



**UNIVERSIDAD DE GRANADA**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**TESIS DOCTORAL**

**OSTEOPOROSIS, METABOLISMO MINERAL  
Y RECEPTOR SOLUBLE DEL FACTOR DE  
NECROSIS TUMORAL (sTNFR-55) EN  
CIRROSIS VIRAL**

**ELENA MARÍA RUIZ ESCOLANO**

**GRANADA 2008**





*A mi esposo Roberto y mis hijos Elena y Álvaro.*

*A mis padres, hermanos y cuñadas.*



# AGRADECIMIENTOS

He podido contar para la preparación de este trabajo con la ayuda de muchas personas, a las que me complace expresar aquí mi reconocimiento. Debo nombrar, en primer lugar, a Jorge González Calvín, por haberme hecho partícipe de sus interesantes trabajos de investigación, por su dedicación, apoyo y amistad. También a los integrantes del Servicio de Aparato Digestivo del Hospital San Cecilio por su apoyo, muy especialmente a Francisco Casado Caballero por su ayuda en la resolución de problemas informáticos. A los departamentos de Fisiología, Bioquímica y Medicina Nuclear que, al realizar las determinaciones analíticas y densitometrías óseas han hecho posible este estudio.

A mi esposo Roberto, quien ha sufrido más directamente el trabajo realizado; por su comprensión y ayuda en los momentos difíciles.

Por último, y muy especialmente, a mis padres, por su apoyo constante que me ha permitido llegar hasta aquí.



# ***ÍNDICE***





<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>3</b>
<b>1. CIRROSIS HEPÁTICA.....</b>	<b>3</b>
1.1 Definición.....	3
1.2 Clasificación.....	3
1.3 Etiología.....	5
1.4 Epidemiología.....	10
1.5 Características clínicas.....	10
1.6 Diagnóstico.....	19
1) Historia clínica.....	19
2) Exploración física.....	19
3) Laboratorio.....	19
4) Técnicas de imagen.....	22
1.7 Pronóstico y estadiaje de la cirrosis hepática.....	25
1.8 Cuantificación de la función hepática.....	29
1.9 Fibrosis hepática.....	31
1.10 Alteraciones hormonales y factores de crecimiento en la cirrosis hepática.....	35
- Hormonas sexuales.....	35
- Hormona del crecimiento (GH) y factor de crecimiento insulinoide (IGF-.....	37

<b>2. OSTEOPOROSIS</b> .....	39
2.1 Composición y estructura del hueso.....	41
2.2 Citoquinas: estructura y función del factor de necrosis tumoral (TNF).....	45
- Inmunoregulación por citoquinas en la Inflamación.....	46
- TNF.....	47
2.3 Remodelado óseo.....	49
- Balance óseo negativo.....	51
- Aumento del recambio óseo.....	51
- Espacio óseo en remodelación.....	52
2.4 Control del remodelado óseo.....	53
- Sistema RANK-RANKL/OPG.....	61
- Menopausia y masa ósea.....	64
- Masa ósea y edad.....	65
2.5 Metabolismo mineral.....	66
2.6 Evolución de la masa ósea a lo largo de la vida.....	75
2.7 Factores determinantes del pico de masa ósea.....	78
2.8 Factores de riesgo de osteoporosis.....	82
2.9 Clasificación de la osteoporosis generalizada.....	98
2.10 Osteodistrofia hepática.....	102
2.11 Estudio y diagnóstico de la osteoporosis.....	104

A- Evaluación clínica.....	104
B- Densitometría ósea.....	107
C- Marcadores bioquímicos de recambio óseo.....	108
D- Bioquímica y Hematología estándares.....	115
2.11 Osteoporosis en varones.....	116
<b>II. OBJETIVOS.....</b>	<b>121</b>
<b>III. MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>125</b>
1. MATERIAL.....	125
- Criterios de exclusión.....	126
- Clasificación de los pacientes.....	126
2. MÉTODOS.....	127
2.1 Determinación de la ingesta etílica y otros hábitos.....	127
2.2 Serología virus de la hepatitis (VHA, VHB, VHC).....	128
2.3 Datos de laboratorio.....	128
2.4 Determinación de la densidad mineral ósea: Densitometría ósea.....	129
2.5 Técnicas de ensayo.....	133
2.6 Métodos estadísticos.....	136
A- Test de homogeneidad de dos muestras.....	136
B- Test de homogeneidad de dos porcentajes.....	137
C- Análisis de correlación lineal simple.....	138
D- Análisis de regresión múltiple.....	138

<b>IV. RESULTADOS</b> .....	143
A. Test de comparación de medias.....	143
- Datos analíticos.....	143
- Datos de densitometría ósea.....	149
B. Correlación lineal simple.....	151
C. Porcentaje de osteoporosis.....	152
D. Análisis de regresión.....	153
<b>V. TABLAS</b> .....	157
<b>VI. FIGURAS</b> .....	167
<b>VII. DISCUSIÓN</b> .....	188
<b>VIII. CONCLUSIONES</b> .....	197
<b>IX. BIBLIOGRAFIA</b> .....	201

# ***I. INTRODUCCIÓN***



# **1. CIRROSIS HEPÁTICA**

## **1.1. DEFINICIÓN.**

La palabra cirrosis deriva del griego scirrhus, que significa naranja o ámbar oscuro. Fue propuesta por Laennec en 1826. En la autopsia de un paciente con cirrosis observó que el hígado presentaba un aspecto ligeramente mamelonado con superficie arrugada de color grisáceo-amarillento.

Según las recomendaciones del grupo de expertos de la OMS, la cirrosis hepática se define como un “proceso difuso caracterizado por la fibrosis y el cambio de la arquitectura hepática normal, en nódulos estructuralmente anómalos” <sup>1</sup>. Los nódulos no poseen una organización lobular y contribuyen a la pérdida de la arquitectura normal. El proceso es difuso y debe afectar a todo el órgano.

La cirrosis hepática representa la fase terminal de diferentes enfermedades hepáticas de distinta etiología.

## **1.2. CLASIFICACIÓN**

La cirrosis hepática puede clasificarse de acuerdo con las características morfológicas <sup>1</sup>, la etiología, el estado evolutivo, la actividad de la enfermedad y las complicaciones.

### **a) Clasificación morfológica**

Desde el punto de vista morfológico la cirrosis se divide en tres tipos, según el tamaño de los nódulos de regeneración: *miconodular*, *macronodular* y *mixta*.

- La *cirrosis hepática miconodular* se caracteriza por la regularidad en el tamaño de los nódulos y porque todos o casi todos los nódulos tienen menos



de 3 mm de diámetro. A menudo este patrón se observa al inicio del desarrollo de la enfermedad. El hígado es a menudo de tamaño normal o aumentado.

- La *cirrosis macronodular* se caracteriza por la presencia de septos y nódulos que difieren en tamaño, muchos de ellos mayores de 3 mm de diámetro. El hígado puede ser de tamaño normal, pero con frecuencia está reducido.

- En la *cirrosis mixta* se ve aproximadamente la misma proporción de micro y macronódulos <sup>2,3</sup>. El porcentaje de cirrosis mixtas es alto. La utilidad diagnóstica de esta clasificación es mínima.

#### **b) Clasificación según la actividad de la enfermedad (histológica y bioquímica).**

La actividad se mide por el grado de destrucción hepatocelular y el infiltrado inflamatorio. Hay que tener en cuenta la necrosis por etapas en los márgenes septales, los cuerpos acidófilos, la necrosis focal, así como la cirrosis alcohólica.

Suele graduarse la actividad como *nula, leve, moderada y grave*, basada en los datos histológicos anteriores. La evolución se evalúa mediante el seguimiento y las observaciones seriadas clínicas, bioquímicas y, cuando sea posible, histológicas.

Desde el punto de vista bioquímico la actividad se valora por el aumento de las transaminasas (AST y ALT) y la función hepática se valora mediante la determinación de albúmina sérica y actividad de protrombina.

### **1.3. ETIOLOGÍA**

En general, las causas más frecuentes conocidas de cirrosis a nivel mundial en la edad adulta son el alcohol y las hepatitis víricas B y C. En

nuestro medio, el alcohol (40%) junto a la infección crónica por el VHC (40%) y el VHB (10%), constituyen las causas más frecuentes <sup>4</sup>.

A continuación se expone una relación de causas establecidas de cirrosis hepática, causas no demostradas y causas desconocidas <sup>2</sup>.

- **Causas establecidas**

- Alcohol.
- Hepatitis viral (tipo B, B y D, y C).
- Hepatitis autoinmune.
- Trastornos metabólicos:
  - Hemocromatosis.
  - Enfermedad de Wilson.
  - Déficit de  $\alpha$ 1-antitripsina.
  - Fibrosis quística.
  - Enfermedades por almacenamiento de glucógeno.
  - Galactosemia.
  - Tirosinemia hereditaria.
  - Intolerancia a la fructosa hereditaria.
  - Telangiectasia hemorrágica hereditaria.
  - Enfermedad de Byler.
  - Abetalipoproteinemia.
  - Porfiria hepatocutánea tarda.
- Enfermedades biliares:
  - Obstrucción biliar extrahepática (cirrosis biliar secundaria).
  - Obstrucción biliar intrahepática.
  - Cirrosis biliar primaria.
  - Colangitis esclerosante primaria.
- Obstrucción del flujo venoso:
  - Enfermedad venooclusiva.
  - Síndrome de Budd-Chiari.
  - Insuficiencia cardíaca.
- Fármacos y toxinas.

- Bypass intestinal por obesidad.
- Sarcoidosis.
- Sífilis.
  
- **Causas no demostradas**
  - Micotoxinas.
  - Hepatitis vírica tipo G.
  - Esquistosomiasis.
  - Malnutrición.
  - Obesidad.
  - Diabetes mellitus.
  
- **Causas desconocidas**
  - Cirrosis infantil india.
  - Cirrosis criptogénica.

El diagnóstico etiológico suele obtenerse mediante datos epidemiológicos, clínicos, bioquímicos, inmunológicos e histológicos.

La esteatohepatitis no alcohólica (EHNA) constituye una entidad con hallazgos histológicos que remedan a la enfermedad hepática inducida por el alcohol consumido de forma significativa. Actualmente se acepta como causa de cirrosis, entre el 7 al 16 % de los pacientes <sup>5,6</sup>, sobre todo en pacientes con obesidad y DMNID <sup>7</sup>.

## **CIRROSIS ALCOHÓLICA**

El desarrollo de la cirrosis alcohólica está relacionada con la cantidad y duración del consumo de alcohol.

En varones, el riesgo relativo de cirrosis hepática es 6 veces mayor con consumo de 40-60 gr de etanol por día que si se ingieren 20 gr al día, y la dosis y umbral cirrótico medio son más bajos en mujeres que en hombres. Este riesgo aumenta 14 veces si el consumo es de 60 a 80 gr al día <sup>8</sup>. Se ha

calculado que la dosis cirrógica media es de aproximadamente 100 gr de alcohol al día, tomada de forma regular durante 25 años.

Según Leibel<sup>9</sup>, la posibilidad de desarrollar una cirrosis en un individuo que beba más de 210 gr de alcohol al día durante 20 años es del 50 %, aumentando al 80 % si es durante 33 años.

En un estudio de casos/control realizado en varones, el riesgo relativo de desarrollar cirrosis fue de 1,83 consumiendo de 40 a 60 gramos de alcohol absoluto diarios comparado con varones consumidores de menos de 40 gr/día<sup>10</sup>, aumentando a 100 en bebedores de más de 80 gramos/día. Otros autores<sup>11</sup> consideran excepcional que la ingesta etílica diaria de un paciente que ingresa en su hospital por cirrosis hepática alcohólica sea inferior a 150 gramos/día.

Con relación a las mujeres, se ha observado que son más susceptibles a una lesión hepática severa y al desarrollo de cirrosis con una dosis acumulativa de etanol mucho menor que los hombres<sup>8</sup>. Esta tendencia a desarrollar una enfermedad hepática podría estar relacionada con los menores niveles de ADH gástrica en las mujeres en relación con los hombres<sup>12</sup> y a las diferencias en el metabolismo de los ácidos grasos.

Puede concluirse que si la ingesta etílica diaria supera los 80-100 gr al día de etanol, existe un riesgo incrementado de desarrollar una cirrosis hepática.

La ingesta menor de 50 gr de etanol al día hace improbable su aparición, a no ser que se añadan otras etiologías como por ejemplo el VHB y C, que aumenta la incidencia de lesión hepática crónica en los alcohólicos.

Aproximadamente el 18-25 % de los alcohólicos están infectados con el VHC. Otros factores de riesgo que pueden afectar a la susceptibilidad para el desarrollo de la enfermedad hepática alcohólica son causas genéticas, malnutrición, sexo femenino<sup>12,13,14</sup>.

El 90-95 % de las personas con consumo crónico de alcohol desarrolla esteatosis hepática <sup>15,16,17</sup>. En casi todos los casos, se cree que esta lesión es reversible tras el cese del consumo de alcohol. Un pequeño grupo de individuos evoluciona con esclerosis perivenular (depósito de colágeno en y alrededor de las venas centrales). El 10-35 % de los alcohólicos crónicos, sin embargo, presenta enfermedad hepática aguda que puede transformarse en recurrente o crónica. Algunos de estos pacientes se recuperan, pero otros desarrollan fibrosis sinusoidal, perivenular, y cirrosis. Incluso durante el estadio inflamatorio, sin presencia de cirrosis, los pacientes pueden presentar hipertensión portal, ascitis y varices esofágicas <sup>18</sup>.

### **CIRROSIS POR VIRUS B Y C**

Los virus conocidos que pueden causar cirrosis son el virus B y C y excepcionalmente algunos no-A, no-B, no-C. De ellos, el virus de la hepatitis C es la causa más frecuente de hepatitis crónica y constituye el 20-50 % de todas las hepatitis crónicas <sup>19</sup>. Esta es una cifra considerable dada la tendencia a evolucionar a la cronicidad de ésta enfermedad, así el 60-75 % de las hepatitis agudas por el VHC desarrollan una hepatitis crónica, y de éstas, el 20 % <sup>20</sup> progresarán a cirrosis hepática. Los porcentajes referidos varían según la forma de transmisión de la enfermedad, siendo mayor cuando la infección se adquirió por vía parenteral.

La supervivencia de la cirrosis por virus de la hepatitis C, parece no ser significativamente diferente a la población general, según se desprende de estudios prospectivos en donantes de sangre en plazos superiores a los 20 años <sup>21</sup>. No obstante, el estado de portador de este virus, puede favorecer el desarrollo de carcinoma hepatocelular y en algunos casos, insuficiencia hepática y otras complicaciones de la cirrosis.

Se acepta que el principal factor pronóstico de la cirrosis hepática por virus de la hepatitis C, es el consumo crónico y elevado de alcohol. Además, la asociación de ambos factores es bastante frecuente. En este sentido, Mendenhall CL y cols <sup>22</sup>, han demostrado que existe una alta prevalencia de

anti-VHC, confirmados mediante técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), en pacientes alcohólicos crónicos con cirrosis. Las cifras oscilan de un 18 al 45 %. La prevalencia de anticuerpos se relacionaba con una mayor gravedad de la enfermedad y la aparición de complicaciones con respecto a los pacientes seronegativos.

Respecto al VHB, se conoce que tan sólo un 5-10 % de las hepatitis agudas por este virus cronifican y estudios prospectivos <sup>23</sup> han observado que aproximadamente el 15-20 % de los pacientes con una hepatitis crónica por VHB desarrolló una cirrosis hepática a los 5 años de seguimiento. La presencia de replicación vírica (HBe Ag +, DNA +, PCR +), la mayor edad, así como la presencia de puentes de necrosis en la biopsia hepática favorecen la aparición de cirrosis.

Globalmente, el pronóstico de la cirrosis hepática por virus B es peor que para el virus C. Los pacientes europeos <sup>24</sup> tienen una mortalidad del 15 % a los 5 años, porcentaje que asciende al 20 % cuando existe replicación vírica. Estudios norteamericanos aportan cifras de hasta 55 % de mortalidad a los 5 años <sup>25</sup>.

#### **1.4. EPIDEMIOLOGÍA**

No se conoce con exactitud la prevalencia de la cirrosis en la población. Esto es debido, en parte, a que en muchos casos la clínica es silente. Casi un 40 % de los casos pueden ser descubiertos en la autopsia <sup>26</sup> y una proporción queda sin detectar. La prevalencia de la cirrosis hepática ha aumentado en las últimas décadas, y en muchos países es causa importante de mortalidad en el adulto. Éste hecho parece coincidir con un alto consumo de alcohol per cápita<sup>27</sup>.

## 1.5. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

Clínicamente, la cirrosis puede desarrollarse sin que aparezca ningún síntoma. Conforme progresa la lesión, aparecen dos consecuencias importantes, la insuficiencia hepática y la hipertensión portal, responsables de las principales complicaciones de la cirrosis: ictericia, encefalopatía, ascitis, hemorragia digestiva o insuficiencia renal.

La cirrosis que no presenta ninguna de estas complicaciones se denomina ***cirrosis compensada***. La cirrosis con una o más de estas complicaciones se conoce como ***cirrosis descompensada***.

La *cirrosis compensada* es clínicamente latente y puede ser descubierta por otro motivo al realizar la exploración clínica (eritema palmar, arañas vasculares, ginecomastia, atrofia testicular, contractura de Dupuytren, venas superficiales prominentes en la pared abdominal “cabeza de medusa”), cribaje bioquímico (elevación de transaminasas, colestasis, hipoproteinemia, hipoalbuminemia,...), gastroscopia (varices esofágicas) o ecografía abdominal.

Un 30-40% de los casos de cirrosis pueden ser asintomáticos<sup>22</sup>. En otros casos, la cirrosis puede sospecharse por la presencia de febrícula, deterioro del estado general con astenia, anorexia o pérdida de peso, o debido a anemia, trombocitopenia o leucopenia secundarias a hiperesplenismo.

La **fiebre**, es frecuente, generalmente poco marcada y continua (entre 38 - 38,5 °C). En la cirrosis alcohólica, se debe con frecuencia a hepatitis alcohólica. El principal problema cuando existe fiebre es determinar si se debe a la propia cirrosis o a una infección asociada. Las infecciones bacterianas son frecuentes en la cirrosis, por los defectos en la defensa inmunitaria<sup>28</sup> y la función macrofágica<sup>29</sup>. Las infecciones más frecuentes son la peritonitis bacteriana, cuando existe ascitis, la infección urinaria, broncopulmonar o del tracto respiratorio superior y la infección cutánea<sup>30</sup>.

Las manifestaciones clínicas más frecuentes de la *cirrosis descompensada* son ascitis, ictericia, encefalopatía hepática y hemorragia gastrointestinal.

La cirrosis es la causa más frecuente de **ascitis**. La ascitis se desarrolla progresivamente, con frecuencia se asocia a edemas en extremidades inferiores y a derrame pleural en un 5-10 % casos. Se forma debido al desequilibrio entre la formación y reabsorción del líquido peritoneal. La distribución del líquido entre los espacios vascular y tisular se determina por el equilibrio de las presiones hidrostáticas y oncóticas en los dos compartimentos. La acumulación de líquido en la cavidad peritoneal de los pacientes con cirrosis se debe a diferentes factores:

- La hipertensión portal, con aumento del volumen plasmático esplácnico total.

- Las alteraciones renales, que favorecen el aumento de la reabsorción y retención de sodio y agua (estimulación del sistema renina-aldosterona, el aumento de la liberación de hormona antidiurética y la disminución de la liberación de la hormona natriurética).

- Hipoalbuminemia por disminución de su síntesis hepática, que causa la disminución de la presión oncótica intravascular. Las pérdidas de albúmina a cavidad peritoneal a través de la linfa aumentan la presión oncótica intraperitoneal y aumentan la ascitis.

- Desequilibrio en la formación y extracción de la linfa hepática e intestinal. El drenaje linfático (extracción) no compensa el aumento de liberación de linfa, debido fundamentalmente al aumento de la presión sinusoidal intrahepática, porque provoca la formación de ascitis.

- Niveles elevados de vasopresina y adrenalina séricas, en respuesta a la depleción de volumen y que acentúan los factores renales y vasculares.

Clínicamente, las manifestaciones de la ascitis son el signo del tímpano, abombamiento de los flancos, matidez cambiante y de los flancos y el signo de



la oleada ascítica. Además, pueden hallarse herniaciones abdominales o umbilicales, edema escrotal o del pene y derrame pleural más frecuente derecho (por paso directo del líquido ascítico del abdomen a la cavidad pleural a través de defectos del diafragma)<sup>31</sup>.

El diagnóstico de ascitis es fácil cuando es voluminosa, cuando es pequeña la cantidad de líquido ascítico se reconoce mejor por ultrasonografía o tomografía computarizada (TC).

Siempre debe realizarse paracentesis para la determinación de proteínas, recuento de glóbulos rojos y blancos, y cultivos para aerobios y anaerobios.

La **ictericia** es una manifestación de insuficiencia hepatocelular grave. Se debe primariamente al fallo del hepatocito en la excreción de la bilirrubina.

Normalmente es resultado de hiperbilirrubinemia mixta, conjugada y no conjugada, con predominio de la bilirrubina conjugada. Se asocia a orina colúrica y bilirrubinuria.

Otros factores no relacionados directamente con la insuficiencia hepatocelular contribuyen a la hiperbilirrubinemia como a) la hiperhemólisis, que aumenta la carga de bilirrubina al hígado y contribuye al aumento de bilirrubina no conjugada, b) la insuficiencia renal funcional en pacientes con ascitis (Síndrome hepatorenal) que disminuye la excreción de bilirrubina por el riñón y contribuye al aumento de la bilirrubina conjugada y c) infecciones bacterianas (ej: peritonitis bacteriana espontánea, infección urinaria) que pueden producir colestasis y contribuir al aumento de bilirrubina conjugada. La corrección de estos factores, reducirá la intensidad de la ictericia.

La **hemorragia digestiva** habitualmente es consecuencia de la rotura de varices esofágicas o gástricas. También puede deberse a lesiones agudas de la mucosa gástrica, úlceras gástricas o duodenales o a gastropatía hipertensiva<sup>32</sup>.

La circulación venosa portosistémica colateral se desarrolla como consecuencia directa de la hipertensión portal. El mantenimiento de la hipertensión portal, una vez formadas las colaterales, se atribuye al aumento secundario del flujo sanguíneo esplácnico <sup>33</sup>.

La hemorragia por varices esofágicas se produce sin causa precipitante conocida y generalmente se manifiesta como una hematemesis masiva no dolorosa o melenas y refleja fundamentalmente la hipertensión portal.

Aunque no existe acuerdo entre la correlación entre la hemorragia y la gravedad de la hipertensión portal, se acepta generalmente que la hemorragia suele observarse cuando la presión portal supera los 12 mm Hg y es más probable en pacientes con varices de mayor tamaño <sup>34</sup>.

