed by rupture of collagen crosslinks: Experimentally supported micromechanical explanation of bone strength. *J Theor Biol*. 2009;260:230-52.
- Morin C, Vass V, Hellmich C. Micromechanics of elastoplastic porous polycrystals: Theory, algorithm, and application to osteonal bone. *Int J Plast*. 2017;91:238-67.
- Scheiner S, Pivonka P, Hellmich C. Poromicromechanics reveals that physiological bone strains induce osteocyte-stimulating lacunar pressure. *Biomech Model Mechanobiol*. 2016;15:9-28.
- Yosibash Z, Trabelsi N, Hellmich C. Subject-specific p-FE analysis of the proximal femur utilizing micromechanics-based material properties. *Int J Multiscale Comput Eng*. 2009;6:483-98.
- Ali AA, Cristofolini L, Schileo E, Hu H, Taddei F, Kim RH, et al. Specimen-specific modeling of hip fracture pattern and repair. *J Biomech*. 2014;47:536-43.
- Grassi L, Schileo E, Taddei F, Zani L, Juszczak M, Cristofolini L, et al. Accuracy of finite element predictions in sideways load configurations for the proximal human femur. *J Biomech*. 2012;45:394-9.

Protocolo de diagnóstico y manejo de hipocalcemia en postoperatorio de tiroides

DOI: <http://dx.doi.org/10.4321/S1889-836X2020000200006>

Huguet I¹, Muñoz M², Cortés M³, Romero M⁴, Varsavsky M⁵, Gómez J⁶

1 Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital Universitario Infanta Leonor. Madrid (España)

2 Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital Universitario San Cecilio. Granada (España)

3 Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital Ruber Juan Bravo. Madrid (España)

4 Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital General Universitario Rafael Méndez. Lorca (España)

5 Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital Italiano de Buenos Aires. Buenos Aires (Argentina)

6 Servicio de Cirugía General. Hospital Universitario Ramón y Cajal y Ruber Juan Bravo. Madrid (España)

Fecha de recepción: 23/02/2020 - Fecha de aceptación: 21/06/2020

Resumen

Objetivo: La hipocalcemia transitoria por hipoparatiroidismo es la complicación más frecuente de la cirugía cervical (tiroidea y paratiroidea) y también de las reintervenciones. La hipocalcemia por hipoparatiroidismo se asocia a pocos síntomas, si es leve, o a síntomas graves como convulsiones, insuficiencia cardíaca o laringoespasma, en los casos graves. Tanto el hipoparatiroidismo transitorio como el permanente pueden tener importantes repercusiones sobre la salud de los pacientes, y es necesario establecer protocolos apropiados para su prevención, evaluación y tratamiento.

Material y métodos: Se realizó una búsqueda sistemática en Pubmed.gov de la evidencia disponible de artículos en inglés y español con fecha de inclusión hasta mayo del 2019. Se realizaron las recomendaciones mediante sistema GRADE (*Grading of Recommendations, Assessment, Development and Evaluation*).

Resultado y conclusiones: Proponemos un consenso de manejo del paciente que va a ser sometido a cirugía tiroidea o paratiroidea, con apartados diferenciados para las distintas etapas del proceso, que ayude a la toma de decisiones clínicas y que sirva de ayuda en el proceso de alta y derivación a consultas externas, y, por tanto, la optimización de recursos.

Palabras clave: hipoparatiroidismo, hipocalcemia, tiroidectomía.

INTRODUCCIÓN

La hipocalcemia transitoria por hipoparatiroidismo es la complicación más frecuente de la cirugía cervical (tiroidea y paratiroidea) y también de las reintervenciones. El déficit de secreción de hormona paratiroidea (PTH) origina la hipocalcemia postoperatoria por una inhibición de la reabsorción ósea, una disminución de síntesis de 1-25-dihidroxi vitamina D por el riñón y una reducción de la absorción intestinal de calcio. Algunas comorbilidades asociadas, como malabsorción, bypass gástrico y el tratamiento con bisfosfonatos, pueden favorecer la insuficiencia paratiroidea. Cuando la secreción de PTH es insuficiente, se desarrolla hipocalcemia. La hipocalcemia por hipoparatiroidismo se asocia a pocos síntomas, si la hipocalcemia es leve, o da síntomas graves, como convulsiones, insuficiencia cardíaca o laringoespasma, en los casos graves. Además de la magnitud de la hipocalcemia, la rapidez de instauración determina su expresión clínica¹.

La extirpación o daño inadvertido de las paratiroides o la alteración de su aporte sanguíneo son las causas responsables. Tanto el hipoparatiroidismo transitorio como el permanente pueden tener importantes repercusiones sobre la salud de los pacientes, y es necesario establecer

protocolos apropiados para su prevención, evaluación y tratamiento².

La frecuencia con la que esta complicación aparece es difícil de establecer, y varía según los parámetros analizados. Estos parámetros incluyen la definición de hipocalcemia, su expresión clínica y el concepto de hipoparatiroidismo transitorio y permanente. Un meta-análisis reciente de estudios observacionales realizado en el Reino Unido encuentra una incidencia tras tiroidectomía del 27% (19-38%) para el hipoparatiroidismo transitorio, y del 1% (0-3%) para el permanente³.

Es importante establecer el papel del endocrinólogo en la identificación preoperatoria de los pacientes de riesgo, el manejo coordinado con el cirujano en el postoperatorio inmediato y el seguimiento de los pacientes con hipoparatiroidismo prolongado.