La **encefalopatía hepática** puede presentarse espontáneamente o debido a factores precipitantes, los más habituales son la hemorragia gastrointestinal, la infección bacteriana, la administración de diuréticos en pacientes con ascitis, alteraciones hidroelectrolíticas y fármacos neurosedantes tipo benzodiazepinas. Causa alteración del estado mental y del comportamiento.

Puede ser subclínica, recurrente con episodios manifiestos o crónica, y puede conducir a la degeneración hepatocerebral <sup>36</sup>.

Los signos neurológicos de la encefalopatía hepática se deben a alteraciones metabólicas y en la mayoría de los casos son transitorios, cambiantes y potencialmente reversibles.

La patogenia de la encefalopatía hepática no se conoce completamente.

Se han propuesto algunos mecanismos patogénicos que afectan a los sistemas de neurotransmisión para explicar la encefalopatía hepática:

- Neurotoxicidad por amoníaco (la teoría más aceptada).
- Aumento de la captación de GABA a nivel cerebral acompañado de aumento del tono GABA-érgico <sup>35</sup>.

- Intervención de otros neurotransmisores (acetilcolina, histamina, taurina, sistema opioide, otros péptidos).

La **anemia** es muy frecuente en la cirrosis descompensada. Se debe a una escasa producción de hematíes en médula ósea y a un aumento de la destrucción periférica de estos. Generalmente es macrocítica, pero puede ser microcítica e hipocroma tras pérdidas gastrointestinales.

Además de la pérdida hemática y el déficit de hierro, otros factores pueden contribuir a la anemia:

- Déficit de ácido fólico.
- Hemólisis, especialmente en cirrosis avanzada (consecuencia de alteraciones de la membrana eritrocitaria y de una fragilidad aumentada de los glóbulos rojos).
- Hiperesplenismo (aumento de tamaño y función del bazo) causado por la hipertensión portal y la obstrucción al flujo portal. El hiperesplenismo resultante ocasiona el secuestro y la destrucción de algunas o todas las células sanguíneas, con disminución de la supervivencia de los glóbulos rojos, neutropenia y trombopenia. Estas alteraciones hematólogicas generalmente no son graves y no requieren un tratamiento específico.

También es frecuente observar en la cirrosis hepática **alteraciones de la coagulación**, consecuencia de un descenso de la síntesis de los factores de la coagulación a nivel hepático, de la fibrinólisis y de la trombocitopenia.

Cuando esta alteración es moderada, no presenta consecuencias clínicas. Pero cuando es grave, puede determinar la aparición de equimosis espontáneas, hemorragias o púrpura.

Las **anomalías endocrinas** ocurren, presumiblemente, a consecuencia de la insuficiencia hepática en la conjugación o el metabolismo hormonal, debido a la insuficiencia hepatocelular, a comunicaciones portosistémicas, o a ambas. El alcohol también puede ocasionar cambios hormonales, y en un

cirrótico alcohólico resulta difícil determinar si la causa es el alcohol o la cirrosis.

- La *feminización* se manifiesta por ginecomastia, arañas vasculares, eritema palmar y cambios en el patrón del vello corporal. Se cree es debida a una conversión aumentada de esteroides androgénicos a estrógenos en tejidos periféricos. La espironolactona puede inducir ginecomastia por descenso de la testosterona sérica y disminución de la actividad del receptor androgénico hepático <sup>37</sup>.

- El *hipogonadismo* se manifiesta en el varón como atrofia testicular, pérdida de la libido, impotencia y elevada prevalencia de infertilidad. Puede mejorar al mejorar la función hepática. Se cree el hipogonadismo es un efecto directo del alcohol, más que una consecuencia de la hepatopatía <sup>38</sup>. Las mujeres presentan oligomenorrea, amenorrea y esterilidad. El estradiol y la progesterona plasmáticas están descendidas <sup>39</sup>.

- La prevalencia de *diabetes* está aumentada en pacientes con cirrosis hepática <sup>40</sup>, manifestándose como hiperglucemia, intolerancia a la glucosa, glucosuria leve, hiperinsulinemia (resultado de un catabolismo reducido de la insulina por el hígado) y resistencia periférica a la insulina. Generalmente puede tratarse con dieta, ocasionalmente requiere antidiabéticos orales y excepcionalmente insulina.

La hipoglucemia puede observarse en cirrosis avanzada con insuficiencia hepatocelular grave aunque también puede deberse a infecciones bacterianas, consumo de alcohol <sup>41</sup> o al consumo elevado de glucosa por un carcinoma hepatocelular <sup>42</sup>.

Otras manifestaciones clínicas de la cirrosis son:

- **Síndrome hepatorenal:** Es una insuficiencia renal progresiva que se produce en pacientes con hepatopatía grave. La mayoría tiene cirrosis descompensada y ascitis a tensión.

Los riñones anatómicamente e histológicamente son normales y capaces de desarrollar una función normal.

La patogenia exacta del síndrome hepatorenal no se conoce. Se cree que la alteración renal se debe a una perturbación del flujo sanguíneo renal caracterizado por vasoconstricción de las arteriolas de la corteza renal externa con derivación de la sangre hacia médula renal, lo que produce una disminución del filtrado glomerular y del flujo urinario.

Se cree que las alteraciones de la hemodinámica renal en el síndrome hepatorenal son la consecuencia de la disminución del flujo sanguíneo eficaz y del aumento del tono simpático, aumento de la presión venosa renal e intraabdominal y de la alteración del equilibrio normal de los agentes vasoactivos como renina-angiotensina, prostaglandinas, tromboxanos, cininas, endotoxinas y calicreína normal.

Estudios recientes sugieren la afectación de la endotelina-1 y la endotelina-3 en el síndrome hepatorenal <sup>42</sup>. Otros estudios se centran en las alteraciones de la hemodinámica sistémica que acompaña a este síndrome. Entre ellas se incluyen la circulación hiperdinámica, aumento de la frecuencia cardíaca y del gasto cardíaco, la disminución de la presión sanguínea y de la resistencia vascular sistémica <sup>43</sup>.

Se ha propuesto al óxido nítrico, vasodilatador liberado por el endotelio vascular como el mediador tanto de la circulación hiperdinámica como del fallo renal <sup>44</sup>.

El síndrome hepatorenal se caracteriza por uremia progresiva (creatinina sérica > 2,5 mg/dl), oliguria (volumen urinario < 500 ml diarios), una orina concentrada con un cociente de osmolaridad orina/plasma superior a 1, concentración urinaria de sodio menor de 10 mEq/l y análisis de orina normales<sup>45</sup>. La orina puede contener pequeñas cantidades de proteínas, hialina y cilindros granulares.

La oliguria puede aparecer espontáneamente pero generalmente es secundaria a diarrea, diuréticos, paracentesis, hemorragia gastrointestinal o sepsis.

Es habitual una ligera disminución de la presión arterial. La hiponatremia, la hiperpotasemia, la encefalopatía hepática y el coma pueden preceder o acompañar al deterioro de la función renal.

El síndrome hepatorenal debe diferenciarse de otros tipos de fracaso renal que pueden producirse en los pacientes con enfermedad hepática como exposición a toxinas como paracetamol, AINE y tetracloruro de carbono, infecciones, necrosis tubular aguda por hipotensión o exposición a aminoglucósidos o contrastes angiográficos y a uropatía obstructiva.

## **1.6. DIAGNÓSTICO**

El diagnóstico de la cirrosis hepática puede establecerse por la historia clínica, la exploración física, las pruebas de laboratorio y la identificación de las manifestaciones histológicas características.

### **1) HISTORIA CLÍNICA**

Son frecuentes la astenia, malestar general y pérdida de fuerza. Pueden aparecer otros síntomas secundarios a complicaciones de la enfermedad hepática evolucionada a cirrosis o de la cirrosis en sí.

### **2) EXPLORACIÓN FÍSICA**

En la mayoría de los pacientes cirróticos, el hígado se encuentra aumentado de tamaño y es palpable por debajo del reborde costal. El lóbulo hepático izquierdo con frecuencia se extiende hacia hipocondrio izquierdo, debajo del apéndice xifoides. Un hígado de consistencia dura, pequeño y retraído es signo de cirrosis avanzada.

Otros hallazgos característicos son el eritema palmar, ginecomastia, arañas vasculares, atrofia testicular, contractura de Dupuytren y manifestaciones de la hipertensión portal como esplenomegalia, ascitis, varices esofágicas y venas superficiales prominentes en la pared abdominal.

### 3) LABORATORIO

Los exámenes bioquímicos que se consideran de utilidad en la cirrosis hepática son la bilirrubina sérica (conjugada y no conjugada), la alanina y aspartato aminotransferasa (AST y ALT), la fosfatasa alcalina, la gamma-glutamilttransferasa (GGT), las proteínas séricas y el proteinograma, concentración de inmunoglobulinas y tiempo de protrombina.

- **Las Transaminasas:** Suelen estar moderadamente elevadas, normalmente menos de 5 veces el límite superior de la normalidad (<200-300 U/l). La aspartato aminotransferasa (AST) se halla más elevada que la alanina aminotransferasa (ALT). La AST se eleva en aproximadamente el 90 % de los casos y la ALT en el 65 % de los casos <sup>46</sup>, por lo que un valor normal, no excluye el diagnóstico.

El hallazgo de un cociente AST/ALT >2 es muy indicativo de hepatopatía alcohólica <sup>46</sup> independientemente de la presencia de cirrosis. En la hepatopatía crónica no alcohólica, el cociente AST/ALT >1, es muy indicativo de evolución a cirrosis hepática más que de hepatitis crónica <sup>47</sup>.

- **Enzimas de colostasis:** La  $\gamma$ -glutamilttransferasa (GGT) se cree que es más sensible que las aminotransferasas o la fosfatasa alcalina (FA) en pacientes con sospecha de hepatopatía crónica y tiene utilidad como marcador de alcoholismo activo cuando está desproporcionadamente elevada en comparación con la AST, ALT y la fosfatasa alcalina sérica <sup>48</sup>.

La relación GGT/FA > 2,5 es altamente sospechosa de abuso alcohólico, en especial en pacientes sin enfermedad histológica avanzada <sup>49</sup>.

La FA suele estar elevada en el 70 % de las cirrosis. Normalmente, sus valores son menores de tres veces el valor normal. Una elevación marcada obliga a descartar cirrosis biliar primaria, colangitis esclerosante primaria o carcinoma hepatocelular. Por sí sola no tiene valor en el diagnóstico de la cirrosis.

- **Concentración sérica de albúmina:** Suele estar reducida en fases avanzadas de la enfermedad. El origen de la hipoalbuminemia es multifactorial (descenso de la síntesis, hemodilución, menor secreción). Cuando la hipoalbuminemia es intensa, contribuye a la formación de ascitis y edemas.

- **Globulinas séricas:** Están incrementadas en la cirrosis debido a un aumento policlonal de inmunoglobulinas. La Ig A está elevada preferentemente en la cirrosis hepática alcohólica, la Ig G aumenta de forma preferente en la hepatitis autoinmune y la cirrosis criptogénica y en menor intensidad en la hepatitis viral, y la Ig M se halla incrementada de manera preferente en la cirrosis biliar primaria.

- **Tiempo de protrombina:** junto con la albúmina, son índices diagnósticos útiles y se usan para estimar la función hepática de manera cuantitativa. Suele estar prolongado en fases avanzadas.

- **Colinesterasa:** se trata de un enzima plasmática que se sintetiza en el hígado y es capaz de hidrolizar distintos ésteres de la colina. Los niveles séricos están bajos en los procesos hepáticos que cursen con una disminución de la función hepatocelular, siguiendo un curso paralelo a la albúmina sérica.

Además de los exámenes bioquímicos convencionales, la investigación etiológica en un paciente cirrótico debe incluir:

- Serología viral (VHA, VHB, VHC y VHD).
- Autoanticuerpos (mitocondriales, nucleares, de músculo liso, microsomales hígado-riñón tipo 1 y 2).



- Hierro sérico, ferritina y saturación de transferrina.
- Cupremia y concentración de ceruloplasmina sérica. Cupruria.
- $\alpha$ 1- antitripsina.
- $\alpha$ - fetoproteína, para el despistaje del carcinoma hepatocelular.

#### 4) TÉCNICAS DE IMAGEN

- **RADIOGRAFÍA SIMPLE DE ABDOMEN:** Cuando existe ascitis puede mostrar aspecto borroso de todo el abdomen con pérdida de las líneas del psoas. Habitualmente se observa centralización y separación de las asas intestinales.

- **ECOGRAFÍA ABDOMEN:** Se utiliza de manera rutinaria en la evaluación de los pacientes cirróticos. Su principal indicación es la detección precoz del carcinoma hepatocelular.

Permite valorar el tamaño, forma y contorno del hígado, detección de ascitis y evaluación de la existencia de hipertensión portal.

En la cirrosis, la forma del hígado normalmente está alterada, con hipertrofia del lóbulo hepático izquierdo y atrofia del lóbulo hepático derecho. La hipertrofia del lóbulo de Spiegel también es común. Una relación de lóbulo caudado/lóbulo derecho superior a 0,65 parecía tener una alta sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de cirrosis hepática, pudiéndose diagnosticar esta con una sensibilidad 84%, una especificidad del 100% y una exactitud del 93,8%<sup>50</sup>. Algunas series globalmente alcanzan una sensibilidad del 70%<sup>51</sup>, e incluso menos del 44%<sup>52</sup>.

La ecogenicidad del parénquima hepático está incrementada y es ligeramente irregular, probablemente relacionado con la grasa y fibrosis, y simplemente indica la presencia de hepatopatía difusa<sup>51</sup>.

Son signos ecográficos de hipertensión portal el aumento del diámetro de la vena porta (un diámetro > 15mm es diagnóstico de hipertensión portal con

una sensibilidad del 50% y especificidad del 100%), presencia de venas colaterales y esplenomegalia.

Con frecuencia la vesícula biliar se encuentra aumentada de tamaño<sup>53</sup> y con paredes gruesas a consecuencia de la ascitis, la dilatación de las venas vesiculares o la hipertensión portal.

- **TOMOGRAFIA COMPUTARIZADA (TC):** No es especialmente útil para el diagnóstico de cirrosis hepática pero permite la detección de pequeñas cantidades de ascitis al mismo tiempo que evalúa la anatomía intraabdominal, proporcionando información importante sobre el tamaño y estado del hígado y el bazo. Puede ser útil para el estudio de lesiones ocupantes de espacio en pacientes cirróticos.

Además, la TAC con administración de contraste intravenoso de determinadas sustancias nos puede ser de utilidad para diagnosticar la presencia de colaterales portosistémicas.

- **RESONANCIA MAGNÉTICA (RM):** Las principales indicaciones de la RMN son la cuantificación y el seguimiento de la sobrecarga de hierro en la hemocromatosis<sup>54</sup> y para el diagnóstico diferencial entre un nódulo benigno y un carcinoma hepatocelular de pequeño tamaño (< 3 cm de diámetro).

La RM tras la inyección de un agente de contraste, como el gadolinio, se usa para detectar la hipervascularización de los nódulos, lo cual es sugiere malignidad<sup>55</sup>.

- **GAMMAGRAFÍA CON TECNECIO COLOIDAL:** El radioisótopo es absorbido por los macrófagos, mostrando el tamaño y forma del hígado, y el tamaño del bazo. La existencia de una disminución en la captación de coloide en el lóbulo derecho con captación en bazo y columna es muy sugerente de una hepatopatía avanzada<sup>56</sup>.

De esto, se deduce la utilidad de esta técnica junto con la clínica, laboratorio y ecografía en el diagnóstico de cirrosis hepática, sobre todo en fases evolucionadas con hipertensión portal.

- **ENDOSCOPIA DIGESTIVA ALTA:** Debe realizarse ante la sospecha fundada de cirrosis hepática para detectar las consecuencias de la hipertensión portal (varices esofágicas y gástricas, gastropatía hipertensiva).

La gradación de las varices es importante, puesto que el riesgo de hemorragia aumenta con el tamaño <sup>57,58</sup> y es superior cuando existen anomalías mucosas <sup>59</sup>.

- **ARTERIOGRAFÍA:** No es normalmente útil en el diagnóstico de la cirrosis hepática. Sus dos indicaciones son el estudio de la anatomía de los vasos hepáticos antes de un procedimiento quirúrgico, especialmente el trasplante hepático y la evaluación de la extensión del carcinoma hepatocelular.

- **LAPAROSCOPIA:** Se utiliza en algunos centros para el diagnóstico de la cirrosis hepática y toma de biopsia hepática dirigida.

No obstante, muchos centros no la consideran necesaria por tratarse del diagnóstico de una patología difusa del hígado, en el que la biopsia a ciegas aporta un buen rendimiento.

- **BIOPSIA HEPÁTICA:** Se acepta que es el único método que permite el diagnóstico seguro de cirrosis hepática en fases compensadas.

Es sencilla, barata, de fácil aceptación por el paciente y segura. La ultrasonografía y la TC se emplean para guiar la aguja de biopsia.

En fases avanzadas de la enfermedad, puede estar contraindicada por el riesgo que conlleva la hemorragia debido a los bajos niveles de protrombina y plaquetas. En estas situaciones, se puede llegar al diagnóstico con los métodos de laboratorio e imagen antes señalados o bien realizando una biopsia hepática por vía transyugular <sup>59</sup>.

En la cirrosis, la biopsia hepática además de confirmar el diagnóstico, puede establecer el tipo y la gravedad, así como el grado de actividad histológica, tipo morfológico y etiología de la cirrosis.

La presencia de grasa es sugestiva de alcoholismo, obesidad y diabetes, aunque también se observa con fármacos.

Los hepatocitos en vidrio esmerilado se observan en la infección crónica por el virus de la hepatitis B.

La lesión de los conductos biliares se observa en la cirrosis biliar primaria, y la fibrosis periductal sugiere colangitis esclerosante primaria.

El cúmulo marcado de hierro sugiere hemocromatosis.

La biopsia es a menudo esencial en el diagnóstico de carcinoma hepatocelular asociado a la cirrosis.

## **1.7 PRONÓSTICO Y ESTADIAJE DE LA CIRROSIS HEPÁTICA.**

El pronóstico de la cirrosis hepática depende de su etiología, su base epidemiológica, sus manifestaciones clínicas, alteraciones analíticas, gravedad de las lesiones histológicas y de las posibilidades de tratamiento.

Pocos estudios sobre el pronóstico aportan toda esta información, y quizás sea apropiado intentar establecerlo por grupos según la etiología.

Las series publicadas sugieren que la supervivencia a los 5 años puede ser tan alta como del 90% en la cirrosis alcohólica en ausencia de ascitis, ictericia, hemorragia digestiva o consumo continuado de alcohol<sup>60</sup>. En el otro extremo, la supervivencia puede ser tan baja, como menos de un año en pacientes con cirrosis alcohólica y encefalopatía<sup>61</sup>. En pacientes cirróticos con ictericia, ascitis y hematemesis se ha observado una supervivencia a los 5 años entre el 7 y el 19 %<sup>62</sup>.

En un estudio italiano, en el que incluían pacientes con cirrosis de diferentes etiologías, incluidas vírica y alcohólica, los pacientes inicialmente compensados, se descompensaban con una tasa anual del 10%. La ascitis resultó ser el síntoma más frecuente de descompensación. La supervivencia a

los 6 años del diagnóstico fue del 54 % en los cirróticos compensados y del 21 % en los descompensados.

Los indicativos de riesgo de muerte fueron la edad avanzada, el sexo masculino, la encefalopatía hepática, la hemorragia digestiva por varices esofágicas, la prolongación del tiempo de protrombina, la positividad del HBs Ag y el carcinoma hepatocelular <sup>63</sup>.

Con el aumento del trasplante hepático, es fundamental utilizar criterios que permitan determinar el pronóstico en un paciente individual de la manera más correcta. Este objetivo ideal aún no se ha alcanzado, pero se han realizado muchas aproximaciones.

Actualmente, se acepta que el pronóstico de la cirrosis hepática depende de una serie de parámetros clínicos y analíticos inicialmente recogidos por *Child y Turcotte* <sup>64</sup>.

Los parámetros utilizados por estos autores fueron la albúmina sérica, la bilirrubina sérica total, la presencia e intensidad de la ascitis, la presencia y gravedad de la encefalopatía hepática y el estado nutricional. Con estos criterios se dividieron los pacientes en tres categorías de gravedad A, B y C, tal como se muestra en la tabla siguiente:

**Clasificación de Child-Turcotte:**

<b>PARÁMETRO</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>
<b>Bilirrubina (mg/dl)</b>	< 2,4	2,4-2,9	>2,9
<b>Albúmina (gr/dl)</b>	>3,5	3,0-3,5	<3,0
<b>Ascitis</b>	Ausente	Fácil control	Mal control
<b>Encefalopatía</b>	No existe	Mínima	Coma
<b>Nutrición</b>	Buena	Moderada	Inadecuada

El principal problema de esta clasificación es que los datos de un determinado paciente pueden ser una mezcla de los de las columnas A, B y C.

Además, los pacientes que cumplen los criterios A y C son muy raros (aproximadamente un 5%), mientras que el 90% restante se clasifican como estadio B.

No obstante, parece ser útil no sólo como predictor de la supervivencia, sino también como un índice fiable de ocurrencia de complicaciones.

Posteriormente, se han propuesto muchas modificaciones de la clasificación original de Child y Turcotte. La más ampliamente utilizada es la de *Child-Pugh RN et al*<sup>389</sup> en la que se omite el estado nutricional e incluyen la actividad de protrombina.

Además, aplican un sistema de puntuación de los diferentes parámetros donde se sumaban 1, 2 o 3 puntos por anormalidad de cada una de las variables según la intensidad de la alteración del parámetro medido.

A continuación se muestra dicha clasificación:

### Clasificación de Child-Pugh

<b>PARÁMETROS</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
<b>Encefalopatía (Clasif. de Trey y cols. NEJM, 1966)</b>	No	Grado I y II	Grado III y IV
<b>Ascitis</b>	No	Ligera	Moderada
<b>Bilirrubina total (mg/dl)</b>	1-2	2-3	>3
<b>Actividad protrombina</b>	≥ 50 %	50-30 %	≤ 30 %
<b>Bilirrubina total (CBP) mg/dl</b>	1-4	4-10	<10
<b>Albúmina (g/dl)</b>	< 3,5	3,5-2,8	< 2,8

Los valores oscilan desde un mínimo de 5 a un máximo de 15:

- Child A: valores 5 y 6.
- Child B: valores de 7 a 9.
- Child C: valores entre 10 y 15.

Las cualidades de simplicidad, disponibilidad, bajo coste y una buena capacidad de predicción respecto a un corto plazo de supervivencia (1 año) hacen esta clasificación muy útil. Su sensibilidad y especificidad para estos criterios llegan aproximadamente al 80 % <sup>65</sup>.

Se han propuesto otras fórmulas más complejas derivadas de computadora, empleando variables y modelos de regresión de Cox de riesgos proporcionales. Así, podemos citar:

- **Índice de Orrego** para la hepatopatía alcohólica <sup>66</sup>.
- **Índice de Gludd**, que asocia la presencia de grandes varices, gradiente de presión hepática elevado y bajo valor de aclaramiento del verde de indiocianina <sup>67</sup>.

No obstante, ninguno de ellos ha demostrado ser superior a la clasificación de Child-Pugh.

## 1.8 CUANTIFICACIÓN DE LA FUNCIÓN HEPÁTICA

La cuantificación de la función hepática puede mejorar nuestros conocimientos sobre la historia natural de las hepatopatías y proporcionar unos índices precisos sobre el pronóstico y efectos de intervenciones terapéuticas.

Las funciones básicas del hígado son el aclaramiento de sustancias biológicas endógenas y exógenas, su metabolismo y excreción, y la síntesis de compuestos biológicamente importantes como los factores de la coagulación y la albúmina. Se han empleado dos métodos para estimar la función hepática:

- Capacidad de síntesis hepática: las más utilizadas por su sencillez, economía y sensibilidad, son la *albúmina*, la *actividad de protrombina* y la *colinesterasa*.

- Valoración de la función de aclaramiento hepático de determinadas sustancias, lo que depende en grado variable de la perfusión hepática, transferencia de solutos desde la sangre a los hepatocitos, del volumen, número y composición enzimática de las células hepáticas. Entre estas pruebas destacan: *desmetilación de aminopiridina*, *aclaración de cafeína*, *aclaración de galactosa* y *aclaración del verde de indocianina*.

Al comparar pruebas de función hepática como la prueba de aminopirina en un grupo de cirrosis alcohólica, ésta no logró mejorar la estimación del pronóstico calculado mediante la clasificación de Child-Turcotte<sup>64</sup>.

Así mismo, la valoración de la cuantificación de la función hepática mediante la capacidad de eliminación de galactosa y aclaramiento del verde de indocianina, tuvo menor valor pronóstico que el ofrecido por la clasificación de Child-Pugh, para la edad, sexo e historia de hemorragia digestiva por varices<sup>68</sup>.



Las pruebas de función hepática más utilizadas son:

<b>TEST</b>	<b>ESTIMACIÓN DE :</b>
- Capacidad de eliminación de la galactosa. - Extracción máxima de verde de indocianina.	Capacidad metabólica.
- Desmetilación de aminopirina. - Aclaramiento de cafeína. - Aclaramiento de antipirina.	Función microsomal.
- Aclaramiento de galactosa. - Aclaramiento de sorbitol. - Aclaramiento de verde de indocianina. - Aclaramiento de bromosulfaleína.	Perfusión hepática funcional.
- Formación de monoetilglicin-xilidido (MEGX) a partir de lidocaína.	Función microsomal y perfusión hepática.

La fibrosis es el resultado del proceso de respuesta biológica ante un daño crónico y una remodelación hepática continua<sup>69</sup>. La consecuencia final de la inflamación y remodelación hepática es la alteración y acumulación de matriz extracelular que condiciona una distorsión de la arquitectura hepática.

Representa la fase terminal de distintas hepatopatías crónicas de diferente etiología, ya que contribuye de forma determinante a la desorganización de la arquitectura hepática y finalmente a la disfunción hepatocelular e hipertensión portal.

En la fibrosis, se modifica tanto la cantidad de la mayor parte de las moléculas de la matriz extracelular, en especial los colágenos fibrilares, como su composición local.

Los cambios fibróticos de la matriz de un hígado lesionado de forma crónica derivan de una pérdida de los mecanismos homeostáticos que controlan su formación y depósito (fibrogénesis), así como su degradación y eliminación (fibrólisis), lo que conduce a un depósito excesivo de tejido conjuntivo (fibrosis).

Al parecer, el principal mecanismo de cúmulo exagerado de matriz extracelular es una producción sobreestimulada en el hígado dañado, que junto a la inhibición de la degradación de la matriz comporta en el cúmulo de ciertas moléculas y contribuye en los cambios producidos en los componentes colágenos y no colágenos.

Las reacciones bioquimiopatológicas producidas que conducen a la fibrosis están ampliamente interrelacionadas entre sí y se consideran son: la lesión de las células parenquimales, la inflamación, la regeneración hepatocelular, la producción de matriz extracelular y la desorganización de la arquitectura lobular.

Mientras que en la fibrosis portal disminuye el riego sanguíneo sinusoidal mediante la derivación de sangre portal a través de colaterales portoportales y portovenosas, en la fibrosis perisinusoidal puede comprometerse gravemente la difusión de nutrientes entre los hepatocitos y la sangre sinusoidal o disminuir la detoxificación de toxinas derivadas del intestino. La fibrosis perisinusoidal es la principal causa de hipertensión portal.

La matriz extracelular hepática está compuesta por macromoléculas que experimentan un remodelado durante el crecimiento y después de lesiones, con el objetivo de restablecer las funciones celulares y la homeostasis de los tejidos.

Los componentes de la matriz extracelular hepática normal incluyen:

- Colágenos.
- Glucoproteínas no colágenas de la matriz: laminina, fibronectina, elastina, undulina, entactina y vitronectina.
- Proteoglucanos y glucosaminoglucanos <sup>70,71</sup>.

### **Colágenos hepáticos**

Se conocen 19 tipos diferentes de colágenos <sup>72</sup>. Los colágenos (hepáticos y de otros órganos) son proteínas de la matriz extracelular constituidas por tres cadenas polipeptídicas similares o idénticas (cadenas  $\alpha$ ), que espacialmente adoptan una morfología de triple hélice, así como un área globular específica menor al final de la molécula (regiones no helicoidales terminales, zonas carboxi y aminoterminal). Cada cadena  $\alpha$  contiene el tripéptido gly-x-y, que se repite. X e Y son normalmente prolina e hidroxiprolina.

Estructuralmente, cada molécula de colágeno se une con otras adyacentes formando una triple hélice de colágeno, en la cual tres cadenas idénticas o similares de polipéptidos están enrolladas en una hélice a la izquierda con pequeños residuos Gly posicionados en el centro de la hélice y los residuos Pro que limitan la rotación de las cadenas individuales de proteínas. Se consigue una estabilización adicional a través enlaces de hidrógeno, mediante hidroxilación de Pro en Hyp en la posición Y.

Los colágenos pueden dividirse en grupos según su estructura y ensamblaje:

- Colágenos formadores de fibrillas: tipos I, II, III, IV, V y XI.
- Colágenos formadores de red: tipos IV, VIII y X.
- Colágeno que se une a microfilamentos: tipo VI.
- Colágeno que forma filamentos de anclado: tipo VII.
- Colágeno transmembrana: tipo XVII.
- Colágenos asociados con fibrillas con triples hélices interrumpidas: tipos IX, XII, XIV, XVI, XVI y XIX.
- Colágenos con función aún desconocida: tipos XIII, XIV y XVIII.

Diez de estos tipos de colágenos se han identificado en el hígado (tipos I, II, IV, V, VI, VIII, XIV y XVIII) siendo los más prevalentes los colágenos tipo I y III <sup>70</sup>.

### **Glucoproteínas no colágenas de la matriz extracelular**

Tanto las funciones como las estructuras de los colágenos y las proteínas no colágenas se superponen con frecuencia.

- *Fibronectina*: Se une a la fibrina y ambas constituyen la matriz extracelular en las primeras fases de la curación de las heridas en el hígado <sup>73</sup>.

- *Tenascinas*: parecen tener papel importante en la curación de heridas o en condiciones de estrés.

- *Trombospondinas y osteonectina (SPARC)*: tienen propiedades adhesivas y antiadhesivas. La trombospondina 1 (TSP-1) se libera de la degranulación de las plaquetas, estabilizando el coágulo hemostático al interaccionar con moléculas como fibronectina, fibrinógeno, laminina, colágenos tipo I y V, heparán sulfato y plasmina y parece inhibir la proliferación endotelial en ciertas fases de la angiogénesis <sup>74</sup>.

- *Elastina*: En el hígado, la elastina se halla en las arterias, alrededor de los conductos biliares y en el estroma del tracto portal, donde aparece como placas amorfas o en forma de red fibrosa <sup>75</sup>.

### **Proteoglucanos**

Están constituidos por una proteína central que se sustituye por un número variable de glucosaminoglicanos, polímeros de hidratos de carbono no ramificados, sulfatados y ácidos que contienen una elevada proporción de glúcidos (ácidos urónicos). Se encargan de regular el ensamblaje matricial, estabilizar la arquitectura de la matriz extracelular y desempeñan un papel importante en la organización espacial de los polímeros estructurales <sup>76</sup>.

La matriz extracelular contiene factores de crecimiento y metaloproteínas que forman parte de los procesos reguladores de la fibrogénesis. A medida que el hígado sufre el proceso de fibrogénesis, se producen importantes cambios en la matriz extracelular, fundamentalmente en los espacios periportal y perisinusoidal, aumentando en ellos los componentes colágenos y no

colágenos en 10 veces. Estos cambios comprometen la función hepática y contribuyen a la activación de las células estrelladas hepáticas y los miofibroblastos<sup>76</sup>.

Cuando las células estrelladas se activan, aumenta su capacidad de producir un amplio espectro de moléculas de la matriz extracelular, con lo que contribuyen a generar la matriz fibrótica tanto cuantitativamente como cualitativamente.

## **1.10 ALTERACIONES HORMONALES Y FACTORES DE CRECIMIENTO EN LA CIRROSIS HEPÁTICA**

Las alteraciones hormonales ocurren, presumiblemente, a consecuencia de la insuficiencia hepática en la conjugación o el metabolismo hormonal, debido a la insuficiencia hepatocelular y a comunicaciones portosistémicas.

El alcohol también puede inducir cambios hormonales, siendo difícil determinar en un cirrótico alcohólico si la causa es debida al alcohol o la cirrosis.

### **HORMONAS SEXUALES**

La triada clásica en el varón de cirrosis, atrofia testicular y ginecomastia es bien conocida.

En general, existe acuerdo sobre los cambios que se producen en las concentraciones de hormonas sexuales en la cirrosis hepática, aunque no debe suponerse que necesariamente sea la causa de los signos de hipogonadismo.

Las concentraciones séricas de *testosterona total* y *dihidrotestosterona* pueden estar normales, ligeramente disminuidas, o incluso aumentadas en los pacientes con cirrosis hepática compensada. No obstante, estas concentraciones van disminuyendo de forma progresiva conforme la enfermedad avanza, y es en este estadio cuando los síntomas de hipogonadismo en varones empiezan a manifestarse. Parece ser que su principal causa es la atrofia testicular<sup>77</sup>.

Los niveles normales o aumentados de testosterona en fases compensadas de la enfermedad, pueden ser secundarios al aumento en la producción hepática de globulina transportadora de hormonas sexuales (SHBG) que como otras glucoproteínas está elevada en la cirrosis hepática <sup>78</sup>.

Dicho aumento no se relaciona con la gravedad de la hepatopatía, estando aumentada desde estadios precoces. Todas estas alteraciones conllevan una marcada disminución de la testosterona libre en los estadios más avanzados de la cirrosis.

Existen también signos de defectos hipotalámicos y en pituitaria. Así, en la cirrosis descompensada los niveles de *LH* (hormona luteinizante) están muy disminuidos y el test de estimulación con LHRH (factor liberador de hormona luteinizante), que es normal en pacientes compensados, está alterado en pacientes con enfermedad descompensada.

Las concentraciones séricas de *estradiol* no han sido suficientemente estudiadas y no se conoce si existen diferencias entre la cirrosis de origen alcohólico y las de origen vírico. En general, se acepta que se encuentran en el límite superior de los valores de referencia y que pueden aumentar conforme progresa la enfermedad. La causa no se conoce con certeza, pero parece influir un aumento en la conversión periférica de estrógenos a partir de testosterona y androstendiona.

Tampoco se conoce aún con seguridad, cuál de los dos factores implicados en el hipogonadismo de la cirrosis, el alcohol o la hepatopatía es más importante en las alteraciones hormonales sexuales de estos pacientes.

Se cree que la feminización e hipogonadismo en pacientes con cirrosis resulta del descenso del índice de testosterona libre y de un incremento relativo del nivel circulante de estrógenos. El grado de anormalidad es muy importante en cirrosis avanzadas como lo demuestra un trabajo en el cuál los niveles de testosterona libre eran inferiores y la ratio de estrógenos/índice de testosterona libre más alto en cirróticos que en el grupo control <sup>79</sup>. El descenso de los

niveles de testosterona resulta por una parte de la disminución de su síntesis a nivel testicular y por otra parte de la conversión periférica de andrógenos a estrógenos <sup>80</sup>.

### **HORMONA DEL CRECIMIENTO (GH) Y FACTOR DE CRECIMIENTO INSULINOIDE (IGF-I) EN LA CIRROSIS HEPÁTICA.**

El efecto de la hormona del crecimiento sobre la síntesis de proteínas hepáticas se ha demostrado mediante hipofisectomía, resultando una disminución en la síntesis de proteínas y albúmina, una reducción significativa del mRNA de albúmina y un aumento de la actividad RNA-asa hepática.

Estos efectos se pueden revertir con la administración de GH y al menos, en parte, están mediados por somatomedinas.

La dinámica de secreción normal de la GH en adultos se caracteriza por pulsos, con retorno a niveles basales o indetectables en el periodo entre pulsos <sup>81</sup>. Normalmente, se observan de 6 a 8 pulsos, produciéndose el mayor número de ellos durante el sueño <sup>82</sup>. Uno de los principales órganos diana de la GH es el hígado <sup>83</sup>, donde estimula la producción hepática de IGF-I, siendo el hígado la mayor fuente de producción de IGF-I circulante <sup>84</sup>.

En pacientes con cirrosis hepática, el eje GH-IGF-I está significativamente alterado. Los estudios muestran que existe una concentración de GH elevada respecto a controles <sup>85,86</sup>, así como una disminución de los valores séricos de IGF-I <sup>87</sup> en sujetos con cirrosis hepática.

En este sentido, múltiples estudios posteriores corroboran este hecho, considerando el aumento de la GH como una respuesta a la menor producción de IGF-I por parte del hígado, con la consiguiente pérdida del feedback negativo que la IGF-I realiza en condiciones normales.

Concluyen, además, que estos cambios están presentes durante las 24 horas del día en relación con una pérdida del ritmo circadiano tanto de la GH como de la IGF-I <sup>88,89</sup>. Estas alteraciones se hacen más evidentes con el empeoramiento de la función hepática.

Algunos de estos autores corroboran, además, una disminución de la proteína transportadora tipo 3 de la IGF-I (IGFBP-3), y un aumento de las IGFBP-I y II <sup>90,91</sup>.

Por el contrario, autores como Assaad SN y cols, 1990 <sup>92</sup>, consideran al shunt portocava secundario a la hipertensión portal causante de los bajos niveles circulantes de IGF-I y no a la insuficiencia hepatocelular.

Estos autores comparan niveles basales de GH e IGF-I y tras estimulación con TRH (factor liberador de hormona tirotrópica- TSH-) y sobrecarga oral de glucosa, en un grupo de pacientes con hipertensión portal presinusoidal (esquistosomiasis) cuya función hepática es normal, con otro grupo de pacientes con cirrosis alcohólica con datos clínicos de hipertensión portal.

En ambos grupos, los niveles basales de GH estaban significativamente aumentados y los de IGF-I descendidos, con respuesta anómala a los test de TRH y sobrecarga de glucosa. Por todo esto, para estos últimos autores, el shunt portocava modificaría los neurotransmisores involucrados en el eje GHRH-GH-IGF-I (a nivel hipotalámico) con su consecuente disfunción y por tanto, la presencia de valores séricos alterados de IGF-I.

## **2. OSTEOPOROSIS**

La osteoporosis es un “trastorno esquelético sistémico caracterizado por una masa ósea reducida y un deterioro de la microarquitectura del tejido óseo, con el aumento consiguiente de la fragilidad ósea y la susceptibilidad a fracturas” <sup>93,94</sup>, lo que viene a significar que no es únicamente un problema de disminución de cantidad sino también de alteración de la calidad del hueso, lo cual distingue a la osteoporosis de otras enfermedades óseas <sup>95</sup>.

La alteración de la microarquitectura se caracteriza por la pérdida, adelgazamiento y falta de conexión entre trabéculas óseas, junto con una serie



de factores, como alteraciones en el remodelado óseo, la propia geometría del hueso, etc. Todo ello produce un deterioro de la integridad estructural del hueso y favorece la fragilidad esquelética, lo cual conlleva a un incremento del riesgo de fracturas.

La osteoporosis tiene pocos signos físicos y por consiguiente, el diagnóstico es difícil de establecer clínicamente hasta que el paciente ha sufrido una fractura por fragilidad. La osteoporosis es pues clínicamente silente hasta que produce la fractura y sus complicaciones <sup>96</sup>.

Se consideran como fracturas típicamente osteoporóticas las de la extremidad proximal del fémur, vértebras y muñeca <sup>97</sup>, aunque la mayor parte de los huesos son susceptibles a fracturarse.

La prevalencia de la osteoporosis aumenta con la edad, lo cual refleja el hecho de que la masa ósea disminuye a medida que aumenta la edad. La pérdida de masa ósea relacionada con la edad se produce en ambos sexos, pero las mujeres sufren una fase acelerada de pérdida ósea tras la menopausia debido al déficit de estrógenos, que aumenta el recambio óseo y al mismo tiempo causa un desacoplamiento de la resorción y formación de hueso. Al llegar a la edad de 60 años, aproximadamente un 15% de las mujeres presentan osteoporosis, y esta cifra aumenta al 38% al llegar a la edad de 80 años <sup>98</sup>.

Los cambios en la microarquitectura del hueso pueden ser evaluados indirectamente desde el punto de vista cuantitativo, mediante medidas no invasivas de densidad mineral ósea (DMO).

La DMO explica entre el 75% y el 85% de la variación de la resistencia final del tejido óseo y se correlaciona estrechamente con la capacidad de carga del esqueleto. Así, en la práctica, la enfermedad se define por determinados valores de DMO y no por la presencia de fracturas, que en realidad constituyen una complicación clínica. Existe una fuerte asociación entre DMO y riesgo de fractura, aunque otros factores, independientes de la masa ósea, tienen gran

importancia. No obstante, los valores de DMO no son el único determinante de riesgo de fractura.

En la cantidad, intervienen distintas características macroscópicas del hueso, tales como el tamaño del hueso, y otras microscópicas, como la actividad del remodelado, la mineralización secundaria, el estado de los enlaces de colágeno, la porosidad cortical, la pérdida de conectividad trabecular y la acumulación de microlesiones que se producen con la edad<sup>99</sup>.

Durante la década de los 90 ha predominado el concepto cuantitativo, reforzado por la propuesta realizada en 1994 por un grupo de expertos de la Organización Mundial de la salud (OMS) para establecer una clasificación de gran valor práctico, comparando la masa ósea medida por densitometría de una persona determinada con la medida del “pico de masa ósea” que se alcanza al final de la juventud (T-score).

Con este sistema se establecen cuatro categorías diagnósticas (Clasificación de la Osteoporosis de la OMS)<sup>100</sup>.

- 1. Normal:** densidad mineral hasta una desviación estándar (DE) por debajo del pico de masa ósea ( $T > -1$ ).
- 2. Osteopenia:** densidad mineral ósea entre -1 y -2,5 DE del pico de masa ósea en personas jóvenes de 26-36 años ( $T > -1$  y  $< -2,5$ ).
- 3. Osteoporosis:** densidad mineral ósea  $< 2,5$  DE por debajo del pico de masa ósea en personas jóvenes de 26-36 años ( $T < -2,5$ ).
- 4. Osteoporosis severa (establecida):** cuando, además de osteoporosis, se añade la existencia de una o más fracturas.

Esta propuesta define los conceptos de osteopenia y osteoporosis sin fractura, permitiendo detectar a las personas en riesgo, lo cual posibilita la prevención y el tratamiento precoz.

## 2.1 COMPOSICIÓN Y ESTRUCTURA DEL HUESO.

El esqueleto ofrece un almacén rígido a organismo, actúa como punto de fijación de los músculos, protege los órganos vitales y alberga la médula ósea.

Contiene el 99% del calcio y fósforo corporal total, por lo que supone un gran reservorio de estos iones y desempeña un papel importante en la conservación de la homeostasis del calcio y del fósforo.

En el adulto existe un recambio óseo continuo, que lo capacita para reparar cualquier daño microscópico que ocurra y ajustar su fuerza de acuerdo con las tensiones mecánicas a las que está sujeto.

El tejido óseo tiene 3 componentes fundamentales: un *componente mineral*, que supone el 65 %, la *matriz orgánica*, que constituye el 33 % del hueso, y un *componente celular*, que ocupa el 2 % restante.

- **Matriz colágena extracelular:** compuesta principalmente de colágeno tipo I, proteoglicanos y proteínas no colagenosas, incluidas la osteocalcina (proteína GLA ósea), la proteína GLA de la matriz, la osteonectina y proteínas de unión celular como la fibronectina, la osteopontina, la trombospondina, y las sialoproteínas óseas.

La matriz ósea contiene también factores de crecimiento que desempeñan un importante papel regulador en el modelado y remodelado óseos; entre ellos se encuentran los factores transformadores del crecimiento  $\beta$ I,  $\beta$ II y  $\beta$ III (TGF), los factores de crecimiento derivados de las plaquetas (PDGF), los factores insulinoformes del crecimiento (IGF), el factor de crecimiento endotelial y las proteínas morfogenéticas óseas (BMP).

El colágeno tipo I procede de su precursor el procolágeno I, que está constituido por fibrillas. Cada fibrilla contiene dos cadenas  $\alpha$  idénticas denominadas  $\alpha_1$  y otra diferente denominada  $\alpha_2$ . Estas cadenas aportan a la molécula de procolágeno una estructura helicoidal.

Cada molécula de procolágeno posee una región no helicoidal terminal denominada región carboxiterminal del procolágeno I (ITCP), y otra denominada región aminoterminal (NTX) de estructura helicoidal.

A nivel de la región carboxiterminal de una molécula de colágeno, con la aminoterminal de otra molécula diferente se produce un autoensamblaje por medio de los denominados puentes de piridinolina (Pyr) y deoxipiridinolina (D-Pyr). Estas moléculas son estructuras en forma de anillo hexagonal compuestas por tres aminoácidos de lisina e hidroxilisina que dan lugar a un enlace covalente muy estable, aportando gran resistencia a la distensión.

Estos puentes intermoleculares, además, son característicos del colágeno tipo I del hueso. La deoxipiridinolina, sólo se encuentra en el hueso y la dentina<sup>101</sup>.

La porción no colagenosa de la matriz orgánica está constituida en su mayor parte por osteocalcina, que es sintetizada por los osteoblastos. Otras proteínas son la osteonectina, la osteopontina y la albúmina.