El objetivo de nuestra propuesta es elaborar un protocolo de manejo del paciente que va a ser sometido a cirugía tiroidea o paratiroidea, con apartados diferenciados para las distintas etapas del proceso, que ayude a la toma de decisiones clínicas y que sirva de ayuda en el proceso de alta y derivación a consultas externas, y, por tanto, la optimización de recursos.



Correspondencia: Isabel Huguet (ihm.huguet@gmail.com)

Definiciones clínicas

Hipoparatiroidismo bioquímico: hipocalcemia bioquímica acompañada de PTH por debajo de límite inferior del laboratorio¹.

Hipoparatiroidismo clínico: hipoparatiroidismo bioquímico acompañado de signos o síntomas de hipocalcemia.

Insuficiencia paratiroidea o hipoparatiroidismo relativo: signos o síntomas de hipoparatiroidismo que precisan tratamiento médico, a pesar de niveles normales¹.

Hipoparatiroidismo transitorio: hipoparatiroidismo que se recupera en menos de 12 meses.

Hipoparatiroidismo permanente: hipoparatiroidismo con necesidad de tratamiento que se prolonga más de 12 meses.

Hipocalcemia grave: aquella que se presenta con síntomas de espasmo carpopedal, tetania, convulsiones, alargamiento del intervalo QT o una hipocalcemia que siendo asintomática se presenta de forma aguda con niveles de calcio corregido menores o iguales a 7,5 mg/dl, lo que podría llevar a serias complicaciones si no se trata.

Debido a que, en una gran parte de casos, la hipocalcemia postoperatoria se resuelve en el primer mes tras cirugía, algunos autores optan por esperar hasta la 4-6ª semana para establecer el diagnóstico de hipoparatiroidismo, considerando hipoparatiroidismo prolongado si hay niveles de PTH bajos o el paciente necesita tratamiento a partir de un mes postcirugía, y permanente cuando esta situación se prolonga más allá del año².

Fisiopatología

Los mecanismos implicados en la hipocalcemia postquirúrgica son varios. El más frecuente es el daño directo a las glándulas: bien sea por lesión del sistema de vascularización, por daño mecánico o por la escisión parcial o completa de las mismas de forma inadvertida o voluntaria. La vascularización de paratiroides es compleja y sus variantes dificultan el acto quirúrgico. Habitualmente la arteria tiroidea inferior suele ser el vaso dominante dando irrigación tanto a paratiroides inferiores como superiores, las cuales también suelen recibir un aporte de la arteria tiroidea superior. Sin embargo, hay individuos con dominancia de la arteria tiroidea superior o variantes en las que las anastomosis tiro-tímicas aportan un componente importante en la irrigación¹; por todo ello, la experiencia del cirujano y su habilidad para identificar las glándulas y sus vasos, es fundamental a la hora de evitar complicaciones en el postoperatorio.

Respecto a la etiología de la hipocalcemia en el postoperatorio, merece mención especial desde el punto de vista de la fisiopatología el síndrome de hueso hambriento. Este síndrome está clásicamente descrito en pacientes hiperparatiroides con importante afectación ósea, en los que tras una cirugía de paratiroides se produce un descenso brusco de los niveles de PTH que lleva a una hipocalcemia mantenida con hipofosforemia, que puede acrecentarse además si el tejido paratiroideo normofuncionante restante, tras haber estado sometido crónicamente a hipercalcemia, queda temporalmente aturdido⁴. A pesar de que un clásico síndrome de hueso hambriento no pasaría desapercibido, las formas leves del síndrome posiblemente quedan infradiagnosticadas, por lo que es necesario tenerlo presente en todas las etapas alrededor del proceso quirúrgico en pacientes hiperparatiroides, así como en pacientes con hipertiroidismo que se van a someter a tiroidectomía y que muestren tener un hueso hipermetabólico, bien mediante la densidad mineral ósea (DMO) o bien mediante marcadores de remodelado óseo, como la fosfatasa alcalina (FA).

Evaluación preoperatoria

En la evaluación preoperatoria de los pacientes, debemos identificar a aquellos que presentan mayor riesgo de hipocalcemia postquirúrgica mediante datos clínicos y bioquímicos (Figura 1).

Respecto a la patología a intervenir, los pacientes con hipertiroidismo, con patología tumoral en la que además se prevea resección ganglionar, o pacientes con cirugía simultánea de tiroides y paratiroides, presentan mayor riesgo de hipocalcemia. Igualmente, los pacientes con anatomía modificada por cirugía cervical previa o radiación están en mayor riesgo.

Es recomendable valorar el estado de la vitamina D, ya que varios estudios han relacionado su déficit con hipocalcemia transitoria^{3,5-7}. De igual forma es importante detectar a pacientes con problemas malabsortivos y solicitar una determinación de magnesio previa a la intervención.

Una vez detectados los pacientes de riesgo, sugerimos tratar el déficit de vitamina D a pacientes que van a ser sometidos a tiroidectomía. En el caso de la cirugía de paratiroides, aunque no todos los trabajos identifican al déficit de vitamina D como un elemento clave en el desarrollo de la hipocalcemia postquirúrgica⁸, dado que varios estudios han demostrado que la corrección del déficit de vitamina D no incrementa la calcemia de forma significativa^{9,10}, sugerimos, si es posible, tratar el déficit al menos en los pacientes que presentan mayores niveles de FA o afectación ósea.