- **Componente mineral:** está formado por calcio, fosfatos y otros iones, especialmente en las capas superficiales.

Al principio, el mineral óseo se deposita en la matriz como fosfato cálcico amorfo, íntimamente unida a las fibrillas de colágeno y luego principalmente en forma de hidroxapatita cálcica. Se localiza en los orificios que dejan entre sí las fibrillas de colágena.

Esta disposición arquitectónica del mineral y la matriz origina un material muy adecuado para resistir las fuerzas mecánicas.

- **Componente celular:** Las tres células principales del hueso son los *osteoblastos*, los *osteoclastos* y los *osteocitos*. Sin embargo, otros tipos celulares del microambiente óseo desempeñan también un papel vital en la producción de las células osteógenas y en la regulación del remodelado óseo.

Los **osteoblastos** provienen de las células madre pluripotenciales del estroma, derivadas de la médula ósea<sup>102</sup>. Son responsables de la formación y

mineralización posterior de la matriz ósea, y sintetizan factores de crecimiento que se secretan al interior de la matriz ósea.

Los osteoblastos desempeñan también un papel importante en la diferenciación y la actividad de los osteoclastos <sup>103</sup>. Cuando intervienen activamente en la formación ósea, los osteoblastos tienen el aspecto de células cuboideas grandes en íntima yuxtaposición sobre el osteoide recién formado; no se ha definido con claridad el destino posterior, aunque algunos quedan enterrados en el hueso mineralizado convirtiéndose en osteocitos, mientras que otros se convierten en células de recubrimiento, células delgadas y aplanadas que cubren las superficies óseas inactivas.

Los **osteoclastos** son células grandes multinucleadas derivadas de precursores hematopoyéticos de la estirpe de los monolitos macrófagos, y son responsables de la resorción del hueso <sup>104</sup>. Se forman por la fusión de células mononucleares y se caracterizan por la presencia de un borde festoneado.

Los **osteocitos** son células aplanadas pequeñas situadas en el interior de la matriz ósea, comunicadas entre sí y con las células de recubrimiento en la superficie ósea mediante una red canalicular que contiene el líquido extracelular óseo.

Se cree que los osteocitos desempeñan un papel importante en la respuesta osteógena a los estímulos mecánicos, “captando” las tensiones físicas e iniciando una respuesta adecuada de modelado o remodelado mediante la producción de una cascada de mensajeros químicos, entre los que se encuentran la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, el óxido nítrico, las prostaglandinas y los factores insulinoformes de crecimiento <sup>105,106</sup>.

Se distinguen 2 tipos de hueso: el **cortical o compacto** y el **trabecular o esponjoso**.

El hueso cortical, que constituye aproximadamente el 90 % del esqueleto, se encuentra principalmente en las diáfisis de los huesos largos y en las superficies de los huesos planos. Está formado por hueso compacto

depositado de forma concéntrica alrededor de canales centrales (conductos de Havers) que contienen sangre y vasos linfáticos, nervios y tejido conjuntivo.

El hueso trabecular se encuentra principalmente en los extremos de los huesos largos y en las partes internas de los huesos planos, y consta de placas y barras interconectadas en las que se encuentra la médula hematopoyética o grasa.

En el esqueleto humano adulto, las fibras de colágeno adoptan una orientación preferencial, lo que origina la formación de láminas óseas.

En el hueso esponjoso, las láminas se disponen en paralelo, mientras que en el hueso cortical tienen una disposición concéntrica.

El hueso trenzado, que se forma en el esqueleto en crecimiento y en ciertas enfermedades, se caracteriza por la orientación aleatoria de las fibras de colágeno y por la falta de uniformidad del tamaño y la distribución de los osteocitos.

## **2.2 CITOQUINAS: ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DEL FACTOR DE NECROSIS TUMORAL (TNF)**

Las citoquinas son proteínas que regulan la función de las células que las producen u otros tipos celulares. Son los agentes responsables de la comunicación intercelular, inducen la activación de receptores específicos de membrana, funciones de proliferación y diferenciación celular, quimiotaxis, crecimiento y modulación de la secreción de inmunoglobulinas.

Son producidas, fundamentalmente, por los linfocitos y los macrófagos activados, aunque también pueden ser producidas por los leucocitos polinucleares, células endoteliales, epiteliales y del tejido conjuntivo. Según la célula que las produzca se denominan linfocinas (linfocito), monocinas (monocitos) o interleucinas (células hematopoyéticas).

Su acción fundamental es la regulación del mecanismo de la inflamación. Hay citoquinas *proinflamatorias* y otras *antiinflamatorias*.

Cada citoquina se une a un receptor de superficie celular específico generando cascadas de señalización celular que alteran la función celular. Esto incluye la señalización positiva o negativa de diversos genes y sus factores de transcripción que resultan en la producción de citoquinas, o un aumento en el número de receptores de superficie para otras moléculas, o la supresión de su propio efecto mediante retroalimentación.

Las citoquinas se pueden agrupar en 4 grupos funcionales en función del lugar o fase específica de la respuesta inmune en la que actúen:

- Citoquinas proinflamatorias: actúan en la respuesta inmune innata, específica o inflamación. Son la IL-1, IL-6, IL-8, TNF  $\alpha$ , IL-12, IL-16, INF.
- Citoquinas que favorecen el desarrollo de inmunidad celular y/o citotóxica: INF $\gamma$ , IL-2.
- Citoquinas que favorecen la producción de las diversas clases de inmunoglobulinas o inmunidad humoral: IL-4, IL-5, IL-6, IL-13.
- Citoquinas con funciones extrainmunológicas y/o homeostáticas como hemopoyesis, remodelación ósea, desarrollo embrionario: IL-3, GM-CSF, IL-2, IL-5, IL-1, IL-6, M-CSF...

## **INMUNOREGULACIÓN POR CITOQUINAS EN LA INFLAMACIÓN** <sup>107,111,119</sup>

En la inflamación los macrófagos son estimulados para producir múltiples moléculas como el óxido nitroso, chemoquinas, leucotrienos, prostaglandinas, factor activador de las plaquetas, complemento y especialmente monoquinas.

Todas esas moléculas forman la respuesta inflamatoria, caracterizada por aumento de la permeabilidad vascular y reclutamiento de las células inflamatorias.

Además de los efectos locales, las monoquinas tienen efectos sistémicos (metabólicos, endocrinos, inmunes) que contribuyen a las defensas del huésped tales como la inducción de fiebre y proteínas de respuesta aguda inflamatoria (ej: proteína C reactiva).

La respuesta inflamatoria es beneficiosa cuando las monoquinas se producen en cantidad adecuada, pero deletérea y fatal y se producen en exceso. Las citoquinas más tóxicas son la IL-1 y el TNF, las cuales son las principales mediadoras de la respuesta aguda inflamatoria generalizada características del choque séptico y el fallo multiorgánico. Estas moléculas inflamatorias son reguladas por múltiples inhibidores y antagonistas.

### **FACTOR DE NECROSIS TUMORAL (TNF)**

Al factor de necrosis tumoral (TNF) se le ha involucrado en la respuesta a una gran cantidad de estímulos, condicionando generalmente un proceso inmune tipo inflamatorio. Una amplia variedad de estirpes celulares producen la citoquina, siendo las células mononucleares la principal fuente, tal es el caso de los macrófagos activados que contribuyen en una buena parte de la producción de la citoquina en forma soluble.

Se sabe que el TNF está involucrado en un sinnúmero de actividades biológicas tanto celulares como orgánicas que van desde la fiebre y el daño tisular, hasta su implicación en la posible regulación genética de la inducción de otras citoquinas y moléculas inmunorreguladoras.

Inicialmente fue descubierta en suero de ratones, y más tarde fue encontrada en ratas, conejos y en el hombre. Posteriormente fueron identificadas dos formas moleculares denominadas TNF- $\alpha$  o caquexina y el TNF- $\beta$  o linfotoxina. Ambas formas tienen funciones similares. El TNF- $\alpha$  es producido sobre todo por los macrófagos y ejerce sus efectos sobre las células tumorales e inflamatorias. El TNF- $\beta$  es excretado por algunas células T en particular por las células T citotóxicas y las células colaboradoras (Helpers) y también ataca células tumorales en las que induce efectos citotóxicos.

Se conocen dos receptores para el TNF denominados **TNR-R1 o CD120a (sTNFR55)** y **TNF-R2 o CD129b (sTNFR75)** de 55 y 75Kdaltons respectivamente <sup>114-117</sup>.



El receptor R1 se une preferentemente al TNF soluble y posee un dominio de muerte que regula la apoptosis. Por el contrario, el TNF-R2 tiene una mayor afinidad hacia el TNF-mem (de membrana), careciendo de dominio de muerte. Sin embargo, el TNF-R2 también puede iniciar la muerte celular estimulando el TNF-R1. Los dos receptores pueden activar las vías de transducción de señales del factor nuclear kappa o de las quinasas activadas por proteínas mitógenas. Estas opciones de múltiples señales permiten al TNF promover una gran variedad de respuestas celulares, como la apoptosis en la proliferación celular o la movilización de los leucocitos.

Los receptores para el TNF se encuentran en las células mononucleares, la membrana sinovial, la sangre periférica y el líquido sinovial <sup>108</sup>. También existen receptores libres en solución que han sido excretados por los mononucleares.

En algunas enfermedades como la artritis reumatoide <sup>112</sup>, el lupus eritematoso sistémico <sup>113</sup>, la esclerosis múltiple y en algunas formas de osteoartritis los receptores al TNF solubles son más abundantes de lo normal. Este mayor número de receptores “captura” un cierto número de moléculas de TNF, quedando menos de estas para activar las células mononucleares. En cierto modo, los receptores solubles al TNF actúan como inhibidores naturales. Existe una relación entre los niveles de receptores solubles y la intensidad de la enfermedad <sup>118</sup>.

Estos hallazgos han llevado a los científicos de la industria farmacéutica a desarrollar fármacos que antagonizan o inhiben el TNF- $\alpha$ , tales como el infliximab o adalimumab, dos anticuerpos monoclonales dirigidos contra el TNF- $\alpha$  o el etanercept, una proteína de fusión que actúa como ligando del TNF- $\alpha$ . Todos estos fármacos han mostrado su utilidad en el tratamiento de la artritis reumatoide, la enfermedad de Crohn, la psoriasis en placas y otras enfermedades caracterizadas por una mayor expresión del TNF <sup>120-122</sup>.

## 2.3 REMODELADO ÓSEO<sup>93,94,123-130</sup>

El término de remodelación ósea se refiere al incesante fenómeno de renovación a que está sometido el hueso. También, se denomina con el término anglosajón turnover óseo. Este proceso, se lleva a cabo de forma simultánea en múltiples unidades microscópicas dispersas por todo el esqueleto.

El remodelado óseo se produce tanto en el hueso cortical como en el esponjoso, y es un proceso mediante el cual se elimina el hueso envejecido o lesionado y se sustituye por hueso nuevo adaptado a las necesidades de la homeostasis mineral<sup>126</sup>.

Se produce en puntos separados de la superficie ósea, denominados *unidades remodeladoras de hueso*, integradas por los osteoclastos, los osteoblastos y otras células accesorias aún no bien conocidas, y consiste en la eliminación de una porción de hueso mineralizado por los osteoclastos, seguida de la síntesis y la mineralización de osteoide por los osteoblastos en la cavidad así creada.

La activación de las unidades de remodelación se inicia con la activación de un grupo de osteoclastos en un lugar determinado del esqueleto, que da paso a la resorción ósea.

A continuación, en el mismo lugar, se activan los osteoblastos, reponiendo el hueso destruido por los osteoclastos.

El hueso recién formado, que representa la etapa final del proceso de remodelado, se conoce como *unidad estructural ósea*.

El tiempo que tarda en completarse una unidad estructural ósea en el esqueleto humano adulto es de aproximadamente 3-6 meses, y en su mayor parte está destinado a la fase formativa<sup>127</sup> (la resorción ósea se desarrolla aproximadamente durante unas tres semanas y la formación durante 3-4 meses).

Las unidades de remodelación renuevan al cabo del año un 3-4% del hueso cortical y un 25-30% del hueso trabecular. Se calcula que en un

momento determinado están activos entre 1,5 y 2 millones de unidades, no sólo en distintos lugares sino en diferentes momentos funcionales.

Las unidades de remodelación tienen una configuración espacial distinta en el hueso cortical que en el trabecular. En el cortical, los osteoclastos desarrollan su acción resortiva, desplazándose longitudinalmente en la profundidad del tejido óseo, por lo que el resultado de su actuación es una cavidad tuneliforme. En cambio, en el hueso trabecular, los osteoclastos actúan en la superficie de la trabécula, dando lugar a una cavidad lacunar.

La actuación de las unidades de remodelación comienza con el reclutamiento de los precursores de los osteoclastos, que proliferan, se diferencian y fusionan, para formar grandes células multinucleadas que constituyen los osteoclastos maduros.

Para que los osteoclastos desarrollen su función, las células que recubren el hueso (osteoblastos de recubrimiento o de reposo) deben retraerse y dejar huecos entre ellas. A este proceso se le denomina *activación*, por el cual la superficie ósea se prepara para la resorción.

La fijación de los osteoclastos al hueso mineralizado forma parte esencial del proceso de resorción, y está mediada por integrinas, moléculas de adherencia presentes en las membranas citoplasmáticas que se fijan a las moléculas de la matriz ósea mediante secuencias RGD (Arg-Gli-Asp) específicas<sup>125</sup>. Estas proteínas de unión son la osteopontina, la fibronectina y el colágeno tipo I.

## **BALANCE ÓSEO NEGATIVO**

El mantenimiento de la masa ósea exige que la cantidad de hueso formada por los osteoblastos sea igual a la destruida por los osteoclastos.

Cuando en cada unidad de remodelación se forma menos hueso del que se destruye (“balance óseo negativo”), la masa ósea disminuye.

En condiciones normales, la masa ósea se mantiene hasta los 35-40 años, momento a partir del cual se instaura un balance negativo, estimado en un 3% por unidad de remodelación. Este balance negativo es el factor determinante de la pérdida de masa ósea que se produce con la edad.

## **AUMENTO DEL RECAMBIO ÓSEO**

La pérdida de masa ósea producida por el balance negativo (“basal”), se intensifica a lo largo de la vida por la intervención de diversos fenómenos. Uno de ellos es el aumento del número de unidades de remodelación.

Puesto que, cuando existe un balance negativo, la puesta en marcha de cada unidad de remodelación supone una cierta pérdida de masa ósea, el aumento del número de dichas unidades dará lugar a un incremento de la cantidad total de hueso perdido, situación que se denomina de “alto recambio” o “alto turnover”, ya que el aumento del número de unidades de remodelación supone una mayor velocidad de renovación del hueso.

A lo largo de la vida las situaciones de alto recambio pueden sistematizarse en tres tipos:

1) *Vinculado al envejecimiento*: a lo largo de la vida, y sobre todo al comienzo de la senectud, se produce un aumento del recambio óseo;

2) *Relacionado con la menopausia*: la disminución de los estrógenos da lugar a una intensificación en el recambio óseo;

3) *Incremento del recambio ocasional*, dándose en ciertas circunstancias concretas como es el caso del hipertiroidismo, del hiperparatiroidismo, o incluso de la simple inmovilización.

## **ESPACIO ÓSEO EN REMODELACIÓN**

El aumento en el número de unidades de remodelación no sólo influye sobre la masa ósea multiplicando las pérdidas que supone el balance negativo

de cada unidad, sino que lo hace también incrementando el denominado “*espacio óseo en remodelación*”.

Cada vez que se pone en marcha una unidad de remodelación, y se activan los osteoclastos, se labra una cavidad que sólo deja de existir cuando los osteoblastos finalizan su acción reparadora.

El total de la masa ósea ausente por haber sido destruida por el conjunto de osteoclastos de las distintas unidades de remodelación, sin haber sido repuesta todavía por los osteoblastos (la masa ósea ausente por estarse renovando) constituye lo que se denomina “*espacio óseo de remodelación*”.

Como el espacio de remodelación es un espacio carente de hueso, su aumento supone una disminución de la masa ósea. Al contrario, su disminución determina un aumento de ésta.

En definitiva, cuando aumenta el recambio se produce, a través del espacio de remodelación, una pérdida de masa ósea, que se recupera (es reversible) cuando el recambio se normaliza.

A diferencia de ello, la pérdida de masa ósea que induce el incremento del recambio por multiplicar las pérdidas que se establecen individualmente en cada unidad de remodelación, es de carácter irreversible.

## **2.4 CONTROL DEL REMODELADO ÓSEO** <sup>143-146</sup>

El control del remodelado óseo es complejo y producto de la interacción de tensiones mecánicas, hormonas sistémicas y citoquinas, prostaglandinas y factores de crecimiento de producción local.

Estos últimos son producidos por células óseas o del microambiente óseo, actúan de forma autocrina o paracrina y es probable que medien, al menos parcialmente, en los efectos mecánicos y de las hormonas sistémicas.

Los factores locales liberados de la matriz ósea durante la fase resorptiva pueden ser responsables de la atracción quimiotáctica de los precursores de los osteoblastos al lugar del remodelado, mientras que se cree que los factores

de crecimiento liberados por los osteoblastos vecinos estimulan la proliferación y la diferenciación de estas células.

En condiciones normales, la secuencia temporal se inicia con la resorción, seguida de formación (acoplamiento), y las cantidades de hueso reabsorbido y formado en las unidades de remodelado individuales son cuantitativamente similares (equilibrio).

En el plano celular son dos los mecanismos básicos de la pérdida ósea, la “activación” de los osteoclastos y el “acoplamiento” de los osteoblastos a los osteoclastos. En condiciones normales, el ciclo vital de las células de remodelación finaliza por apoptosis, que también está sometida a regulación.

La remodelación ósea tiene unos objetivos locales (renovación del hueso deteriorado, adaptación a las necesidades mecánicas) y otros generales (metabólicos). Por lo tanto, en su regulación intervienen mecanismos locales y generales.

Los locales son fundamentalmente de dos tipos: mecánicos y humorales (citoquinas y factores de crecimiento). Los generales también son de dos tipos: humorales (hormonas) y neurológicos. Los cuatro tipos actúan de forma conjunta y el efecto de todos ellos confluye en una “vía final común”, que actuaría sobre las células efectoras (osteoclastos y osteoblastos), poniendo en marcha mecanismos de señalización intracelular (Tabla IV).

Tabla I: Mecanismos de regularización de la remodelación ósea.

<p><b>FACTORES LOCALES</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>■ Mecánicos</li><li>■ Factores humorales locales<ul style="list-style-type: none"><li>- Factores favorecedores de la disminución de masa ósea: IL-1, IL-6, TNF, m-CSF, PG...</li><li>- Factores favorecedores del aumento de masa ósea: TGF<math>\beta</math>, INF<math>\gamma</math>, IGF...</li></ul></li></ul>
<p><b>FACTORES GENERALES</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>■ Humorales (hormonas)<ul style="list-style-type: none"><li>• Hormonas calciotropas: PTH, 1,25 OH D, calcitonina.</li><li>• Otras: hormonas sexuales (estrógenos, andrógenos), GH, hormona tiroidea, corticoides leptina.</li></ul></li><li>■ Sistema nervioso (central y simpático)</li></ul>
<p><b>VÍA FINAL COMÚN</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>■ Sistema RANKL/OPG</li></ul>
<p><b>RECEPTORES, VÍAS DE SEÑALIZACIÓN Y FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>■ Osteoclastos: RANK, TRAFs, ITAM...</li><li>■ Osteoblastos: Cbfa-17Runx2, Osx...</li></ul>

● **FACTORES LOCALES**

■ Los **factores mecánicos** intervienen en la regulación de la masa ósea en función de la sobrecarga mecánica detectada. Parece que el osteocito es el principal candidato a actuar como sensor del sistema y en respuesta a estímulos, enviará órdenes a los osteoblastos de revestimiento, que se retraerán para dejar libre la superficie ósea y atraerán a los precursores de los osteoclastos <sup>131</sup>.

Son importantes determinantes del tamaño, la forma y la microarquitectura de los huesos durante el crecimiento esquelético, y desempeñan después un papel importante en el mantenimiento de la masa ósea.

**- Citoquinas y factores de crecimiento:**

Se ha demostrado que un gran número de citoquinas y factores de crecimiento afectan a las células óseas y constituyen un entramado funcional en el que unos determinan o modifican la acción de otros. Muchas de estas sustancias tienen varias acciones tanto sobre los osteoblastos como sobre los osteoclastos y actúan de forma interdependiente con otros factores <sup>133</sup>.

Las citoquinas son compuestos polipeptídicos que intervienen en la regulación local de los fenómenos de remodelado óseo. La mayoría de ellas promoviendo la resorción ósea.

De todas ellas, cabe destacar la interleukina 1 $\alpha$ , 1 $\beta$  (IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ), el factor de necrosis tumoral  $\alpha$  y  $\beta$  (TNF- $\alpha$  y  $\beta$ ), IL-6 e IL-8.

En el desarrollo de los osteoclastos se han implicado citoquinas y factores estimuladores de colonias (IL-1, IL-6, TNF, GM-CSF, M-CSF), PGE<sub>2</sub> y los leucotrienos. El INF $\gamma$  inhibe la osteoclastogénesis <sup>134</sup>.

Entre los factores estimuladores de los osteoblastos se encuentran el TGF $\beta$ , proteínas morfogenéticas del hueso (BMP), FGF, PDGF y los factores de crecimiento insulinoideos similares a la insulina (IGF I y II).



**Tabla II: Citoquinas y factores de crecimiento que afectan al hueso.**

ESTIMULADORES DE LA RESORCIÓN ÓSEA	INHIBIDORES DE LA RESORCIÓN ÓSEA	ESTIMULADORES DE LA FORMACIÓN ÓSEA
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Interleukinas (IL) 1, 6, 8,11.</li> <li>- Factor de necrosis tumoral (TNF).</li> <li>- Factor de crecimiento epidérmico (EGF).</li> <li>- Factor de crecimiento plaquetario (PDGF).</li> <li>- Factor de crecimiento fibroblástico (FGF).</li> <li>Factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF).</li> <li>- Factor estimulante de colonias de granulocitos/macrófagos (GM-CSF).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Interferon <math>\gamma</math> (IFN-<math>\gamma</math>)</li> <li>- Interleucina -4(IL-4)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Factores de crecimiento insulinoideos (IGF).</li> <li>- Factor de crecimiento transformante <math>\beta</math> (TGF-<math>\beta</math>).</li> <li>- Factor de crecimiento fibroblástico (FGF).</li> <li>- Factor de crecimiento plaquetario (PDGF).</li> <li>- Proteínas morfogenéticas óseas (BMP).</li> </ul>

La IL-1 y los TNF-  $\alpha$  y  $\beta$  son potentes estimuladores de la resorción ósea, y parece intervienen en la osteólisis asociada al mieloma en la osteoporosis yuxtaarticular asociada a la artritis reumatoide y en la osteoporosis postmenopausica <sup>133</sup>.