Recomendaciones:

- Recomendamos identificar activamente a pacientes con mayor riesgo de hipocalcemia postquirúrgica en el periodo preoperatorio (1|⊕⊕○○).

- Sugerimos tratar del déficit de vitamina D en pacientes con mayor riesgo de hipocalcemia postoperatoria (2|⊕○○○).

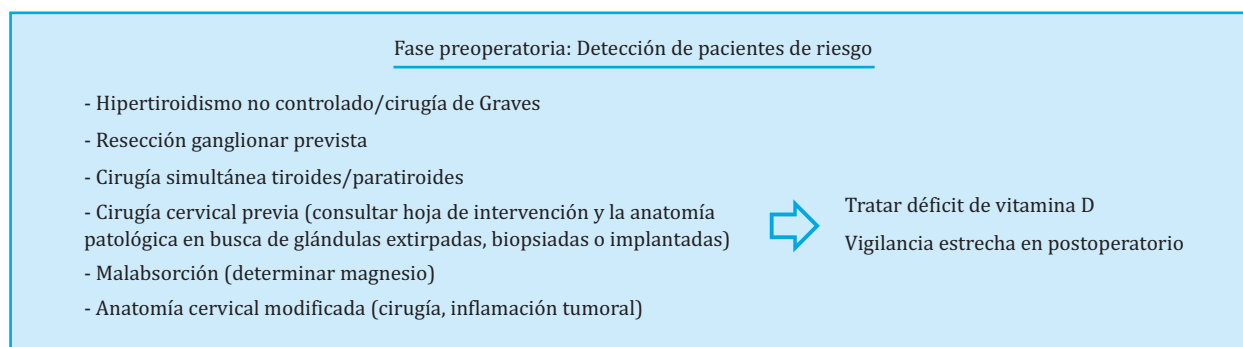
Postoperatorio inmediato

Tiempo tras cirugía para solicitar analítica inicial con PTH
Diversos grupos han estudiado la utilidad de la medición de la PTH rápida o intraoperatoria (PTHiop) y de la PTH intacta (PTHi) en el periodo postoperatorio precoz, que va desde los 10 minutos hasta las 24 horas tras la tiroidectomía. La vida media corta de la PTH (3-5 minutos) permite la toma de decisiones en el postoperatorio en función de sus niveles. La PTHiop se determina a partir de muestras de sangre extraídas durante o poco tiempo después de la cirugía. En muchos hospitales proporciona un resultado rápido, mientras que la determinación rutinaria de PTH intacta puede no ser lo suficientemente rápida como para tomar decisiones terapéuticas en el postoperatorio¹¹.

Niveles de PTHiop menores de 7-17,9 pg/ml han demostrado ser predictores de hipocalcemia¹²⁻¹⁴, así como descensos postquirúrgicos de la PTH mayores del 62,5-80%^{12,14,15}. Niveles bajos de PTHi, generalmente <10-15 pg/ml, en las primeras 24 horas del postoperatorio han demostrado una elevada sensibilidad y especificidad para predecir el desarrollo de hipocalcemia¹⁶⁻²⁰. La disminución tardía de la PTHi, igual o mayor del 80%, ha demostrado su utilidad para seleccionar a pacientes candidatos a alta hospitalaria precoz²¹. Sin embargo, la utilidad de los niveles precoces de PTHi para predecir el hipoparatiroidismo permanente es controvertida²².

La evidencia disponible y la variabilidad de las técnicas de medida de PTH no nos permiten sugerir o recomendar claramente el momento de extracción de la muestra ni los puntos de corte para decidir el alta hospitalaria precoz o el inicio del tratamiento de la hipocalcemia.

Figura 1. Manejo en fase preoperatoria



Monitorización inicial de calcemia y PTH

Valorar la calcemia y la PTH en las primeras 6-8 horas posteriores a la tiroidectomía y la monitorización postoperatoria del calcio total sérico (corregido por albúmina) o del calcio iónico cada 6-12 horas es necesario para el diagnóstico y seguimiento del hipoparatiroidismo postoperatorio, que será más estrecho en los pacientes de mayor riesgo (Figura 2). El intervalo de tiempo para los cambios en los niveles de calcio es mayor que para la PTH, y el nadir de calcio puede tardar en aparecer 24-72 h tras la cirugía¹¹. Se han utilizado los niveles y la variación postoperatoria de calcio para establecer las indicaciones a seguir.

Los niveles de calcio iónico ($<1-1,1$ mmol/l)^{23,24} y calcio sérico corregido (generalmente <8 mg/dl)^{16,25,26} en las primeras 24 h del postoperatorio han demostrado predecir el desarrollo de hipocalcemia, aunque la medición precoz de PTH es más sensible y costo-efectiva^{25,27}. La determinación conjunta de PTH y calcemia en las primeras 24 h del postoperatorio predijo el desarrollo de hipocalcemia con más precisión que cada parámetro de manera aislada^{16,27}. La variación del calcio sérico total en las primeras horas del postoperatorio ha sido útil para predecir la evolución posterior: la tendencia neutral o positiva del calcio total (no cambio o elevación entre 2 mediciones postoperatorias consecutivas) predijo la normocalcemia con un valor predictivo positivo (VPP) del 86-100%²⁸⁻³⁰; la tendencia negativa (descenso) del calcio total se asoció con el desarrollo posterior de hipocalcemia²⁸⁻³⁰.

Dado que el síndrome de hueso hambriento forma parte del diagnóstico diferencial de la hipocalcemia postoperatoria, especialmente en pacientes con hiperparatiroidismo severo o hipertiroidismo severo con niveles de fosfatasa alcalina elevada, la determinación de fósforo puede ser de gran utilidad para diferenciar esta entidad de la hipocalcemia por hipoparatiroidismo, ya que los niveles de fósforo estarán disminuidos en el caso de una rápida remineralización de un hueso sometido a hipermetabolismo^{1,31,32}.

Si es posible llevarlo a cabo, la realización del signo de Trousseau por turnos puede ser de ayuda en el postoperatorio para identificar el hipoparatiroidismo clínico y el hipoparatiroidismo relativo.

Manejo de hipocalcemia leve-moderada con tratamiento oral
El propósito general del tratamiento es mantener la calcemia en el límite inferior o levemente por debajo del límite inferior del rango de referencia^{1,32,33}.

La sal de calcio más comúnmente utilizada para la corrección de la hipocalcemia es el carbonato de calcio porque contiene mayor cantidad de calcio elemental (40%) que el citrato de calcio (21%). El citrato de calcio

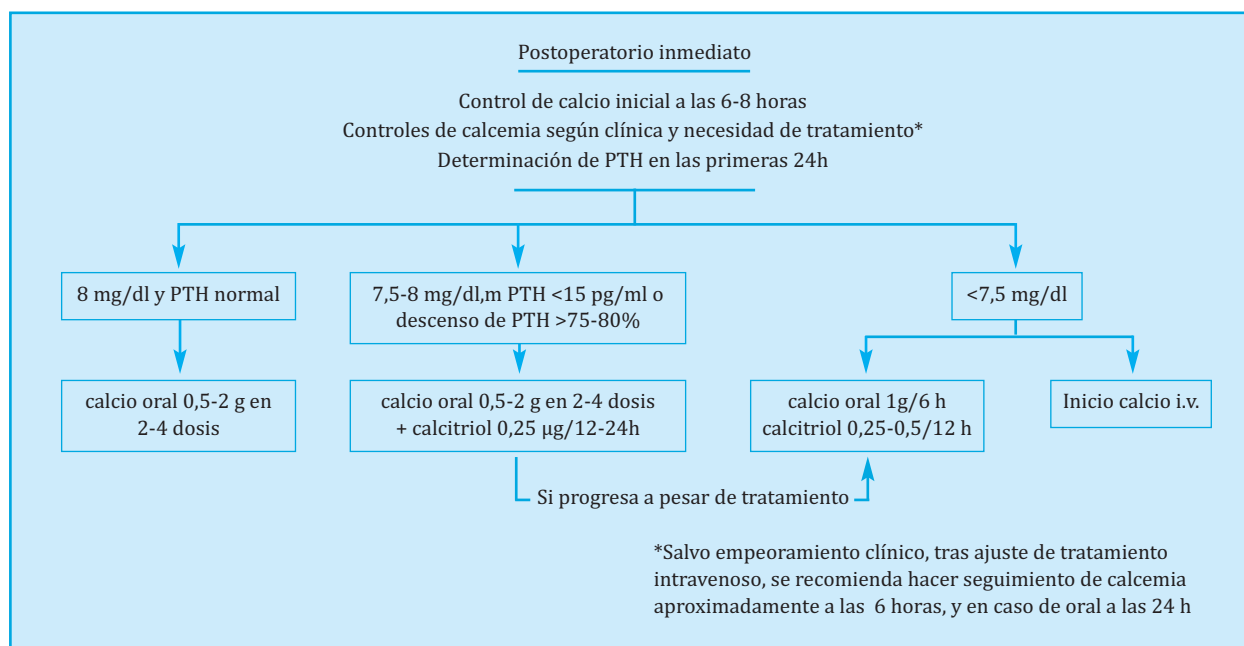
no requiere de la acidez gástrica para su absorción por lo cual puede ser más útil en pacientes con aclorhidria, baja acidez gástrica como se observa en los pacientes en tratamiento con inhibidores de la bomba de protones, o pacientes con gastrectomía. La dosis usual es 0,5-2 g de calcio elemento repartida en 2-4 dosis. La dosis óptima en cuanto absorción intestinal parece ser la de 500 mg de calcio elemento por toma, ya que con dosis superiores no se consigue un incremento proporcional en la absorción. La sal de calcio debe tomarse idealmente con las comidas para garantizar su mejor absorción y actuar, además, como quelante de fósforo³⁴⁻³⁶.

El calcitriol es el metabolito activo de la vitamina D, por lo cual tiene un rápido inicio de acción aumentando la absorción del calcio a nivel intestinal. Se caracteriza por una menor vida media (2-3 días) que ergocalciferol o colecalciferol (semanas), siendo esto muy útil porque sus efectos son más rápidamente reversibles en caso de hipercalcemia iatrogénica. El calcitriol puede empeorar la hiperfosfatemia por aumento de la absorción de fosfatos a nivel intestinal. Se administra en dosis de 0,25-2,0 µg/día. En ocasiones, es necesario disminuir la ingesta de fosfatos en la dieta por la hiperfosfatemia asociada, y también pueden administrarse fijadores de fosfato para disminuir la hiperfosfatemia en los casos severos^{35,36}.