Tomando como referencia la osteoporosis postmenopausica, parece ser que la privación hormonal incrementaría la producción de IL-1 y TNF por las células mononucleares, tanto en sangre periférica como por las existentes en el estroma medular adyacente al hueso <sup>139</sup>.

El incremento de IL-1 activaría la producción de IL-6 que, a su vez, favorece la producción de colagenasas por parte del osteoclasto <sup>128</sup>.

Los *factores de crecimiento insulinoide tipos I y II*, son los que mayor interés han suscitado en los últimos años en relación con el metabolismo óseo. Ello es debido a la frecuencia con que se observa osteoporosis en los adultos

con déficit de hormona del crecimiento (GH), a pesar del tratamiento hormonal sustitutivo <sup>140,141</sup>.

El IGF-I es una proteína con peso molecular aproximado de 7600 D, producido principalmente en el hígado <sup>142,143</sup>. Tiene una importante acción anabólica, endocrina y autocrina <sup>144</sup> y se regula por la GH y el estado nutricional <sup>145,146</sup>. Circula en plasma ligada a unas proteínas transportadoras de mayor tamaño (IGBP-1 y 3).

Este complejo IGF-I/IGBP le aporta una mayor vida media a la molécula, de aproximadamente 24 horas, por lo que su concentración en plasma se mantiene constante a lo largo del día.

La mayor producción de IGF-I se produce en el hígado, bajo influjo pulsátil de la GH <sup>147</sup>. Además de la producción hepática, otros tejidos tienen capacidad para sintetizar localmente IGF-I, sobre todo el hueso <sup>148</sup>, donde la producción local de IGF-I desempeña un papel importante en el crecimiento óseo y, posiblemente, en el mantenimiento de la masa ósea en el adulto <sup>149</sup>.

Aunque se conoce que la fuente principal de IGF-I es el hígado, se acepta que también es liberado por los osteoblastos, bajo estímulos hormonales como la GH, estrógenos y andrógenos <sup>150</sup>, PTH <sup>151</sup> y vitamina D <sup>152</sup>. Sin embargo, estudios recientes sugieren un efecto directo de la GH sobre los osteoblastos y consideran los IGFs e IGFbPs como moduladores de su acción <sup>153</sup>.

Influyen también sobre los niveles de IGF-I el ejercicio físico, los niveles de albúmina y la malnutrición <sup>154</sup>.

Estudios recientes restan importancia a la teoría de defectos del eje GH-IGF-I como probable causa de pérdida de masa ósea en mujeres postmenopausicas <sup>155,156</sup> incluso, estos autores, afirman la existencia de una acción directa de la GH sobre los osteoblastos, sin participación del IGF-I <sup>157,158</sup>. De hecho, se han encontrado receptores de GH en los osteoblastos <sup>159</sup>.

El *factor estimulante de colonias de los macrófagos (M-CSF)* es esencial en la formación de osteoclastos, y su ausencia (en ratones) ocasiona osteopetrosis <sup>134</sup>.

Los *factores de crecimiento transformantes (TGF)  $\beta$ I y  $\beta$ II*, los *factores de crecimiento fibroblástico (FGF)* y *factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF)*, son estimuladores potentes de la resorción ósea <sup>160</sup>.

Las *proteínas morfogenéticas óseas*, que forman parte de la superfamilia de los TGF, estimulan la formación ósea de novo de forma análoga a la reparación de las fracturas y a la osificación endondral.

- Además de estos factores, en la regulación del remodelado óseo intervienen otros mecanismos y mediadores, como las **prostaglandinas** y las **prostaciclina**s, el **óxido nítrico**, **radicales libres derivados del oxígeno**, **antagonistas de los receptores de producción constitucional** (antagonista del receptor de la IL-1) y el **contacto célula a célula**.

## ● FACTORES GENERALES

### - *Hormonas sistémicas*

Dentro de las hormonas se distinguen entre hormonas calciotropas (PTH, 1,25 OH D y calcitonina) y otras hormonas que intervienen en el metabolismo mineral (hormonas sexuales: estrógenos y andrógenos, hormona tiroidea, glucocorticoides, GH y la leptina).

La **PTH** estimula a los osteoclastos, aunque no parece que lo haga actuando sobre ellos de forma directa, sino a través de los osteoblastos. Los osteoclastos al ser estimulados ponen en marcha el ciclo de renovación ósea, que en virtud al fenómeno de acoplamiento hace intervenir a los osteoblastos. En definitiva, la PTH aumenta el recambio óseo.

La **vitamina D** tiene un comportamiento similar al de la PTH, estimulando la resorción ósea, pero el resultado in vivo es el opuesto, porque inhibe la secreción de PTH. Además, facilita la mineralización ósea.

La **calcitonina** inhibe la acción de los osteoclastos, pero se desconoce la trascendencia de su actuación, tanto en condiciones fisiológicas como patológicas.

En cuanto a las **hormonas sexuales**, se han estudiado más las femeninas que las masculinas.

Se sabe que la ausencia de estrógenos provoca un aumento de los osteoclastos y secundariamente de los osteoblastos, con un incremento del recambio óseo. Ejercen su efecto de forma directa actuando sobre receptores de las células óseas para los estrógenos y de forma indirecta a través de factores locales como IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6, prostaglandinas (PG) <sup>161</sup>.

La **leptina**, que ejerce un efecto inhibitor sobre el sistema nervioso central inhibiendo el desarrollo de masa ósea, pero cuando actúa a nivel periférico tiene un efecto contrario, función que se considera principal. Su función a nivel central debe interpretarse como un mecanismo de seguridad para evitar una pérdida de masa ósea excesiva en situaciones de desnutrición grave (al disminuir el tejido adiposo, desciende la leptina, y desaparece el efecto inhibitor que ejerce sobre el sistema nervioso, previniendo la pérdida de masa ósea) <sup>132</sup>.

- En cuanto al **sistema nervioso**, se considera que el sistema nervioso central ejerce una función inhibitoria del desarrollo de la masa ósea, función que lleva a cabo a través del sistema nervioso simpático.

Los factores que estimulan al sistema nervioso aún no están bien establecidos. El mejor conocido es la *leptina*.

## SISTEMA RANK-RANKL/OPG

El conocimiento sobre el remodelado óseo ha tenido un avance extraordinario con el descubrimiento del sistema RANK-RANKL-OPG<sup>131,135</sup>, que se considera la vía común a través de la cual actuarán todas las moléculas antes señaladas (hormonas y factores locales) para regular la interacción osteoblasto-osteoclasto y el remodelado óseo.

El RANK (Receptor for Activación of Nuclear Factor KB; NFkB) es un receptor que se encuentra en la membrana plasmática de los osteoclastos y células precursoras de los osteoclastos, al que se une el RANKL (ligando de RANK) presente en suero. Esta unión estimula la maduración, proliferación y osteoclastogénesis, es decir, activa la síntesis y actividad de los osteoclastos, inhibiendo su apoptosis.

Por otro lado, los osteoblastos producen una proteína, la osteoprotegerina (OPG), que es capaz de unirse al RANKL, impidiendo la unión RANK-RANKL, por lo que su acción es inhibitoria de la actividad osteoclástica. Es decir, la OPG es un receptor osteoblástico miembro de la familia TNFR, carente de dominio transmembrana, que, por ello, es secretado al exterior. Su ligando es el propio RANKL, de manera que puede decirse que se interpone entre él y el RANK, con lo que impide su puesta en contacto.

Es por tanto, la relación entre RANKL y OPG lo que determina la cantidad de hueso a reabsorber<sup>135-138</sup> ya que como consecuencia de dicha unión, aumenta la proliferación y la actividad de los osteoclastos, al tiempo que disminuye su apoptosis.

Actualmente se sabe que la producción de RANKL en los osteoblastos se estimula por la vitamina D, PTH, TNF  $\alpha$ , glucocorticoides, PGE<sub>2</sub>, IL-1, IL-6, IL-11, hormona tiroidea, FGF-2 y IGF-I, entre otros, inhibiendo muchas de estas moléculas la expresión de OPG<sup>162</sup>.

Los estrógenos, al contrario, inhiben la producción de RANKL y M-CSF y estimulan la producción de OPG y TGF- $\beta$ <sup>163</sup>.

A modo de resumen, en cada unidad de remodelado, el ciclo comienza con la estimulación de células de estirpe osteoclástica en la médula ósea. La diferenciación de los osteoclastos la fomentan diversas hormonas, como la PTH, el calcitriol y la hormona tiroidea, así como citoquinas inflamatorias como la IL-1 y el TNF.

Estos factores fomentan la diferenciación y la actividad de los osteoclastos mediante la estimulación de la producción de una molécula denominada ligando de RANK (RANKL) en la superficie de los osteoblastos y las células del estroma. El RANKL interactúa con un receptor presente en la superficie de los precursores de los osteoclastos denominado RANK (receptor activador del factor nuclear kappa B) y fomentan la diferenciación y función de los osteoclastos.

La interacción RANK-RANKL es bloqueada por la osteoprotegerina, ligando que actúa como “señuelo” para el RANK, y, por tanto, ejerce una acción de inhibición potente de la formación de los osteoclastos.

Cuando se forman, los osteoclastos maduros crean una barrera hermética sobre la superficie ósea, y reabsorben el hueso al secretar ácido clorhídrico y enzimas proteolíticas, como la colagenasa y la catepsina K en la superficie, que llevan a cabo la disolución de la matriz ósea, liberándose de ella productos (osteopontina, sialoproteína y fragmentos del colágeno degradado) que activan y atraen a los osteoclastos. Éstos se adhieren a la matriz ósea y forman “el borde en cepillo” por el que realizan la resorción gracias a la acción especial de la catepsina K, tras la liberación de hidrogeniones al medio.

Cuando se ha destruido una cantidad determinada de hueso en la unidad de remodelado, ésta debe ser reemplazada por hueso nuevo. Se produce entonces el cese de la actividad osteoclástica, la atracción de los precursores de osteoblastos a la cavidad resortiva, proliferación y diferenciación de los precursores de los osteoblastos y finalmente la formación de la matriz ósea.

El cese de la actividad osteoclástica se produce por el aumento local de productos liberados de la matriz ósea, como calcio, fósforo y TGF- $\beta$ , interviniendo este último factor también en la quimiotaxis y proliferación de los precursores de los osteoblastos.

Las proteínas morfogenéticas óseas (BMP) activan la diferenciación de los osteoblastos para formar hueso, que posteriormente se mineraliza. Una vez terminada la formación, la superficie del hueso se cubre con osteoblastos muy diferenciados en reposo, que se activarán en un ciclo posterior <sup>106</sup>.

### **- Menopausia y masa ósea**

La pérdida ósea menopáusica se asocia tanto a un aumento de la frecuencia de activación como a un desequilibrio de remodelado <sup>199</sup>.

Con la menopausia se produce una situación de alto remodelado óseo, con aumento del número de unidades de remodelado activas y un desequilibrio osteoclasto-osteoblasto, con aumento de la actividad osteoclástica en cada una de ellas, lo que da lugar a una pérdida acelerada de masa ósea que afecta fundamentalmente al hueso trabecular y que puede alcanzar un 4-6% a nivel vertebral el 2º año y un 8-13% el tercer año después de la menopausia.

En conjunto, se atribuye a la menopausia la pérdida directa del 50 % de la masa ósea en la mujer a lo largo de su vida, lo que la hace más propensa que el varón a padecer osteoporosis. Todo ello se debe al déficit de la función ovárica.

Se sabe que los estrógenos disminuyen la actividad osteoclástica inhibiendo la producción de M-CSF, RANKL, IL-1, IL-6 y TNF- $\alpha$ , al tiempo que estimulan la producción de OPG y TGF- $\beta$ , por lo que su déficit tras la menopausia invierte todas estas acciones y condiciona la pérdida acelerada de masa ósea <sup>163</sup>.

La rápida evolución de la desorganización estructural de la arquitectura del hueso esponjoso asociada a la deficiencia de estrógenos

sugiere que, en las primeras etapas de la deficiencia estrogénica, es probable un aumento de la actividad osteoclástica.

La resorción ósea exagerada tiende a elevar los niveles de calcemia, lo que conlleva una disminución de la secreción de PTH y de  $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ , disminuyendo la absorción intestinal de calcio y aumentando la eliminación urinaria del mismo <sup>128</sup>.

### - Masa ósea y edad

Independientemente de la pérdida de masa ósea que se produce en la mujer consecuencia de la menopausia, tanto en ella como en el varón se produce una pérdida continua que llega hasta edades avanzadas y que está en la base de la osteoporosis senil.

En estos cambios, las alteraciones hormonales y los factores locales siguen teniendo un papel importante.

El principal determinante del aumento de recambio propio del envejecimiento se considera es el incremento de la secreción de PTH que tiene lugar con el envejecimiento <sup>164-166</sup>. Es posible que contribuya la disminución de la actividad física, ya que se sabe que el reposo estimula la actividad de las unidades de remodelación. Las causas del aumento de la PTH probablemente son varias:

1) *Disminución de la función renal*: con la edad disminuye el filtrado glomerular, lo que origina cierto grado de hiperparatiroidismo secundario.

2) *Disminución de la absorción intestinal de calcio*: los factores responsables de la misma, probablemente son atribuibles a la propia mucosa intestinal y en parte ajenos a ella. Los primeros tal vez guarden relación con el desarrollo de resistencia intestinal a la vitamina D y los segundos se refieren a la disponibilidad en el organismo de esta vitamina y sus metabolitos, así como a la cantidad de calcio presente en la dieta.



Aunque existen algunas discrepancias, se tiende a aceptar que tanto los niveles de 25 OH D como los de 1,25-(OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> disminuyen con la edad. El descenso en los niveles de 1,25-(OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> se atribuye a un descenso en la capacidad del riñón para sintetizarlo, en relación con la disminución de la función renal desarrollada con la edad.

El descenso de los niveles de 25 OH D se supone que se debe, a una menor exposición a la luz solar de las personas ancianas, a lo que se añadiría una ingesta insuficiente por realización de dietas incorrectas, y tal vez una disminución de la capacidad de la piel para sintetizar vitamina D.

3) *Pérdida tubular de calcio*: se ha señalado por algunos autores una tendencia a la pérdida renal de calcio en los ancianos. Se desconocen los mecanismos responsables de dicho fenómeno.

Por otra parte, existe una evidencia creciente de que los niveles de testosterona y estrógenos influyen en la masa ósea del varón y la disminución de los niveles de estrógenos se correlacionan con la disminución de la masa ósea tanto en mujeres como en el varón de edad avanzada <sup>161</sup>.

Aunque los niveles de OPG aumentan con la edad <sup>165</sup>, su producción en médula ósea está disminuida al tiempo que aumenta la producción de RANKL, lo que puede jugar un papel importante <sup>131,135</sup>.

## 2.5 METABOLISMO MINERAL

La homeostasis del calcio (Ca), fósforo (P) y magnesio (Mg), es regulada por la PTH, la 1,25 OH D<sub>3</sub> y la calcitonina, mediante la acción integrada de dichas hormonas en el tejido óseo, intestino y riñón <sup>167,168</sup>.

■ La **paratohormona (PTH)** está compuesta de una sola cadena polipeptídica de 84 aminoácidos, que carecen de cisteína. Se han identificado varias moléculas mayores en una secuencia biosintética. La primera forma descubierta es la denominada *hormona pre-pro-paratiroidea* (115

aminoácidos), considerada la molécula precursora inicial. La rotura intracitoplasmática de la molécula da lugar a una forma denominada *hormona pro-paratiroidea* (90 aminoácidos). Posteriormente, aún en el interior de la célula, es desdoblada dando lugar a la molécula de PTH, que es liberada al espacio extracelular por exocitosis.

El factor regulador principal de la secreción de PTH es la fracción plasmática de calcio ionizado.

El magnesio parece actuar de la misma forma, aunque en menor intensidad.

Las formas inmunorreactivas circulantes de la PTH detectadas en plasma son <sup>171</sup>:

- **PTH inactiva o nativa:** constituye aproximadamente el 10% del total circulante. Está sometida a una rápida degradación periférica.

- **Fragmentos carboxiterminal y fragmentos medios de la molécula:** son las formas inmunorreactivas más abundantes en plasma, pero carecen de actividad biológica al no poseer la fracción aminoterminal.

- **Fragmentos aminoterminal:** poseen actividad biológica y su vida media es muy corta (aproximadamente 5 minutos).

La PTH es segregada principalmente como péptido intacto o nativo, pero sufre una rápida metabolización periférica, a nivel hepático y renal, entre los aminoácidos 33-34 y 36-37 liberando fragmentos carboxiterminal y medios<sup>172</sup>.

En la actualidad, con los métodos de doble anticuerpo por radioinmunoanálisis (RIA), se puede cuantificar la PTH intacta, que es el principal parámetro a utilizar para valorar el estado de la función paratiroidea <sup>173</sup>.

## Acciones de la PTH

La PTH, para el mantenimiento de la calcemia, actúa directa e indirectamente en los órganos principales implicados en la homeostasis del calcio: hueso, riñón e intestino.

- Acción a nivel óseo: tiene efectos tanto sobre los osteoclastos como los osteoblastos.

La PTH estimula a los osteoclastos aunque no parece lo haga actuando sobre ellos de forma directa, ya que se cree que estas células no tienen receptores para dicha hormona. Los osteoclastos, al ser estimulados, ponen en marcha el ciclo de renovación ósea, haciendo intervenir a los osteoblastos.

Es probable que además, la PTH actúe de forma directa sobre los osteoblastos, ya que este tipo de células sí tienen receptores para la hormona.

La PTH es por tanto un potente estimulador de la resorción ósea, efecto que parece estar mediado por los osteoblastos a través del contacto directo entre células o mediante la liberación de mediadores solubles<sup>128</sup>. También tiene un efecto osteoformador, que se cree está mediado por los factores insulinoides de crecimiento (IGF), que son estimulados por la hormona y por el factor transformante  $\beta$  (TGDF- $\beta$ )<sup>162</sup>.

En definitiva, la PTH aumenta el recambio óseo, lo que intensifica las pérdidas por balance negativo que se establecen a partir de la cuarta década.

Parece que el efecto osteorresortivo se deja notar más en el hueso cortical que en el trabecular, sin haber encontrado explicación a esta predilección.

Por otra parte, hay ocasiones en que la PTH no da lugar a pérdida de masa ósea, e incluso puede determinar aumento de la misma. Parece que en esta diversidad de efectos interviene la forma concreta en que la hormona lleva a cabo su acción: si lo hace de forma mantenida y a altas dosis, facilitaría la pérdida de masa ósea; si lo hace de forma intermitente y a dosis bajas, determinaría un aumento de la misma.

Se distinguen dos tipos de respuestas temporales de la PTH sobre el hueso <sup>174</sup>.

- *Respuesta rápida*: existe una liberación de calcio óseo sin destrucción de la matriz ósea (no hay incremento de la hidroxiprolina urinaria), que ocurre aproximadamente 30 minutos tras la administración. Esta respuesta rápida parece ser debida a una estimulación de la acción osteolítica de los osteocitos.

- *Respuesta tardía*: aparece a las 12 horas de la administración de la PTH. Se produce un aumento en la resorción ósea con movilización de calcio y disolución de la matriz colágena (aumento de la excreción de hidroxiprolina urinaria). Esta acción es debida a un aumento en el número de osteoclastos.

- Acción a nivel renal: la PTH produce modificaciones tubulares que se traducen en la excreción de fósforo, sodio, bicarbonato y aminoácidos, disminuyendo la eliminación de calcio y magnesio. Induce un aumento en la reabsorción de calcio y magnesio en el túbulo contorneado distal <sup>175</sup>.

- Acción a nivel intestinal: su acción es indirecta a través de la 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. La PTH es la principal hormona reguladora de la 1 $\alpha$  hidroxilación renal, estimulando la conversión de 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> en 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. De esta forma, es el principal responsable de los niveles del metabolito activo de la vitamina D <sup>176</sup>.

■ **Vitamina D**: es más bien una hormona que una vitamina.

El principio activo de la Vitamina D se sintetiza por regulación metabólica a través de hidroxilaciones sucesivas en hígado y riñón y se traslada por la sangre hasta los órganos efectores (riñón y hueso), donde regula la homeostasis del calcio.

A través de los derivados hidroxilados 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> o calcitriol y 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, es uno de los más potentes reguladores biológicos del metabolismo del calcio y fósforo.

La vitamina D<sub>2</sub> y D<sub>3</sub> de origen dietético o el derivado de la síntesis cutánea es transportada al hígado mediante una globulina- $\alpha$ 1 específica, la globulina transportadora de la vitamina D (DBP).

En hígado se metaboliza a 25 OH D. Este es uno de los principales metabolitos circulantes de la vitamina D, y se calcula que su vida media es de unos 21 días. Constituye un buen índice de las reservas orgánicas de la vitamina.

La 25 OH D es de nuevo liberada a sangre y transportada por la DBP al riñón, donde sufre una hidroxilación estereoespecífica sobre el carbono 1 (C<sub>1</sub>) o el 24 (C<sub>24</sub>), mediante una 25 OH D-1 $\alpha$  hidroxilasa en las mitocondrias del túbulo contorneado distal <sup>177</sup>. El metabolito resultante es 1,25-(OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub>, que es la forma activa de la hormona.

El control de la hidroxilación es llevado a cabo por varios factores que influyen sobre la 1 $\alpha$  hidroxilasa <sup>178</sup>. De todos ellos, los niveles de PTH circulantes parecen ser la principal influencia. Así, en el hiperparatiroidismo primario, se han encontrado niveles elevados de 1,25-(OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> <sup>179</sup>.

### **Acciones de la vitamina D**

Existen receptores de la 1,25 (OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> en el intestino, hueso y otros tejidos. No obstante, el intestino y hueso son los principales órganos diana.

- Acción a nivel óseo: el calcitriol tiene un comportamiento similar al de la PTH a nivel óseo. Parece que no actúa sobre los osteoclastos maduros directamente, pero sí sobre los osteoblastos. También actúa sobre los precursores de los osteoclastos.

Así, aumenta la resorción ósea, probablemente de forma sinérgica con la PTH y favorece la mineralización ósea. Esta actividad la lleva a cabo estimulando los osteoblastos, que liberan osteocalcina, lo cual favorece la regulación de la mineralización y el acoplamiento entre los fenómenos de formación y resorción ósea <sup>180</sup>.

Por otro lado, al favorecer la absorción intestinal de calcio, aporta la cantidad de calcio suficiente al hueso para una correcta mineralización.

-Acción a nivel intestinal: el efecto de la  $1,25\text{ (OH)}_2\text{ D}_3$  sobre el intestino consiste en la estimulación del transporte de calcio y fósforo desde la luz intestinal hacia la circulación sanguínea. El transporte intestinal de calcio está enteramente bajo el control de la  $1,25\text{-(OH)}_2\text{ D}_3$ .