El tratamiento del hipoparatiroidismo leve y moderado se recomienda realizarlo en forma oral (Figura 2). En los pacientes con PTH <15 pg/ml, o descenso del nivel de PTH superior al 75-80% con respecto al nivel basal, calcio sérico $<8,0$ mg/dl o calcio iónico $<1,0$ mmol/l ó $<4,0$ mg/dl medido dentro de las primeras 6-8 horas del postoperatorio, se recomienda iniciar tratamiento con calcio elemental 0,5-2 g de calcio elemento repartida en 2-4 dosis con las comidas y calcitriol 0,25-0,5 µg/día controlando calcio y magnesio cada 6-12 horas. En caso de progresión de la hipocalcemia a pesar del tratamiento previamente descrito o calcio menor a 7,5 mg/dl, se debe aumentar el calcio a 1 g cada 6 horas y el calcitriol a 0,50-1 µg/día dividido en 2 veces al día; también en estos casos puede ser necesario el tratamiento con calcio endovenoso. La hipocalcemia leve (Ca $>8,0$ mg/dl) puede tratarse con suplementos de calcio oral³⁷ en dosis de 0,5-2 g de calcio elemento repartida en 2-4 dosis.

Dado que el magnesio puede disminuir en la hipocalcemia induciendo una disminución en la secreción de PTH y una resistencia a la actividad de la PTH, la hipomagnesemia, en pacientes con función renal normal, debe suplementarse con magnesio 400-1.000 mg/día, y, además, también puede ser útil para disminuir el estreñimiento asociado a altas dosis de calcio³⁴⁻³⁶.

Figura 2. Manejo en postoperatorio inmediato



Se debe separar la administración de sales de calcio de la levotiroxina, porque inhibe su absorción. La levotiroxina se recomienda tomarla 1 hora antes ó 3 h después de las sales de calcio oral^{1,31,32}.

Recomendaciones:

- En las primeras 24 h tras la tiroidectomía, sugerimos determinar los niveles de PTH y su porcentaje de descenso respecto a los valores preoperatorios para detectar aquellos pacientes con mayor riesgo de hipocalcemia (2|⊕⊕○○).

- La evidencia disponible no nos permite recomendar un punto de corte concreto de la PTH (ausencia de recomendación).

- Tras la tiroidectomía, recomendamos la determinación seriada de calcio iónico o calcio total corregido para identificar a aquellos pacientes con mayor riesgo de hipocalcemia, candidatos a tratamiento con suplementos de calcio y/o calcitriol (1|⊕○○○).

- Tras la tiroidectomía, sugerimos determinación de fósforo plasmático para identificar y detectar pacientes con posible hueso hambriento (2|⊕○○○).

- Si es posible llevarlo a cabo, sugerimos realizar el signo de Trousseau por turnos (2|⊕○○○).

- Recomendamos realizar el tratamiento del hipoparatiroidismo leve y moderado en forma oral para mantener la calcemia en el límite inferior o levemente por debajo del límite inferior del rango de referencia (1|⊕⊕⊕○).

- Sugerimos el tratamiento con calcio elemental 0,5-2 g repartido en 2-4 dosis, con las comidas y calcitriol 0,25-0,5 mg/día en los pacientes con PTH <15 pg/ml, o descenso del nivel de PTH superior al 75-80% con respecto al basal, o calcio sérico <8,0 mg/dl o calcio iónico <1,0 mmol/l (o en mg/dl, iónico <4,0 mg/dl) medido dentro de las primeras 6-8 h del postoperatorio, y seguimiento con controles de calcio y magnesio cada 6-12 horas. En caso de progresión de la hipocalcemia a pesar del tratamiento previamente descrito o calcio menor a 7,5 mg/dl, sugerimos aumentar el calcio a 1 g cada 6 h y el calcitriol a 0,50-1 µg/día dividido en 2 veces al día y/o calcio endovenoso (2|⊕⊕○○).

- Sugerimos el tratamiento de la hipocalcemia leve (Ca >8,0 mg/dl) con suplementos de calcio oral en dosis de 0,5-2 g en 2-4 dosis (2|⊕⊕○○).

Manejo de la hipocalcemia grave

El tratamiento de la hipocalcemia grave, es decir, aquella que se presenta con síntomas de espasmo carpopedal, tetania, convulsiones o alargamiento del intervalo QT, o aquella con nivel <7,5 mg/dl aunque sea asintomática, se realiza con calcio intravenoso.

Inicialmente, el tratamiento se hará con un bolo de 1 ó 2 gramos de gluconato cálcico (GC) en 50 ml de suero glucosado al 5% o suero salino infundido en 10-20 minutos. Esta dosis eleva la calcemia durante unas dos o tres horas, por lo que debe ser seguida de una infusión lenta de calcio en pacientes con hipocalcemia persistente (unos 50 mg de calcio elemento por hora). Esto se consigue añadiendo 11 gramos de GC = 11 ampollas de GC al 10%, con 93 mg de calcio elemento por ampolla = 1.000 mg de calcio elemento → en 1.000 ml de suero glucosado al 5% o suero salino, a administrar a 50 ml/hora. Los pacientes suelen requerir 0,5 a 1,5 mg de calcio elemento/kg de peso/hora. Las dosis deben ajustarse para mantener el calcio sérico en el límite bajo de la normalidad^{11,36}.

Una rápida administración intravenosa de las sales de calcio puede causar vasodilatación, disminución de la presión sanguínea, bradicardia, arritmias cardíacas, síncope y paro cardíaco. A los pacientes que reciben digoxina se les debe monitorizar estrechamente por el riesgo de intoxicación digitalica aguda por una probable inducción de la acción inotropa positiva de la digoxina. La infusión no debe contener bicarbonato ni fosfato, ya que pueden formar sales insolubles de calcio. Si se necesita perfundir estos aniones es preciso usar una vía intravenosa en otro miembro^{38,39}. Se recomienda el uso de GC frente a cloruro de calcio, ya que este último puede producir necrosis tisular si hay una extravasación.

La perfusión debe mantenerse hasta que el paciente reciba un régimen adecuado de calcio oral y vitamina D

que permita mantener los niveles en objetivo. Para pacientes con hipoparatiroidismo se recomienda calcitriol (dosis de 0,25 a 0,5 µg dos veces al día) y calcio oral (3 a 4 gramos de calcio elemento al día repartidos en varias tomas) que se iniciarán junto con la perfusión intravenosa, suspendiendo la perfusión cuando la calcemia alcance el límite inferior de la normalidad. En cuanto al tratamiento con PTH recombinante humana (PTHrh) en hipocalcemia grave por hipoparatiroidismo agudo hay muy pocos datos publicados. En un estudio observacional realizado en 8 pacientes a los que se les administró PTHrh hasta tres semanas se observó una corrección de la hipocalcemia en 24 horas⁴⁰. También hay algunos casos publicados de uso de PTHrh en hipoparatiroidismo agudo, pero sin datos suficientes para hacer una recomendación^{11,41,42}. El estudio fase II THYPOS publicado en 2016 evaluaba su utilización en pacientes de alto riesgo para prevenir los episodios de hipocalcemia aguda y acortar la estancia hospitalaria, con resultados positivos⁴³.

Recomendaciones:

- Sugerimos el uso de calcio intravenoso para el tratamiento de la hipocalcemia grave (2|⊕○○○).
- Recomendamos el uso de gluconato cálcico frente a cloruro de calcio por el riesgo de necrosis en caso de extravasación (1|⊕⊕⊕⊕).
- Sugerimos iniciar el tratamiento con calcio oral y calcitriol junto a la perfusión intravenosa de calcio (2|⊕○○○).

Postoperatorio precoz y tardío

Las pautas profilácticas de suplementación con calcio y vitamina D tras cirugía pueden retrasar la recuperación de las paratiroides tras la manipulación quirúrgica⁴⁴, por lo que no recomendamos su uso, cada vez ya menos extendido. En el caso de los pacientes que requieren tratamiento al alta, aunque clásicamente se ha usado la estrategia de mantener el calcio en límite inferior de la normalidad en el primer mes postquirúrgico considerando que podría ser un estímulo para el tejido glandular residual, no estamos seguros de que un ambiente hipocalcémico no sea en sí mismo una agresión al tejido glandular, y son necesarios más estudios para concluir

qué nivel de calcemia es el óptimo en el primer mes post-cirugía⁴⁵. Los pacientes que precisan suplementación al alta deben ser reevaluados tras 1 ó 2 semanas con una nueva analítica con determinación de calcemia y PTH, y si los niveles de calcio son normales, se reducirá el tratamiento a la mitad aproximadamente, planificando una reevaluación posterior para intentar suspenderlo. Es importante que el paciente conozca los síntomas de hipo e hipercalcemia para que acudan a urgencias en caso de ser necesario, ya que es frecuente que el alta se produzca antes de que se alcance el nadir de calcio plasmático¹.

En relación al manejo del hipoparatiroidismo crónico en el postoperatorio tardío, los objetivos del tratamiento incluyen: mantener al paciente asintomático; mantener niveles de calcio cercanos al límite inferior de la normalidad pero sin sobrepasar 0,5 mg/dl por debajo del mismo; prevenir la hipocalcemia; conseguir un producto calcio-fósforo <≠; y evitar la hipercalcemia, la hipercalcemia y las calcificaciones ectópicas, incluyendo las renales⁴⁶. El tratamiento consiste en suplementación con calcio oral y calcitriol y, tras las últimas guías, en las que se recomienda mantener niveles de 25(OH) vitamina D >20 ng/ml, la suplementación con colecalciferol o ergocalciferol (éste último no disponible en España) en caso de ser necesario. El uso de tiazidas puede ayudar a controlar la hipercalcemia, y los quelantes de fósforo pueden emplearse para regular este ión, aunque su uso sólo está recomendado para niveles elevados (>6,5 mg/dl)³⁶. Respecto al uso de análogos de PTH, los estudios realizados hasta el momento han demostrado que estabilizan niveles plasmáticos de calcio y fósforo, disminuyendo significativamente la necesidad de tratamiento oral. En 2015, la FDA (*Foods and Drugs Administration*) aprobó el uso de rhPTH (1-84), junto con calcio y vitamina D, para el tratamiento de adultos con hipoparatiroidismo mal controlado con la terapia convencional, y en 2017 lo hizo la Comisión Europea⁴⁷.

Recomendaciones:

- Sugerimos revisión postquirúrgica 1-2 semanas tras el alta con determinación de calcemia y PTH (2|⊕○○○).