La calcitonina y PTH no tienen influencia directa sobre la absorción intestinal de calcio <sup>181</sup>.

Aunque algunos autores han defendido que el resultado global de su actuación es fundamentalmente resortivo, el hecho es que parecen existir pruebas de que, al menos en determinadas condiciones aumenta la masa ósea, hasta el extremo de haberse propuesto por algunos autores para el tratamiento de la osteoporosis.

En cualquier caso, su efecto in vivo es difícil de estudiar de forma aislada, porque, tanto aumentando la absorción intestinal de calcio, como a través de su actuación directa sobre las glándulas paratiroides, frena la secreción de PTH.

Todo ello con independencia de su intervención en la mineralización ósea, consecuencia de la cual es el hecho de que su carencia pueda dar lugar a osteomalacia.

De la acción favorecedora sobre el transporte intestinal de fosfato, aunque claramente establecida <sup>182</sup>, no son conocidos ni su lugar ni su mecanismo.

■ **Calcitonina:** se trata de una hormona polipeptídica de 32 aminoácidos, sintetizada y secretada por las células parafoliculares del tiroides <sup>183</sup>.

La secreción de calcitonina se halla bajo el control directo de la calcemia. Su aumento en plasma incrementa la liberación de calcitonina y su descenso la disminuye. Es, por tanto, un antagonista fisiológico de la PTH, actuando ambas de forma conjunta, para mantener la calcemia dentro de rangos normales.

## Acciones de la calcitonina

- Acción a nivel óseo: es uno de los contados factores que se sabe que afectan directamente a los osteoclastos, produciendo la inhibición de la resorción osteoclástica (inhiben la resorción ósea) mediante efectos tanto sobre los precursores como sobre las células maduras, siendo esta su principal acción.

Indirectamente, y a través del fenómeno del acoplamiento, disminuye la acción de los osteoblastos. Algunos autores afirman que también actúa directamente sobre éstos.

- Acción a nivel renal: disminuye la reabsorción tubular de calcio, fósforo y magnesio.

■ **Glucocorticoides**: tienen efectos complejos sobre el hueso, que incluyen un aumento del recambio óseo, probablemente a consecuencia del hiperparatiroidismo secundario inducido por la disminución de la absorción intestinal de calcio, y una reducción de la formación de hueso causada por efectos inhibidores directos sobre la replicación y la diferenciación del osteoblasto<sup>184-186,210</sup>.

■ **Hormonas sexuales**: aunque en líneas generales parece que el efecto de los estrógenos y el de los andrógenos sobre el hueso es equivalente, se han estudiado mucho más los primeros. Su principal acción es la inhibición de la resorción<sup>187</sup>.

Se ha demostrado la existencia de receptores estrogénicos en células de las estirpes celulares de osteoblastos<sup>188,189</sup> y osteoclastos, aunque su concentración en estos tipos celulares es relativamente baja.

La presencia de receptores de estrógenos en los osteoclastos y su capacidad para inhibir la actividad resorptiva osteoclástica in vitro sugiere que el efecto de los estrógenos sobre la resorción ósea es mediada a través de las células osteoclásticas<sup>153</sup>.

No se han demostrado efectos directos de los estrógenos sobre los osteoblastos, pero se cuenta con muchas pruebas de que los efectos inducidos por los estrógenos sobre el recambio óseo están mediados, al menos en parte, por cambios en la producción de IL-1, IL-6, TNF $\alpha$  y factor estimulante de las colonias de granulocitos/macrófagos (GM-CSF) por células mononucleares del ambiente óseo <sup>163</sup>.

Asimismo, los estrógenos incrementan la producción del factor transformante de crecimiento (TGF- $\beta$ ) por los osteoclastos, lo que puede inhibir la resorción mediante una acción autocrina <sup>190</sup>.

Se ha observado también un incremento en la producción hepática de SHBG ante niveles bajos de IGF-I.

En las mujeres, se ha demostrado un aumento de la producción de IL-1, GM-CSF y TNF- $\alpha$  por las células mononucleares de sangre periférica tras la ooforectomía; estos cambios se contrarrestan mediante la administración de estrógenos y muestran una estrecha relación temporal con los marcadores bioquímicos del recambio óseo <sup>191</sup>.

Además, el efecto estimulador de la IL-6 sobre la osteoclastogénesis está modulado por los estrógenos, que también pueden influir en la producción de IL-1 ra, que bloquea la acción de la IL-1 y, de forma indirecta, la secreción de IL-6.

Finalmente, varios estudios in vitro han aportado algunas pruebas de que los estrógenos estimulan la liberación de IGF-I, TGF y procolágeno I de los osteoblastos. Sin embargo, en la actualidad carecemos de pruebas convincentes de un efecto anabolizante in vivo en el género humano <sup>192,193</sup>.

■ **Triyodotironina:** también aumenta el recambio óseo, pero con una disminución neta de la masa ósea tanto en el hueso cortical como el trabecular.



■ **Insulina:** también relacionada con la densidad mineral ósea. Hay estudios en los que se afirma que existe una correlación positiva entre los niveles séricos de insulina y la densidad ósea <sup>194-197</sup>.

La obesidad, que conlleva resistencia a la insulina e hiperinsulinismo, se asocia a un incremento de masa ósea <sup>198</sup>, y estudios realizados en pacientes con diabetes mellitus no insulín dependientes se observa un aumento de la masa ósea <sup>194</sup>.

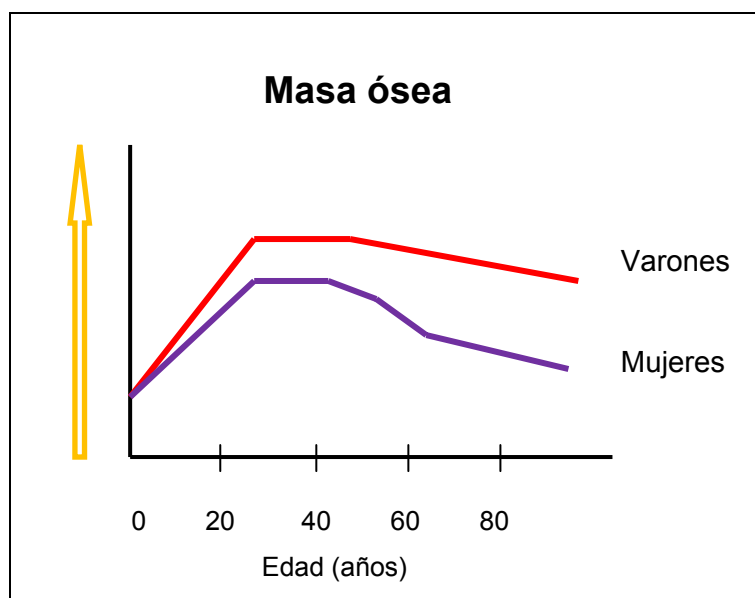
El mecanismo por el que la insulina incrementaría la masa ósea no está claro, aunque se sugieren dos mecanismos: por la estimulación de la proliferación de células óseas al actuar sobre receptores de IGF-I; y la asociación negativa que tiene con la SHBG, de manera que niveles bajos de SHBG se correlacionan con un aumento de estrógenos y testosterona libre que aumentaría la masa ósea.

■ **Hormona del crecimiento (GH):** La GH desempeña un papel importante en el crecimiento esquelético, aumentando el recambio óseo con incremento de la masa ósea y del crecimiento perióstico por aposición, efectos que probablemente estén mediados por los IGF.

## 2.6 EVOLUCIÓN DE LA MASA ÓSEA A LO LARGO DE LA VIDA

Durante la infancia y la adolescencia se produce un rápido crecimiento esquelético lineal y aposicional, de los que el primero alcanza un máximo en la segunda mitad de la segunda década de la vida. Luego sigue aumentando la masa ósea mediante crecimiento aposicional, y la masa ósea máxima se alcanza durante la tercera década de la vida.

La pérdida ósea relacionada con la edad comienza a partir de la cuarta década y continúa a lo largo de toda la vida, acelerándose en las mujeres durante los años que circundan a la menopausia (Fig I).



**Fig. I: Cambios de la masa ósea durante la vida**

La pérdida de masa ósea tiene como mecanismo responsable fundamental el establecimiento de un balance negativo a nivel de las unidades de remodelación. En todas las personas, estas pérdidas se ven potenciadas por el desarrollo, con la edad, de un aumento del recambio.

El resultado final es una pérdida de masa ósea que oscila entre un 0,5 y un 1 % anual, y que en una persona que fallece a una edad próxima a su esperanza de vida, viene a suponer un 15 % de la masa ósea inicial.

En el caso de las mujeres, se añade a lo anterior, una rápida y marcada pérdida en los años siguientes a la menopausia (3-5 % anual durante 2-3 años), que más tarde va endenteciéndose hasta desaparecer al cabo de 5-10 años. Su cuantía se sitúa probablemente alrededor de otro 15 %.

Tanto hombres como mujeres pueden sufrir ocasionalmente una intensificación de las pérdidas óseas si se dan fenómenos de acentuación del balance negativo (corticoides) o recambios esporádicos del recambio (hipertiroidismo).

La velocidad y el comienzo de la pérdida ósea varían según el lugar del esqueleto y, dada su gran relación entre superficie y volumen y su mayor capacidad de actividad metabólica, las pérdidas de hueso esponjoso superan a las del hueso cortical.

En conjunto se estima que las mujeres pierden durante toda su vida alrededor del 50 % de la masa ósea trabecular y del 35 % de la cortical, mientras que la pérdida de los varones es de unas dos terceras partes de esas cantidades.

La **masa ósea máxima** alcanzada es un importante determinante de la masa ósea posterior y del riesgo de fracturas a lo largo de la vida posterior. Así, se acepta que cuanto mayor sea el **pico de masa ósea** más difícil es que las pérdidas posteriores den lugar a una osteoporosis manifiesta, independientemente de los factores que puedan actuar posteriormente <sup>199,213</sup>.

## 2.7 FACTORES DETERMINANTES DEL PICO DE MASA ÓSEA

La cantidad de tejido óseo medida en diferentes localizaciones mediante técnicas de densitometría ósea es el principal factor determinante de la osteoporosis.

Recientes estudios prospectivos han demostrado claramente una fuerte correlación entre la disminución de la masa ósea y el mayor riesgo de fracturas<sup>200</sup>.

### - Factores genéticos <sup>203,206,208</sup>

Las influencias genéticas son claramente importantes <sup>201,202</sup>, como demuestran las diferencias raciales de la masa ósea, el hecho de que hijos de mujeres con osteoporosis tienen menor masa ósea que los hijos de mujeres sin osteoporosis <sup>212</sup> y la mayor concordancia de la masa ósea en los gemelos monocigotos que en los dicigotos. Todos ellos apoyan una fuerte evidencia de la contribución genética a la masa ósea. Es probable que parte de este efecto

esté mediado por el tamaño del esqueleto, pero también hay pruebas de que los polimorfismos del gen del receptor de la vitamina D y de otros genes pueden influir sobre la masa ósea<sup>203-205,207,214</sup>.

Los estudios de gemelos y los estudios de familias han mostrado que los factores genéticos explican entre un 70 % y un 85 % de la varianza individual existente en la masa ósea, dependiendo el resto de influencias hormonales (esteroides gonadales y GH), momento de la pubertad, alimentación<sup>209,211</sup> (especialmente la ingesta de calcio) y ejercicio.

El componente genético es mayor para la columna lumbar. Por el contrario, la masa ósea de la cadera y antebrazo se ve más influenciada por factores ambientales<sup>215</sup>.

En la actualidad se conoce de la existencia de muchos genes diferentes que intervienen en la regulación de la masa ósea y otros factores determinantes del riesgo de fractura osteoporótica en los individuos normales, aunque, sólo se han identificado algunos (receptor de la vitamina D<sup>203-205</sup>, receptor estrogénico<sup>214</sup>, gen de la aromatasa<sup>216</sup>, gen COLIA1<sup>217</sup>, gen del factor de crecimiento transformador  $\beta$  (TGF $\beta$ ), gen LRP5).

#### **- Sexo**

Expresada en forma de densidad ósea de área, el pico de masa ósea máxima en los varones es mayor que en las mujeres, aunque estas diferencias se reducen, o incluso se invierten, si la masa ósea se expresa como densidad ósea volumétrica.

#### **- Raza**

La masa ósea es mayor en la raza negra que en la blanca, que a su vez es mayor que la raza amarilla.

## - Factores hormonales

En la fase de crecimiento esquelético progresivo influyen de forma importante todas las hormonas que regulan el metabolismo del calcio (PTH, vitamina D, GH e IGF-I, así como las hormonas tiroideas<sup>218</sup>).

Los esteroides sexuales tienen una influencia significativa en la regulación del crecimiento esquelético, en la obtención de la masa ósea máxima y en la protección frente a la pérdida ósea durante la vida adulta. La testosterona y derivados son importantes en el incremento de la talla durante la pubertad, donde se produce un gran aumento de la masa ósea<sup>219</sup>.

En la mujer los estrógenos estimulan la formación de hueso y representan un importante papel en el mantenimiento de la masa ósea antes de la menopausia.

El déficit de hormonas sexuales en la edad adulta se asocia a un aumento de la pérdida ósea, debido al aumento del remodelado óseo y al desacoplamiento entre resorción y formación óseas.

Los mecanismos a través de los cuales las hormonas sexuales regulan el recambio óseo no se conocen por completo. Existen datos que indican que el déficit de hormonas sexuales causa un aumento de producción de citoquinas como el TNF, IL-1 y IL-6 y el M-CSF en el microentorno del hueso<sup>220</sup>, y de que ello estimula la resorción ósea y causa un desacoplamiento de la formación ósea<sup>163</sup>.

Se han descrito receptores para los estrógenos en los osteoblastos<sup>188,189</sup>. Su principal acción es la inhibición de la resorción<sup>187</sup>. La presencia de receptores de estrógenos en los osteoclastos y su capacidad para inhibir la actividad resorptiva osteoclástica in vitro sugiere que el efecto estrogénico sobre la resorción ósea es mediada a través de las células osteoclásticas<sup>153</sup>. Así mismo, los estrógenos incrementan la producción de factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) por los osteoclastos, lo que puede inhibir la resorción mediante una acción autocrina<sup>190</sup>.

Por otra parte, al igual que los andrógenos, los estrógenos estimulan la producción local por los propios osteoblastos de IGF-I <sup>221</sup>.

Otros mecanismos de las hormonas sexuales propuestos son el efecto sobre la secreción de PTH, la secreción de calcitonina y los efectos sobre la absorción de calcio y la producción de calcitriol.

También se han observado relaciones entre la globulina transportadora de esteroides sexuales (SHBG) y la masa ósea <sup>222</sup>. El mecanismo fisiológico exacto no se conoce, aunque se piensa que su acción sería indirecta al modular las concentraciones de esteroides sexuales libres en plasma. Se ha observado también un aumento en la producción hepática de SHBG ante niveles bajos de IGF-I.

La insulina también ha sido relacionada con la densidad mineral ósea. Hay estudios en los que se afirma que existe una correlación positiva entre los niveles séricos de insulina y la densidad ósea <sup>194-197</sup>. La obesidad, que conlleva resistencia a la insulina e hiperinsulinismo, se asocia a un incremento de masa ósea <sup>198</sup>. Estudios realizados en pacientes con diabetes no insulina dependiente se observa un aumento de la masa ósea <sup>194</sup>. El mecanismo por el que la insulina incrementaría la masa ósea no está claro, aunque se sugieren dos posibles: la estimulación de la proliferación de células óseas al actuar sobre receptores de IGF-I y la asociación negativa que tiene con la SHBG, de manera que niveles bajos de SHBG se correlacionan con un aumento de estrógenos y testosterona libre que aumentarían la masa ósea.

Existen datos que sugieren que los efectos de la testosterona sobre el hueso en los varones pueden producirse en parte a través de la conversión periférica en estrógenos por la acción de la aromatasa, que se expresa en el tejido adiposo y en los osteoblastos <sup>223</sup>.

### - Factores nutricionales

La dieta desempeña un papel importante en la consecución de la masa ósea máxima y el mantenimiento de la salud esquelética durante la edad adulta<sup>209, 224</sup>.

El nutriente mejor estudiado es el calcio de la dieta. El consumo elevado de calcio en la dieta durante el crecimiento y la adolescencia se ha asociado a un aumento de la masa ósea<sup>225</sup>. Un consumo suficiente de calcio parece ser también importante para prevenir la pérdida ósea relacionada con la edad y se ha observado que los suplementos de calcio en mujeres postmenopáusicas retardan la pérdida ósea<sup>226</sup>.

Otros nutrientes como el zinc, el potasio, el magnesio y la fibra se han asociado también a una masa ósea superior en estudios epidemiológicos, si bien el mecanismo causante no se conoce.

### - Factores mecánicos

El ejercicio aumenta la masa ósea<sup>227</sup> mientras que la inmovilización causa una pérdida de hueso. Los pacientes confinados en cama y los astronautas pierden alrededor del 1% mensual de su masa ósea. Los efectos anabolizantes del ejercicio en la masa ósea parecen ser más intensos durante el crecimiento y la adolescencia, aunque también se ha demostrado un efecto positivo del ejercicio físico en la edad adulta<sup>228</sup>.

Paradójicamente, los deportistas altamente entrenados, como los corredores de maratón presentan una reducción de la masa ósea. Esto se debe a que los efectos beneficiosos de la carga esquelética se ven contrarrestados por el bajo peso corporal y el hipogonadismo, que tienen efectos nocivos sobre el hueso<sup>229</sup>.

## 2.8 FACTORES DE RIESGO DE OSTEOPOROSIS <sup>230,231</sup>

Se ha podido establecer por medio de estudios epidemiológicos, la relación entre determinados factores de riesgo y la presencia de una masa ósea baja. Sin embargo, aún teniendo dos mujeres con idénticos factores de riesgo, una puede desarrollar osteoporosis y la otra no, por razones no bien conocidas todavía.

**Tabla III: Factores de riesgo de osteoporosis.**

No modificables	Modificables
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Edad</li> <li>- Sexo (mujer)</li> <li>- Menopausia precoz</li> <li>- Menarquia tardía</li> <li>- Genética</li> <li>- Raza blanca o amarilla</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Estilos de vida</li> <li>- Escasa ingesta de calcio</li> <li>- Tabaco</li> <li>- Sedentarismo</li> <li>- Dieta hiperproteica</li> <li>- Nuliparidad</li> <li>- Excesiva ingesta de alcohol</li> <li>- Abuso de café</li> <li>- Pérdida de peso, delgadez (IMC &lt;19kg/m<sup>2</sup>)</li> <li>- Enfermedades*</li> <li>- Fármacos *</li> </ul>

\* : ver tabla IV. IMC: índice de masa corporal.



**Tabla IV: Factores de riesgo de osteoporosis.**

**1. Presencia de factores de alto riesgo**

- Factores genéticos
- Antecedentes familiares de osteoporosis
- Historia familiar materna de fracturas osteoporóticas
- Déficit estrogénico: menopausia precoz, amenorrea secundaria prolongada, hipogonadismo primario, déficit androgénico en el varón.
- Terapia esteroidal crónica
- Factores nutricionales: baja ingesta de calcio, dietas hiperproteicas, consumo de alcohol, cafeína, tabaco.
- Bajo peso
- Otros factores asociados a osteoporosis: hiperparatiroidismo primario, hipertiroidismo, síndrome de Cushing, acromegalia, anorexia nerviosa, malabsorción intestinal, insuficiencia renal, trasplante renal o hepático, inmovilización prolongada, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, deporte de alta competición, leucemia, mieloma, macroglobulinemia, miopatías.
- Uso crónico de medicamentos que afectan negativamente el metabolismo óseo (hormonas tiroideas y anticonvulsivantes), heparina, tiroxina, quimioterapia.

**2. Evidencia radiológica de osteopenia o deformación vertebral.**

**3. Fracturas osteoporóticas previas (cadera, muñeca, vértebras).**

**4. Pérdida de estatura, xifosis dorsal.**

**1. Factores relacionados con la edad**

La pérdida ósea relacionada con el envejecimiento comienza en torno a los 40-50 años, y se prolonga durante el resto de la vida. Las pérdidas se estiman en un 20-30% de hueso cortical y trabecular y son de similar magnitud en mujeres y varones<sup>232</sup>.

Los mecanismos patogénicos ligados a la pérdida de masa ósea relacionada con el envejecimiento se deben a la existencia de un balance óseo negativo y cierto grado de hiperparatiroidismo secundario. Sin embargo, recientes estudios sugieren que la deficiencia de estrógenos puede tener un efecto significativo en fases avanzadas de la vida regulando la homeostasis cálcica extraesquelética. Así, los estrógenos pueden modificar el balance de calcio aumentando su absorción a nivel intestinal y limitando su eliminación

renal. Además, se ha descrito una influencia activa de los estrógenos en el metabolismo de la vitamina D y su capacidad para disminuir la excreción de PTH <sup>161</sup>.

La vitamina D interviene en el metabolismo óseo y del calcio, ya que tiene efectos sobre la absorción de calcio a nivel intestinal y su resorción en el riñón. También ejerce un efecto directo sobre los osteoblastos.

La vitamina D se obtiene de dos fuentes: la ingesta dietética y la producción cutánea. Se trata de una vitamina liposoluble que se absorbe en la porción distal del íleon. La ingesta diaria recomendada es de 200 UI/día. También se produce en la piel a partir del precursor 7-deshidrocolesterol, proceso que necesita luz ultravioleta.

La capacidad del intestino para absorber vitamina D disminuye con la edad hasta un 40 %, y la capacidad de la piel para producir vitamina D también desciende de forma significativa con la edad. Así, las concentraciones séricas de vitamina D disminuyen significativamente con la edad, de forma que en algunos estudios son deficitarios hasta el 80 % de las personas muy ancianas. Es probable que esta deficiencia se deba a varios factores, como la reducción de la ingesta dietética, de la absorción intestinal, de la exposición solar y de la capacidad de la piel para producir vitamina D <sup>233</sup>.

La absorción intestinal de calcio está disminuida en los pacientes con osteoporosis. El suplemento de vitamina D en mujeres postmenopáusicas osteoporóticas aumenta la absorción intestinal de calcio y reduce el balance negativo del calcio, aunque con la edad parece existir una disminución de la respuesta intestinal a la vitamina D, debida probablemente al descenso de la concentración de receptores intestinales de vitamina D.

En estudios transversales de mujeres sanas de edad madura, la reducción de la 25 OH D sérica se asocia a un aumento de la concentración sérica de PTH y a una reducción de la DMO <sup>234,235</sup>.

## **2. Factores gonadales**

La deficiencia de estrógenos es reconocida como el factor más importante en la patogénesis de la pérdida ósea en la postmenopausia <sup>187,236</sup>. Así, la terapia con estrógenos se recomienda en la profilaxis y tratamiento de la osteoporosis postmenopáusica <sup>237</sup>.