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

Bibliografía

- Orloff LA, Wiseman SM, Bernet VJ, Fahey TJ 3rd, Shaha AR, Shindo ML, et al. American Thyroid Association statement on postoperative hypoparathyroidism: diagnosis, prevention, and management in adults. *Thyroid*. 2018;28:830-41.
- Lorente-Poch L, Sancho JJ, Muñoz-Nova JL, Sánchez-Velázquez P, Sitges-Serra A. Defining the syndromes of parathyroid failure after total thyroidectomy. *Gland Surg*. 2015;4:82-90.
- Edafe O, Antakia R, Laskar N, Uttley L, Balasubramanian SP. Systematic review and meta-analysis of predictors of post-thyroidectomy hypocalcaemia. *Br J Surg*. 2014;101:307-20.
- Kaya C, Tam AA, Dirikoç A, Kılıçyazgan A, Kılıç M, Türkölmez Ş, et al. Hypocalcemia development in patients operated for primary hyperparathyroidism: Can it be predicted preoperatively? *Arch Endocrinol Metab*. 2016;60:65-471.
- Erbil Y, Ozbey NC, Sari S, Unalp HR, Agcaoglu O, Ersoz F, et al. Determinants of postoperative hypocalcemia in vitamin D-deficient Graves' patients after total thyroidectomy. *Am J Surg*. 2011; 201:685-91.
- Kirkby-Bott J, Markogiannakis H, Skandarahaj A, Cowan M, Fleming B, Palazzo F. Preoperative vitamin D deficiency predicts postoperative hypocalcemia after total thyroidectomy. *World J Surg*. 2011;35:324-30.
- Erbil Y, Barbaros U, Temel B, Turkoglu U, Is sever H, Bozboru A, et al. The impact of age, vitamin D(3) level, and incidental parathyroidectomy on postoperative hypocalcemia after total or near total thyroidectomy. *Am J Surg*. 2009;197:439-46.
- Kaderli RP, Riss P, Dunkler D, Pietschmann P, Selberherr A, Scheuba C, et al. The impact of vitamin D status on hungry bone syndrome after surgery for primary hyperparathyroidism. *Eur J Endocrinol*. 2018; 178:1-9.
- Rolighed L, Rejnmark L, Sikjaer T, Heickendorff L, Vestergaard P, Mosekilde L, et al. Vitamin D treatment in primary hyperparathyroidism: a randomized placebo controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99:1072-80.
- Grey A, Lucas J, Horne A, Gamble G, Davidson JS, Reid IR. Vitamin D repletion in patients with primary hyperparathyroidism and coexistent vitamin D insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90:2122-6.
- Stack BC, Bimston DN, Bodenner DL, Brett EM, Dralle H, Orloff LA, et al. American association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology disease state clinical review: postoperative hypoparathyroidism- definitions and management. *Endocr Pract*. 2015;21:674-85.
- McLeod IK, Arciero C, Noordzij JP, Stojadinovic A, Peoples G, Melder PC, et al. The use of rapid parathyroid hormone assay in predicting postoperative hypocalcemia after total or completion thyroidectomy. *Thyroid*. 2006;16:259-65.
- Scurry WC, Beus KS, Hollenbeak CS, Stack BC. Perioperative parathyroid hormone assay for diagnosis and management of postthyroidectomy hypocalcemia. *Laryngoscope*. 2005; 115:1362-6.
- Alía P, Moreno P, Rigo R, Francos J-M, Navarro M-A. Postresection parathyroid hormone and parathyroid hormone decline accurately predict hypocalcemia after thyroidectomy. *Am J Clin Pathol*. 2007;127:592-7.
- Castro A, Del Rio L, Gavilan J. Stratifying the risk of developing clinical hypocalcemia after thyroidectomy with parathyroid hormone. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2018;158:76-82.
- Asari R, Passler C, Kaczirek K, Scheuba C, Niederle B. Hypoparathyroidism after total thyroidectomy: a prospective study. *Arch Surg*. 2008;143:132-7.
- Youngwirth L, Benavidez J, Sippel R, Chen H. Parathyroid hormone deficiency after total thyroidectomy: incidence and time. *J Surg Res*. 2010;163:69-71.
- Kim JP, Park JJ, Son HY, Kim RB, Kim HY, Woo SH. Effectiveness of an i-PTH measurement in predicting post thyroidectomy hypocalcemia: prospective controlled study. *Yonsei Med J*. 2013;54:637-42.
- Kala F, Sarici IS, Ulutas KT, Sevim Y, Dogu A, Sarigoz T, et al. Intact parathormone measurement 1 hour after total thyroidectomy as a predictor of symptomatic hypocalcemia. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8:1883-8.
- Lombardi CP, Raffaelli M, Princi P, Santini S, Boscherini M, De Crea C, et al. Early prediction of postthyroidectomy hypocalcemia by one single iPTH measurement. *Surgery*. 2004;136:1236-41.
- Del Río L, Castro A, Bernáldez R, Del Palacio A, Giráldez CV, Lecumberri B, et al. Parathyroid hormone as a predictor of post-thyroidectomy hypocalcemia. *Acta Otorrinolaringol Esp*. 2011;62:265-73.
- Lifante J-C, Payet C, Ménégau F, Sebag F, Kraimps J-L, Peix J-L, et al. Can we consider immediate complications after thyroidectomy as a quality metric of operation? *Surgery*. 2017;161:156-65.