En la postmenopausia existen dos factores que influyen sobre los niveles de estrógenos: a) la masa corporal, puesto que el tejido adiposo es el lugar principal de la producción de estrógenos mediante la aromatización de andrógenos; b) la disponibilidad de sustratos androgénicos para convertirse en estrógenos <sup>238</sup>.

En cuanto al varón, el hipogonadismo se considera un importante factor de riesgo para el desarrollo de osteoporosis, si bien no es el único <sup>166,239</sup>. Varios estudios publicados sobre trastornos genéticos raros, que cursan con resistencia a estrógenos han puesto de manifiesto la importancia de estas hormonas en el metabolismo del varón. Así, se ha observado que la pérdida de masa ósea en varones relacionada con la edad se relaciona más con la disminución de los niveles de estrógenos que de andrógenos.

## **3. Factores genéticos**

Desde hace tiempo se sospecha la existencia de un componente genético en la osteoporosis, que se confirmó con el desarrollo de las técnicas para medir la densidad mineral ósea.

La mayoría de los trabajos realizados son estudios sobre gemelos y de familias. La mayoría de los estudios se han concentrado en la masa ósea máxima de las mujeres, y han mostrado resultados notablemente constantes.

La osteoporosis es más frecuente en hijas de madres osteoporóticas en las cuales la masa ósea es menor y también se ha demostrado en gemelas univitelinas que existe una concordancia de la masa ósea. Sin embargo, no se ha podido establecer un patrón de transmisión genética específico de la

enfermedad, hasta hace unos años, en que se han descrito los alelos que codifican a los receptores de la vitamina D, que ha abierto una línea de investigación muy interesante en esta campo.

Varios estudios sobre gemelos han demostrado que la estimación de heredabilidad de la masa ósea máxima oscila entre 1,42 y 0,98, que ha sido concordante en estudios en varios continentes

En dos estudios sobre gemelos <sup>215, 240</sup> sobre la DMO postmenopáusica, que refleja una combinación de la masa ósea máxima y la pérdida ósea posmenopáusica, siguen demostrando la existencia de un componente genético importante de la DMO.

Los modelos genéticos han sugerido que la DMO es un rasgo poligénico en el que intervienen varios genes distintos (gen del receptor de la vitamina D <sup>208</sup>, de la aromatasa <sup>216</sup>, receptor de estrógenos <sup>214</sup>, genes COLIA1 <sup>241</sup>, entre otros. De ellos sólo se ha estudiado con detalle el gen del receptor de la vitamina D (RVD).

Debe por tanto recogerse los antecedentes de osteoporosis, especialmente de madre y hermanas <sup>242</sup>, así como de otros miembros de la familia ya que aunque la osteoporosis no es heredable, existe un incuestionable factor genético.

#### **4. Dieta <sup>224</sup>**

El calcio es uno de los componentes más importantes del hueso <sup>243</sup>. Al nacer, el esqueleto contiene 25 g de calcio, y alcanza los 1.000-1.200 g en la madurez. Se desconoce el momento exacto en que se consigue la masa ósea máxima, pero a los 20 años de edad la mayoría de los índices mensurables de DMO han alcanzado el máximo, aunque existen algunas pruebas de que la consolidación de la masa ósea continúa hasta los 30 años de edad.

Los aspectos más importantes del metabolismo del calcio son su ingesta y su absorción a nivel intestinal, que varían con la edad.

La absorción intestinal de calcio se produce por dos mecanismos: uno por transporte activo en la mucosa, cuando la ingesta es baja, dependiente de la 1,25 dihidroxivitamina D, y por transporte pasivo cuando la ingesta de calcio es importante.

Estudios sobre el balance de calcio han demostrado que los lactantes pueden retener hasta el 44% de la ingesta de calcio (hasta 400 mg/día) debido a una gran absorción a nivel intestinal y baja excreción urinaria.

Los niños mayores sólo pueden retener 300 mg/día, incluso con ingestas elevadas debido a una mayor excreción urinaria y una menor absorción intestinal. Los adolescentes tienen la capacidad de absorber y retener grandes cantidades de calcio, pero la absorción vuelve a disminuir en los adultos jóvenes.

La absorción intestinal de calcio desciende con la edad en ambos sexos, apareciendo la máxima disminución después de la menopausia y de los 70 años de edad. Los valores de vitamina D también disminuyen con la edad, lo que puede explicar parcialmente la disminución de la absorción de calcio.

Algunos estudios sugieren que los pacientes con osteoporosis tienen una menor absorción de calcio que los controles de la misma edad. De aquí se desprende que la eficacia de la ingesta de calcio, la necesidad de suplementos puede variar con la edad <sup>244</sup>.

Las dietas hiperproteicas se han asociado con alteraciones del metabolismo del calcio, incluida la hipercalciuria. No obstante existen pocos datos que apoyen la asociación entre la ingesta proteica y la DMO <sup>245</sup>.

La ingesta de grandes cantidades de bebidas con cafeína se asocia con un aumento de la excreción urinaria de calcio. En varios estudios epidemiológicos se han aportado datos de que el aumento de la ingesta de cafeína se asocia a una DMO reducida <sup>246</sup>.

Otros componentes alimentarios se están investigando, como la vitamina C, la fibra, la vitamina K y el hierro.

## 5. Tabaquismo

Los fumadores presentan mayor riesgo de osteoporosis, debido a que el tabaquismo puede reducir la DMO por varios mecanismos:<sup>247</sup>

- Alteración del metabolismo hepático de los estrógenos
- Aumento de la globulina de unión de hormonas sexuales
- Menopausia prematura
- Reducción de la absorción intestinal de calcio
- Reducción del peso corporal

Es bien conocido que las hormonas sexuales intervienen en el metabolismo óseo y del calcio, y que las fumadoras postmenopáusicas tienen una alteración del metabolismo estrogénico.

Aunque muestran valores séricos normales de estrógenos, presentan un metabolismo acelerado de los estrógenos exógenos y un deterioro de la conversión periférica de los andrógenos suprarrenales en estrógenos.

A esto, se une el aumento de la globulina de unión de las hormonas sexuales, que reduce aún más las concentraciones séricas libres de estrógenos biológicamente activos.

Además, las fumadoras llegan a la menopausia 1-2 años antes que las no fumadoras, lo cual se asocia a un mayor riesgo de osteoporosis<sup>248</sup>.

En las fumadoras, también se reduce la absorción intestinal de calcio con respecto a las no fumadoras, y aunque en parte este efecto puede estar mediado por los menores valores de estradiol sérico, parece que además intervienen otros mecanismos.

Las fumadoras tienen un peso constantemente menor que las no fumadoras, y el bajo peso actual y la pérdida de peso se asocian a un aumento del riesgo de fractura osteoporótica.

En un estudio sobre gemelos australianos se confirmó una reducción de la DMO en los fumadores<sup>249</sup>. Este efecto era más marcado en columna lumbar que en cuello femoral. También se demostró un efecto dosis-respuesta, con una disminución de la DMO de la columna lumbar del 2 % cada 10 años de hábito de fumar.

## 6. Alcohol

Un consumo moderado de alcohol no parece afectar significativamente a la masa ósea, pero los alcohólicos crónicos presentan un mayor riesgo de sufrir una osteoporosis sintomática. El alcoholismo es la causa más frecuente de osteoporosis secundaria en el varón<sup>239,250</sup>.

El alcohol puede descender la DMO por muchos mecanismos. Por mecanismos directos reduce la proliferación y la actividad funcional de la célula ósea en algunos estudios experimentales, que demuestran una reducción del volumen y mineralización trabeculares en los alcohólicos.

Las concentraciones séricas de osteocalcina, que reflejan la formación ósea, están reducidas en los alcohólicos, y las biopsias óseas marcadas con tetraciclinas muestran la disminución de la formación y recambio óseos<sup>251</sup>.

Los alcohólicos crónicos suelen presentar concentraciones séricas bajas de 25 OH D y 1,25-(OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub>, junto con concentraciones séricas elevadas de PTH o en el límite superior. Los niveles disminuidos de vitamina D parecen deberse a la mala alimentación, la escasa exposición solar, la baja absorción intestinal o el aumento de la degradación hepática debida a la inducción por etanol del sistema citocromo P-450. El aumento de los niveles de PTH no está claro si se debe a una respuesta a la baja concentración sérica de vitamina D o a un efecto directo del alcohol. Se asocia también con un grado de acidosis metabólica que puede originar osteopenia como consecuencia directa de la acidosis o a causa de la inactivación de la vitamina D<sup>252-256</sup>.

Otras posibles causas son el hipogonadismo inducido por el alcohol, la osteodistrofia hepática <sup>257,258</sup>, la inmovilidad y la asociación con el tabaquismo<sup>248</sup>.

Los estudios sobre varones han demostrado una reducción de la DMO del antebrazo y de columna lumbar y un aumento de las tasas de pérdida ósea en varones que consumían alcohol de forma regular <sup>259</sup>. Las mujeres premenopáusicas que consumen alcohol regularmente presentan baja DMO en la cadera y en columna lumbar. En mujeres postmenopáusicas los resultados son variables, algunos con aumento de la DMO <sup>260</sup>, lo cual se explica por varias hipótesis: que el alcohol aumenta la producción suprarrenal de androstendiona, que se convierte en estrona en tejidos periféricos, o a que el aumento de la secreción de calcitonina inducida por el alcohol pudiera impedir la resorción ósea.

El alcohol aumenta el riesgo de fractura, lo que probablemente se debe a una combinación de disminución de la DMO y el aumento del riesgo de caída.

## **7. Actividad física**

La inmovilización y la falta de actividad de soporte de peso producen una pérdida ósea importante y rápida. El mecanismo exacto por el cual se produce no se conoce, pero se sabe que sólo son necesarios períodos breves de inmovilización para producir un efecto.

Se pueden clasificar a los pacientes en: a) Sedentarios, b) Actividad física moderada y c) Actividad física intensa o utilizando escalas sencillas ya publicadas <sup>261</sup>.

## **8. Menopausia precoz**

El pico de masa ósea se alcanza entre los 16 y 30 años de edad. Durante los 5-10 primeros años tras la menopausia se produce una pérdida de masa ósea más rápida, de hasta un 1-3 % anual, más evidente a nivel axial que en



las extremidades <sup>262</sup>. Tras esta rápida pérdida ósea posmenopáusica, la pérdida ósea continúa a un ritmo menor.

La menopausia prematura, natural o quirúrgica, precipitará una pérdida ósea posmenopáusica rápida y reducirá la DMO en cualquier edad posterior.

## **9. Peso**

Existe una relación positiva entre el peso y la DMO. La asociación entre el peso y la DMO sigue teniendo la misma potencia incluso dentro de intervalos normales de peso corporal, y es constante en los diferentes puntos de medición de la DMO <sup>263</sup>.

En las mujeres postmenopáusicas, uno de los posibles mecanismos es el aumento de la conversión de la androstendiona a estrona en el tejido adiposo, aunque no explica la asociación en las mujeres premenopáusicas y en los varones, que puede deberse en parte al aumento de la carga mecánica del hueso.

Finalmente, la DMO y el tamaño y peso corporales pueden estar determinados por otros factores, entre ellos el sistema endocrino y factores de crecimiento como el IGF-I.

## **10. Otros factores de riesgo: enfermedades y fármacos asociados a la osteoporosis (Tabla V).**

**Tabla V: Causas de osteoporosis secundaria.**

Enfermedades	Fármacos
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Endocrinas:               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Acromegalia</li> <li>- Hipertiroidismo</li> <li>- Hiperparatiroidismo</li> <li>- Síndrome de Cushing</li> <li>- Hipopituitarismo</li> <li>- Hipogonadismo</li> </ul> </li> <li>• Digestivas:               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Celiacía</li> <li>- Enfermedad inflamatoria intestinal</li> <li>- Hepatopatías</li> <li>- Gastrectomía</li> <li>- Pancreatitis crónica</li> <li>- Fibrosis quística</li> </ul> </li> <li>• Neoplásicas               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Mieloma múltiple</li> </ul> </li> <li>• Reumatológicas               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Artritis inflamatorias y enfermedades del tejido conectivo</li> </ul> </li> <li>• Nutricionales               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Malnutrición, anorexia nerviosa</li> </ul> </li> <li>• Enfermedades renales:               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Insuficiencia renal crónica</li> <li>- Acidosis tubular renal</li> </ul> </li> <li>• Varias:               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Hemoglobinopatía</li> <li>- Enfermedad de Gaucher</li> <li>- Mastocitosis sistémica</li> </ul> </li> <li>• Enfermedades genéticas:               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Osteogénesis imperfecta</li> <li>- Sdr de osteoporosis-pseudoglioma</li> <li>- Déficit de aromatasa</li> <li>- mutaciones de receptores de estrógenos</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Glucocorticoides</li> <li>- Tiroxina</li> <li>- Anticoagulantes</li> <li>- Quimioterapia</li> <li>- Tratamiento crónico con litio</li> <li>- Sedantes</li> <li>- Anticonvulsivantes</li> <li>- Inmunosupresores</li> <li>- Heparina</li> <li>- Agonistas GnRH</li> </ul>

La osteoporosis puede aparecer como complicación de diversas enfermedades y tratamientos farmacológicos .

#### • Enfermedades inflamatorias crónicas

Las enfermedades inflamatorias crónicas como la artritis reumatoide, la espondilitis anquilopoyética, la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa se asocian a un aumento del riesgo de osteoporosis <sup>264-267</sup>. Este fenómeno es de carácter multifactorial y en él intervienen la inmovilidad relativa, el aumento de la producción de citoquinas proinflamatorias como la IL-1 y el TNF, que

estimulan la resorción ósea y el tratamiento con corticoides, que inhiben la formación de hueso.

La malabsorción puede contribuir también en los pacientes con enfermedad de Crohn<sup>268</sup>.

● **Enfermedades gastrointestinales**<sup>269,270</sup>

La *celiaquía* se asocia tanto a osteoporosis como a osteomalacia a causa de la reducción de la absorción intestinal de calcio, vitamina D y otros nutrientes<sup>271,272</sup>.

Los pacientes sometidos a *cirugía gástrica* (gastrectomía o cirugía bariátrica) también presentan años después de la intervención osteoporosis. Los factores implicados en la pérdida ósea son: una baja ingesta de calcio para evitar la diarrea por el síndrome de vaciado gástrico rápido, los cambios anatómicos postquirúrgicos, que alteran la absorción de vitamina D y calcio y el uso de antiácidos, que pueden producir depleción de fósforo al quelarlo en el intestino<sup>273,277</sup>.

En la *pancreatitis crónica y fibrosis quística*<sup>274,275</sup>. Puede aparecer osteoporosis como complicación de la malabsorción de calcio y vitamina D y presencia de otros factores para desarrollar osteoporosis como baja actividad física, enfermedad pulmonar, tratamiento con corticoides, hipogonadismo y aumento de los niveles de citoquinas circulantes.

● **Enfermedades hepáticas**<sup>276</sup>

El daño hepático, tanto del parénquima como de la vía biliar, origina alteraciones en el metabolismo fósforo-calcio que ocasionarán pérdida ósea en forma de osteoporosis u osteomalacia.

Tanto la *cirrosis biliar primaria (CBP)* como la *colangitis esclerosante primaria (CEP)* se asocian a pérdida de masa ósea. La colestasis produce tanto osteoporosis como osteomalacia<sup>278,279</sup>.

En la CBP, la osteoporosis tiene característicamente un remodelado bajo, con inhibición de la formación y reabsorción normal o baja. Los niveles de vitamina D son normales. Se cree que la propia colestasis condiciona la inhibición de la función osteoblástica, al acumularse sustancias capaces de producir este efecto como bilirrubina no conjugada, cobre y sales biliares<sup>280</sup>.

En la *hepatitis crónica activa* la afectación ósea se relaciona directamente con el tratamiento con corticoides.

En las *hepatitis virales B y C* se ha demostrado una osteoporosis de alto remodelado y con niveles bajos de vitamina D y PTH alta. El aumento del remodelado se cree debido al nivel elevado de citoquinas circulantes por la inflamación crónica<sup>281-283</sup>.

#### ● **Tirotoxicosis**

Tanto en la tirotoxicosis como en la reposición excesiva de tiroxina se produce una reducción de la masa ósea a causa de los efectos estimuladores de la hormona tiroidea sobre el recambio óseo<sup>284</sup>. En estos pacientes también está aumentado el riesgo de fracturas osteoporóticas<sup>285</sup>.

#### ● **Hiperparatiroidismo primario**

El hiperparatiroidismo primario puede asociarse a un aumento de la pérdida ósea y osteoporosis en especial en mujeres postmenopáusicas<sup>286</sup>. Se cree se debe a los efectos estimuladores de la PTH sobre el recambio óseo, junto con el desacoplamiento relativo de la resorción ósea con respecto a la formación a causa del déficit de estrógenos.

#### ● **Hipogonadismo**

El hipogonadismo es la causa más importante de osteoporosis. Puede ser fisiológico como ocurre en la osteoporosis postmenopáusica, o patológico, como en las mujeres con menopausia temprana, en enfermedades hipofisarias

o una insuficiencia gonadal debida a infecciones, quimioterapia o Síndrome de Turner y Klinefelter.

Los mecanismos de la osteoporosis incluyen la falta de obtención de la masa ósea máxima (Síndromes de Turner y Klinefelter) y la pérdida ósea acelerada.

#### ● Fármacos

Entre ellos destacan los *glucocorticoides*, la causa más importante de osteoporosis secundaria a fármacos<sup>287</sup>.

Los corticoides causan osteoporosis al afectar a varias funciones de las células óseas y la homeostasis del calcio<sup>210</sup>. Inhiben la absorción de calcio intestinal, probablemente por un antagonismo de los efectos de la vitamina D sobre el intestino. También causan un aumento de la excreción de calcio urinario al reducir la absorción tubular renal de calcio y reducen la formación de hueso al inhibir la actividad osteoblástica.

Los efectos directos de los corticoides sobre el hueso, el intestino y el riñón causan una reducción del calcio sérico, que a su vez estimula la PTH, que tiende a mantener cifras de calcio sérico normales, pero en parte a costa de un aumento de la resorción ósea.

Este aumento de resorción ósea cuando se une a una supresión de la actividad osteoblástica produce una pérdida ósea acelerada y posteriormente osteoporosis.

El riesgo de osteoporosis relacionado con los corticoides depende de la dosis y duración del tratamiento. Sin embargo, existen dudas sobre si hay o un dosis “seguras” de corticoides, ya que incluso dosis bajas (<7,5 mg de prednisona al día) se han asociado a pérdida de masa ósea.

Los corticoides inhalados comportan una menor probabilidad de producción de osteoporosis que los administrados vía oral, pero también pueden producirla, sobre todo a dosis elevadas y durante largo tiempo<sup>288,289</sup>.

Otros medicamentos que pueden afectar al hueso son las *sales de litio*, los *anticonvulsivantes*, la *heparina*, la *vitamina A* y, posiblemente, incluso la sobredosificación de *antiinflamatorios no esteroideos (AINE)* <sup>290</sup>.

Los *agonistas de la hormona liberadora gonadotrópica*, utilizados en la endometriosis y el cáncer de próstata, causan osteoporosis al producir hipogonadismo <sup>291</sup>.

Por el contrario, las *tiazidas* ejercen un efecto protector sobre el metabolismo óseo <sup>292</sup>.

## 2.9 CLASIFICACIÓN DE LA OSTEOPOROSIS GENERALIZADA

Dentro de las múltiples clasificaciones de la osteoporosis basándose en diversos criterios (extensión, etiología, edad de aparición), la de mayor aceptación es la propuesta por Riggs y Melton <sup>293</sup>, basada puramente en criterios clínicos:

### • Osteoporosis primaria:

- Osteoporosis idiopática:
  - Osteoporosis juvenil.
  - Osteoporosis del adulto joven.
- Osteoporosis involutiva:
  - Tipo I-Osteoporosis postmenopáusica.
  - Tipo III-Osteoporosis senil.
  - Tipo III-Asociada a hiperfunción paratiroidea.

La forma más importante de osteoporosis primaria es sin duda la **involutiva tipo I o postmenopáusica**. Afecta primordialmente a mujeres entre los 10 y 15 años después del comienzo de la menopausia, aunque ocasionalmente los varones pueden padecer un cuadro similar (relación mujer/varón de 6:1). Afecta fundamentalmente al hueso trabecular, motivo por el que en este tipo de osteoporosis las fracturas predominantes son las de los cuerpos vertebrales.

Poco tiempo después de la menopausia el turnover óseo se incrementa<sup>294</sup>. Desde el punto de vista fisiopatológico, la privación estrogénica<sup>199</sup> y la consiguiente disminución de su acción directa sobre las células óseas<sup>220</sup>, junto a otros factores no conocidos condicionan esta pérdida ósea acelerada. Además, la deficiencia estrogénica puede inducir pérdida de calcio mediante un efecto indirecto sobre la homeostasis extraesquelética del calcio. Estos efectos indirectos incluyen la disminución de la absorción intestinal de calcio<sup>295</sup> y la disminución de la conservación renal de calcio<sup>296</sup>.

Esta disminución en los niveles séricos de estrógenos se acompaña de un aumento de las concentraciones séricas de gonadotrofinas, que comienza incluso antes de detectarse al descenso de estrógenos, indicando un decremento en el número de folículos y el cambio de la función ovárica<sup>297</sup>.

Otra forma importante de osteoporosis primaria, aunque menos frecuente es la **tipo II o senil**. Suele presentarse en personas mayores de 75 años, siendo la relación mujer/hombre de 2:1. La pérdida es de hueso trabecular y cortical.

La patogenia del proceso está determinada por la pérdida fisiológica de masa ósea, consecuencia de un desequilibrio en el turnover óseo, con una formación disminuida. Otro factor que se ha destacado en la patogenia es el descenso de los niveles séricos de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , que se produce con la edad, lo que acarrearía una disminución en la absorción de calcio y el consecuente desarrollo de una hiperfunción paratiroidea.

- **Osteoporosis secundaria** (Tabla VII).

De todas las causas citadas de osteoporosis, la más importante por su frecuencia es la primaria o involutiva y, dentro de ella, la secundaria a la menopausia. En conjunto representa el 90% del total de la osteoporosis.

Aparte de la clasificación clínica, existe otra clasificación basada en el patrón de remodelado óseo (turnover). Se basa en estudios de histomorfometría ósea <sup>298</sup>, marcadores bioquímicos e inmunológicos de recambio óseo <sup>299,300</sup>. Su interés radica en las posibles implicaciones terapéuticas que conlleva <sup>301</sup>.

Se distinguen:

**- Osteoporosis de alto turnover.**

Hay un aumento de la resorción ósea con el consecuente aumento compensador de la formación, pero sin llegar a equilibrar las pérdidas del hueso. Este grupo es representado por un 35% de osteoporosis postmenopáusicas, las denominadas “fast losers” (perdedoras rápidas) <sup>302</sup>.