- Rosa KM, de Matos LL, Cernea CR, Brandão LG, de Araújo Filho VJF. Postoperative calcium levels as a diagnostic measure for hypoparathyroidism after total thyroidectomy. *Arch Endocrinol Metab*. 2015;59(5): 428-33.
- de Andrade Sousa A, Salles JMP, Soares JMA, de Moraes GM, Carvalho JR, Rocha PRS. Course of ionized calcium after thyroidectomy. *World J Surg*. 2010;34:987-92.
- Lo CY, Luk JM, Tam SC. Applicability of intraoperative parathyroid hormone assay during thyroidectomy. *Ann Surg*. 2002; 236:564-9.
- Lindblom P, Wester Dahl J, Bergenfelz A. Low parathyroid hormone levels after thyroid surgery: a feasible predictor of hypocalcemia. *Surgery*. 2002;131:515-20.
- Graff AT, Miller FR, Roehm CE, Prihoda TJ. Predicting hypocalcemia after total thyroidectomy: parathyroid hormone level vs. serial calcium levels. *Ear Nose Throat J*. 2010;89:462-5.
- Luu Q, Andersen PE, Adams J, Wax MK, Cohen JL. The predictive value of perioperative calcium levels after thyroid/parathyroid surgery. *Head Neck*. 2002;24:63-7.
- Güllüoğlu BM, Manukyan MN, Cingi A, Yeğen C, Yalin R, Aktan AO. Early prediction of normocalcemia after thyroid surgery. *World J Surg*. 2005;29:1288-93.
- Husein M, Hier MP, Al-Abdulhadi K, Black M. Predicting calcium status post thyroidectomy with early calcium levels. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2002;127:289-93.
- Kakava K, Tournis S, Papadakis G, Karelis I, Stampouloglou P, Kassi E, et al. Postsurgical hypoparathyroidism: a systematic review. *In Vivo*. 2016;30(3):171-9.
- Kazaure HS, Sosa JA. Surgical Hypoparathyroidism. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2018;47(4):783-96.
- Walker Harris V, Jan De Beur S. Postoperative hypoparathyroidism: medical and surgical therapeutic options. *Thyroid*. 2009; 19:967-73.
- Gafni RI, Collins MT. Hypoparathyroidism. *N Engl J Med*. 2019;380(18):1738-47.
- Teclazich F, Formenti AM, Frara S, Giubbini R, Giustina A. Treatment of hypoparathyroidism. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2018;32:955-64.
- Brandi ML, Bilezikian JP, Shoback D, Bouillon R, Clarke BL, Thakker RV, et al. Management of hypoparathyroidism: summary statement and guidelines. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101:2273-83.
- Calvo Espino P, Rivera Bautista JA, Artés Caselles M, Serrano González J, García Pavía A, García-Oria MJ, et al. Serum levels of intact parathyroid hormone on the first day after total thyroidectomy as predictor of permanent hypoparathyroidism. *Endocrinol Diabetes Nutr*. 2019;66:195-201.
- Tohme JF, Bilezikian JP. Diagnosis and treatment of hypocalcemic emergencies. *The Endocrinologist*. 1996;6:10-8.
- https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/69465/FT_69465.pdf.
- Shah M, Bancos I, Thompson GB, Richards ML, Kasperbauer JL, Clarke BL, et al. Teriparatide therapy and reduced postoperative hospitalization for postsurgical hypoparathyroidism. *JAMA Otolaryngol Neck Surg*. 2015;141(9): 822-7.
- Mishra PE, Schwartz BL, Sarafoglou K, Hook K, Kim Y, Petryk A. Short-term PTH(1-34) therapy in children to correct severe hypocalcemia and hyperphosphatemia due to hypoparathyroidism: two case studies. *Case Rep Endocrinol*. 2016;2016:1-4.
- Andrysiak-Mamos E, Żochowska E, Kaźmierczyk-Puchalska A, Popow M, Kaczmarek-Turek D, Pachucki J, et al. Treatment of severe life threatening hypocalcemia with recombinant human teriparatide in patients with postoperative hypoparathyroidism - a case series. *Endokrynol Pol*. 2016;67:403-12.
- Palermo A, Mangiameli G, Tabacco G, Longo F, Pedone C, Briganti SI, et al. PTH(1-34) for the primary prevention of postthyroidectomy hypocalcemia: the THYPOS trial. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101:4039-45.
- Dedivitis RA, Aires FT, Cernea CR. Hypoparathyroidism after thyroidectomy: prevention, assessment and management. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 2017;25:142-6.
- Sitges-Serra A, Gómez J, Barczynski M, Lorente-Poch L, Iacobone M, Sancho J. A nomogram to predict the likelihood of permanent hypoparathyroidism after total thyroidectomy based on delayed serum calcium and iPTH measurements. *Gland Surg*. 2017; 6(Suppl 1):S11-9.
- Bollerslev J, Rejnmark L, Marcocci C, Shoback DM, Sitges-Serra A, van Biesen W, et al. European Society of Endocrinology Clinical Guideline: treatment of chronic hypoparathyroidism in adults. *Eur J Endocrinol*. 2015;173:G1-20.
- Mannstadt M, Bilezikian JP, Thakker RV, Hannan FM, Clarke BL, Rejnmark L, et al. Hypoparathyroidism. *Nat Rev Dis Primers*. 2017;3:17080.