Existen unas concentraciones aumentadas de los parámetros bioquímicos de resorción y formación ósea (BGP, b-AP, hidroxiprolina, Pyr y D-Pyr). La pérdida de masa ósea en este grupo es mayor.

Otros ejemplos de osteoporosis de alto turnover son la tirotoxicosis y el hiperparatiroidismo.

**- Osteoporosis de turnover normal.**

Hay un discreto aumento de la resorción ósea, con una formación discretamente disminuida. El patrón metabólico es indistinguible del patrón de remodelado óseo normal con los medios bioquímicos disponibles hoy día.

**- Osteoporosis de bajo turnover.**

Tanto la formación como la resorción ósea están disminuidas, aunque predomina el descenso de la primera. Es característica de la osteoporosis tipo II o la senil y la secundaria a ingesta etílica <sup>253</sup>.



## 2.10 OSTEODISTROFIA HEPÁTICA

La osteoporosis y, en mucha menor medida, la osteomalacia, son las enfermedades óseas asociadas a las hepatopatías crónicas, incluida la cirrosis hepática.

En términos genéricos, el desarrollo de estas enfermedades se ha definido como osteodistrofia hepática<sup>303,304</sup>.

En este contexto, ha de considerarse la patología ósea asociada a:

- Colestasis crónicas (Cirrosis biliar primaria).
- Hemocromatosis.
- Hepatitis crónicas (sobre todo autoinmune).
- Cirrosis hepática (alcohólica y vírica preferentemente).

Centrándonos en la cirrosis hepática, hay que resaltar que la mayoría de los estudios incluyen diversas etiologías conjuntamente (alcohólica, vírica, etc.), dando lugar a grupos muy heterogéneos. Esto imposibilita aclarar el papel de la cirrosis, independientemente del alcohol, o la importancia de la cirrosis vírica que no mantienen ingesta etílica elevada.

## CIRROSIS ALCOHÓLICA

Teniendo en cuenta los inconvenientes citados, en la cirrosis alcohólica, algunos autores han estudiado la masa ósea en estos enfermos y han encontrado entre un 20 y 45% de osteoporosis (usando diferentes criterios de definición) en estos enfermos<sup>305-307</sup>.

Entre los factores patogénicos referidos, intervienen en el desarrollo de osteopenia: el alcoholismo, la gravedad de la hepatopatía, el hipogonadismo, la hipovitaminosis, la malnutrición, etc<sup>305,308,309</sup>.

En cuanto al tipo de remodelado (turnover) de la osteoporosis en la cirrosis alcohólica, los resultados son igualmente dispares, señalando la

mayoría una osteoporosis de bajo turnover<sup>305,310,311</sup>, mientras para otros (los menos) sería de alto turnover<sup>312</sup>.

## **CIRROSIS VÍRICA**

La cirrosis vírica no ha recibido gran atención en el estudio de la masa ósea. Como en el caso anterior, la mayoría de los trabajos contemplan grupos de pacientes muy heterogéneos (se mezcla el sexo, diferentes etiologías causantes de cirrosis, etc.) y no se considera como factor discriminativo la cantidad y duración de la ingesta etílica.

Así, un grupo italiano estudia 20 pacientes con cirrosis hepática no alcohólica (algunos son víricos) en estadio B de la clasificación de Child-Pugh. Encuentra niveles descendidos de BGP, testosterona y disminución de la masa ósea, concluyendo que la osteoporosis de la cirrosis es de bajo turnover debido al hipogonadismo<sup>313</sup>.

En un estudio comparativo de la densidad mineral ósea en 33 pacientes candidatos a trasplante hepático, el porcentaje de cirrosis vírica era del 30% (10 casos), sin especificarse la ingesta etílica asociada. Encuentran masa ósea disminuida en estos enfermos<sup>314</sup>.

Nasava M et al<sup>315</sup>, estudiaron la prevalencia y patogenia de la patología ósea en pacientes candidatos a trasplante hepático. El número de sujetos con cirrosis vírica era de 39 (aprox. 60%). La prevalencia de osteoporosis fue del 45%. Se observaron niveles disminuidos de BGP, 25(OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub>, PTH intacta e hipogonadismo.

Gallego Rojo et al<sup>316</sup>, estudiaron un grupo de varones con cirrosis vírica y encontraron un porcentaje de osteoporosis de 37,5% en columna lumbar y de 34,37% en cuello femoral.

## 2.11 ESTUDIO Y DIAGNÓSTICO DE LA OSTEOPOROSIS

### A. EVALUACIÓN CLÍNICA

La mayoría de los pacientes con osteoporosis no presentan signos clínicos específicos, aparte de la cifosis, que puede observarse en los pacientes con una osteoporosis vertebral avanzada. Es muy frecuente incluir el dolor como un síntoma osteoporótico, especialmente cuando es difuso <sup>231,317</sup>. La clínica de las fracturas periféricas es la misma que las de las fracturas de la misma localización no osteoporóticas <sup>96,318</sup>, lo que las distingue es el hecho de que la fractura osteoporótica se produce ante un traumatismo menor. Por lo demás, el paciente presenta dolor, impotencia funcional y deformidad.

Las fracturas relacionadas característicamente con la osteoporosis son las de la extremidad proximal del fémur, las vertebrales y las del antebrazo distal (fractura de Colles), aunque generalmente, todas las fracturas que se producen en el anciano se deben a la osteoporosis. La fractura vertebral es la manifestación clínica más común de la osteoporosis y la más grave es la de cadera.

Los factores de riesgo clínico para la osteoporosis <sup>230,231,235</sup> pueden identificarse en la anamnesis y constituyen una forma sencilla de identificar a los pacientes en los que es necesario un estudio adicional mediante densitometría ósea <sup>234</sup>, (Tabla VIII).

Tabla VI: Indicaciones de la densitometría ósea.

<b>Déficit de hormonas sexuales</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Mujeres postmenopáusicas menores de 65 años y con factores de riesgo.</li> <li>- Mujeres de 65 años o mayores.</li> <li>- Hombres de 70 años o mayores.</li> <li>- Amenorrea secundaria (&gt;1 año)</li> <li>- Hipogonadismo</li> <li>- Anorexia nerviosa</li> </ul>
<b>Enfermedad coexistente</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Hiperparatiroidismo primario</li> <li>- Enfermedad inflamatoria crónica</li> <li>- Malabsorción</li> <li>- Trasplante de órganos</li> <li>- Inmovilización</li> </ul>
<b>Tratamiento farmacológico asociado con baja masa ósea o pérdidas óseas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Corticosteroides (prednisona &gt;7,5 mg/día durante más de 3 meses)</li> <li>- Agonistas de GnRH...</li> </ul>
<b>Signos clínicos de osteoporosis</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Osteopenia radiológica</li> <li>- Fractura por fragilidad previa</li> </ul>
<b>Factores de riesgo clínicos</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Bajo peso corporal (IMC&lt;20)</li> <li>- Tabaquismo</li> <li>- Consumo excesivo de alcohol</li> <li>- Antecedentes de fractura de cadera</li> </ul>

Deben recogerse antecedentes de osteoporosis, especialmente de madres y hermanas, así como de otros miembros de la familia, ya que aunque no es hereditaria existe un indudable factor genético.

Deben recogerse datos sobre los estilos de vida: consumo de tabaco, consumo de drogas, actividad física realizada diariamente y hábitos nutricionales. Los pacientes con anorexia nerviosa <sup>319</sup>, malnutridos <sup>209</sup> y con efectos de malabsorción tienen más prevalencia de fracturas que los controles <sup>269</sup>. Debe también investigarse el consumo de productos lácteos y derivados, que son la principal fuente de calcio <sup>243</sup>.

En la mujer debe recogerse al edad de la menopausia (añadiendo 1 año a la última menstruación) <sup>320</sup> y si se produjo de manera natural o quirúrgica, la edad de la menarquía, la existencia de episodios prolongados de amenorrea, el número de embarazos y la lactancia natural.

Además, debe investigarse sobre el consumo de fármacos que se han asociado a alteraciones del metabolismo mineral.

A todo paciente afecto o con sospecha de osteoporosis debe realizarse una exploración global.

Como consecuencia de las microfracturas vertebrales se produce disminución de la talla, cifosis dorsal ("joroba de la viuda") que lleva a un contacto de las costillas con las crestas ilíacas. Cuando se produce colapso vertebral aparece dolor local que limita la capacidad funcional para la movilidad.

Por último, signos de otras enfermedades asociadas a osteoporosis ("cara de luna llena", estrías vinosas y obesidad en el síndrome de Cushing, etc).

## **B. DENSITOMETRÍA ÓSEA**

La densitometría ósea es la exploración complementaria de primera elección para la evaluación de los pacientes en que se considera que existe un riesgo de osteoporosis. Esta técnica ayuda de manera importante al diagnóstico de osteoporosis, pero sin ser definitiva. Así, la ultrasonografía y los marcadores de remodelado óseo, nos ofrecen aspectos del hueso que pudieran estar relacionados con la calidad. La Radiología convencional y la evaluación de los factores de riesgo nos ayudan a realizar un correcto diagnóstico de la osteoporosis, y lo que es más importante, predecir el riesgo de fractura.

Cuando hablamos de densitometría ósea nos referimos a la absorciometría de rayos X de energía dual (DXA) que se basa en el principio

de que el calcio del mineral óseo atenúa el paso de los rayos X a través del tejido óseo.

Las determinaciones de la densidad mineral ósea en la cadera y en columna vertebral se consideran el “patrón de referencia” para el diagnóstico de la osteoporosis. Una baja DMO aumenta el riesgo de sufrir fracturas, principalmente en la localización medida,<sup>321,322</sup> aunque también en otras localizaciones<sup>323</sup>.

Como ventajas de la DXA destaca la baja radiación, la alta precisión y el corto tiempo de exposición.

Una vez obtenidos los valores de referencia, se comparan con el valor de referencia para su edad, sexo y lugar de medición, estableciendo el número de desviaciones estándares que se aleja de la media correspondiente, tanto en sentido positivo (DMO por encima de la media) como negativo (DMO por debajo de la media). Es lo que se llama **Z-score**. Cuando menor es la Z-score, mayor es el riesgo de fractura.

El interés de conocer el valor de masa ósea radica en que nos ayuda a predecir el riesgo de fractura, pero este riesgo aumenta con la edad. Es decir, una mujer con 70 años y masa ósea normal para su edad no tiene el mismo riesgo de fractura que otra mujer de 40 años con masa ósea también normal para su edad. Para introducir en la valoración de la masa ósea el “riesgo por la edad”, se estableció la **T-score**, mediante la cual se compara el valor de la masa ósea con el valor medio más alto obtenido a lo largo de la vida (“pico de masa ósea”). La T-score se corresponde con el número de desviaciones estándares que se aleja de este pico de masa ósea, tanto en sentido positivo como negativo.

Las utilidades clínicas de la medición de la masa ósea son el diagnóstico de una masa ósea baja, la predicción de fracturas y la vigilancia seriada<sup>324</sup>.

## C. MARCADORES BIOQUÍMICOS DE RECAMBIO ÓSEO

El recambio óseo puede evaluarse bioquímicamente mediante la determinación de las concentraciones séricas y/o urinarias de factores que son secretados por los osteoblastos durante la formación ósea o liberados por la matriz ósea durante la resorción.

Así, los marcadores bioquímicos de recambio óseo pueden dividirse en:

- **Marcadores de resorción ósea:** los más comúnmente utilizados son los que miden los enlaces cruzados del colágeno y son liberados por el hueso cuando éste sufre una resorción por la actividad de los osteoclastos. Es posible determinar las concentraciones de enlaces cruzados libres que unen las moléculas de colágeno (piridinolina o desoxipiridinolina) o los enlaces cruzados que permanecen unidos a los fragmentos terminales N y C de la cadena de colágeno (enlaces cruzados telopeptídicos, NTX y CTX).

- **Marcadores de formación ósea:** se utilizan dos grandes tipos de marcadores de la formación ósea: las proteínas que son liberadas por los osteoblastos, como la osteocalcina (BGP) y fosfatasa alcalina, y los fragmentos de propéptidos de colágeno, que proceden de la fragmentación del colágeno durante el depósito de matriz.

Los marcadores bioquímicos reflejan el recambio óseo, y se ha observado que los valores elevados de algunos de ellos predicen el riesgo de fracturas<sup>325</sup>.

### MARCADORES DE RESORCIÓN ÓSEA

#### 1. Cociente calcio / creatinina en orina

Es un mal marcador de resorción ósea, ya que tiende a reflejar más la absorción de calcio que la resorción ósea<sup>326</sup>.

## 2. Cociente hidroxiprolina / creatinina en orina

Durante la degradación del colágeno, la hidroxiprolina del hueso es liberada al suero en forma libre, y como puentes oligo y polipéptidos. La forma libre se excreta por la orina, aunque es totalmente reabsorbida y degradada en el hígado, mientras que las formas ligadas se excretan totalmente por la orina<sup>361</sup>.

Los inconvenientes de la hidroxiprolina como marcador de resorción son muchos. Una proporción significativa procede de la degradación del colágeno no óseo. Es necesaria una dieta estricta exenta de carne y gelatinas los dos días previos a la toma de la muestra, para eludir el colágeno exógeno, cuya absorción intestinal es muy rápida<sup>328</sup>. Además, aumenta en enfermedades que cursan con fibrosis, como la cirrosis hepática.

## 3. Puentes intermoleculares del colágeno, piridinolina (Pyr) y deoxipiridinolina (D-Pyr)

Las moléculas de colágeno se unen entre sí a través de puentes de unión covalentes. La estructura de estas moléculas varía entre los diferentes tipos de colágeno y sus localizaciones.

Las piridinolinas no se degradan durante el proceso de resorción ósea, pero circulan en sangre como partes de los fragmentos de los péptidos aminoterminales tras la degradación del colágeno. Posteriormente, son excretadas por la orina en su forma libre (aproximadamente el 30 %) y como forma unida al péptido aminoterminal (70%)<sup>329</sup>.

La Pyr (formada por dos residuos de hidroxilisina y uno de lisina) se localiza en el hueso y el cartílago y, en pequeñas cantidades, en otros tipos de colágeno<sup>330</sup>. Por el contrario, la D-Pyr (formada por tres residuos de hidroxilisina) se acepta como específica del hueso y la dentina<sup>330,331</sup>.

Se ha encontrado una excelente correlación entre la excreción urinaria de Pyr y D-Pyr, y los índices de resorción ósea medidos con cinética de calcio<sup>332</sup>. También se ha encontrado una buena correlación entre las piridinolinas y la



superficie de resorción ósea medidas con técnicas histomorfométricas en la osteoporosis, que las defienden como uno de los mejores marcadores de resorción ósea actualmente disponibles <sup>326</sup>.

Las piridinolinas, y sobre todo la D-Pyr, son un marcador más sensible que la hidroxiprolina para valorar la destrucción ósea, encontrándose aumentadas en pacientes afectados de osteoporosis, Enfermedad de Paget e hipertiroidismo y, presentando además, importantes ventajas sobre ella <sup>333,334</sup>.

- Mínima o nula contribución del colágeno no óseo.
- Sólo contribuye el colágeno maduro.
- No se afecta la dieta previa a la muestra.
- se realiza en muestras de micción aislada.

Por otro lado, en los enfermos con insuficiencia renal crónica e importante hiperparatiroidismo secundario no se observa aumento de D-Pyr debido posiblemente a su eliminación urinaria <sup>334</sup>.

#### 4. Péptidos terminales (telopéptidos) del colágeno

- *Péptido carboxiterminal del colágeno I sérico (ITCP)*: constituye la fracción conjunta, consecuencia de la rotura de la molécula de colágeno, de las regiones carboxiterminal de las cadenas  $\alpha 1$  y los puentes de piridinolinas. La cuantificación sérica se correlaciona con índices de resorción ósea medida por histomorfometría o cinética del calcio <sup>333</sup>.

- *Péptido aminoterminal del colágeno tipo I en orina (INTP-NTX)*: está constituido por el telopéptido aminoterminal tras la degradación del colágeno óseo, de las cadenas  $\alpha 1$  o  $\alpha 2$  y los puentes de piridinolinas. Se dispone en la actualidad de un ELISA monoclonal para su cuantificación en orina.

#### 5. Fosfatasa ácida tartrato resistente (TRAP)

Las fosfatasas ácidas son un grupo de enzimas lisosomales que se localizan en la próstata, hueso, plaquetas, hematíes y bazo.

En el hueso es producida por los osteoclastos.

La TRAP varía con el recambio óseo, aumentando en situaciones donde la resorción está aumentada.

En la práctica clínica no es un buen marcador de resorción ósea ya que es fácil la contaminación de otras fuentes celulares. Además, la liberación de TRAP no necesariamente refleja la actividad osteoclástica, como se desprende de los altos niveles que se detectan en la osteoporosis tipo II (enfermedad que cursa con disminución de la resorción).

## **MARCADORES DE FORMACIÓN ÓSEA**

### **1. Fosfatasa alcalina total (FAT) y fosfatasa alcalina isoenzima ósea (b- AP)**

La fosfatasa alcalina total sigue siendo el marcador de formación ósea más usado en la práctica clínica diaria. En el suero se detectan normalmente tres isoenzimas que comparten los mismos genes.

Las isoenzimas óseas y hepática se distinguen solamente por diferencias sutiles y son los principales constituyentes de la actividad total de la fosfatasa alcalina en suero. En un 25% de los sueros analizados, Langmann <sup>335</sup> encuentra una pequeña cantidad de isoenzima intestinal que puede aumentar tras la ingesta.

Las enfermedades óseas que cursan con aumento de la FAT y donde puede ser de utilidad son: hiperparatiroidismo primario, Enfermedad de Paget, raquitismo, osteomalacia, hipertiroidismo.

En la osteoporosis los resultados son muy variables. Esto, junto con la escasa sensibilidad y especificidad, la descartan como buen marcador de formación ósea <sup>336</sup>.

La b-AP constituye aproximadamente el 50% de la FAT sérica. Su vida media es de aproximadamente 24-48 horas, con un ritmo circadiano con picos por la tarde-noche <sup>337</sup>.

La función exacta de la b-AP no es conocida. Los estudios más recientes apoyan su importancia en la fase inicial de la mineralización ósea, madurando la matriz orgánica<sup>338</sup>. Es excretada por el hígado y su aclaramiento puede alterarse en enfermedades hepáticas con colestasis importante como la cirrosis biliar primaria<sup>339</sup>.

La b-AP constituye un buen parámetro, sensible y específico, de formación ósea, sobre todo con la aplicación de los métodos de detección serológica por radioinmunoanálisis<sup>340</sup>.

## 2. Osteocalcina (Bone Gla-protein, BGP).

Es la proteína no colagenosa más abundante de la matriz orgánica del hueso (aproximadamente un 25%). Constituida por 49 aminoácidos, con un peso molecular de 5800 D (daltons), con la característica de poseer tres residuos de ácido  $\gamma$ - carboxiglutámico, mediante una reacción vitamina K dependiente. Esto parece atribuirle una gran afinidad por los cristales de hidroxiapatita<sup>341</sup>. Es producida fundamentalmente por los osteoblastos y odontoblastos.

La secreción de osteocalcina es altamente dependiente del calcitriol, que una vez sintetizada es incorporada a la matriz ósea. Su vida media en plasma es corta, de aproximadamente 10-70 minutos y su excreción es rápida por filtración glomerular<sup>342</sup>. Sus concentraciones séricas varían con la edad y el sexo. Así, hay un pico durante la pubertad en ambos sexos, alcanzándose los niveles del adulto a partir de los 20 años de edad<sup>343</sup>.

En la edad adulta, los niveles suelen ser mayores en los hombres que en las mujeres premenopaúsicas, situación que se invierte tras la menopausia. Las concentraciones de osteocalcina, además, siguen un ritmo circadiano, con niveles más altos entre las cuatro y ocho de la mañana, para posteriormente disminuir a lo largo del día. No se conocen los factores reguladores de este ritmo.

El significado fisiológico de la osteocalcina permanece oculto. Parece tener un papel en fases tardías de la mineralización, a diferencia de la b-AP<sup>326, 333</sup>.

Niveles elevados de osteoclastina se encuentra en enfermedades con aumento de la actividad osteoblástica como la Enfermedad de Paget, osteoporosis de alto turnover (osteoporosis postmenopausica, hipertiroidismo, hiperparatiroidismo y acromegalia<sup>334</sup>).

Niveles descendidos se aprecian en la corticoterapia, malnutrición, hipotiroidismo, enfermedades malignas, hipoparatiroidismo e ingesta aguda o crónica de alcohol<sup>253</sup>.

### 3. Péptidos del procolágeno

Pueden medirse mediante radioinmunoanálisis (RIA) las concentraciones séricas de péptidos terminales del procolágeno I, el carboxiterminal (PICP) y el aminoterminal (PINP).

El más utilizado es el primero<sup>346</sup>. La vida media del PICP es muy corta, y parece existir una clara variación circadiana con concentraciones 20% superiores por la noche.

Algunos autores resaltan la baja especificidad del PICP frente a la BGP y la b-AP<sup>347</sup>.

## **UTILIDAD DE LOS PARÁMETROS BIOQUÍMICOS DE RECAMBIO ÓSEO**

- *Utilidad como screening de determinadas enfermedades óseas (p.ej la b-AP en la osteomalacia).*

- *Evaluación del turnover, con relación a la decisión terapéutica.*

En las enfermedades que cursan con disminución de la masa ósea secundarias a un recambio óseo elevado, como ocurre en la osteoporosis postmenopáusica altos niveles de BGP y D-Pyr, la elección terapéutica debe ir encaminada a usar agentes que disminuyan la resorción ósea como los estrógenos, bifosfonatos o calcitonina<sup>348</sup>.

En enfermedades de bajo turnover, en donde la formación ósea está disminuida, los agentes de elección deben ser sustancias estimuladoras de la formación de hueso, como fluoride, PTH a bajas dosis e intermitentes, o la hormona del crecimiento.

- *Monitorización del tratamiento.* Los marcadores bioquímicos de recambio óseo son muy útiles para monitorizar cambios longitudinales en el recambio óseo con relación a diferentes regímenes terapéuticos. Así, varios estudios han demostrado que el tratamiento de estrógenos disminuye el recambio óseo, lo que se refleja en la disminución de la osteocalcina, la b-Ap y PICP, así como la D-Pyr<sup>349</sup>.

## D. BIOQUÍMICA Y HEMATOLOGÍA ESTÁNDARES

Debe incluirse una valoración de la función tiroidea, pruebas de función hepática, bioquímica cálcica, proteínas séricas, hemograma completo y velocidad de sedimentación globular (VSG), para identificar posibles causas de osteoporosis.

En las mujeres jóvenes que presentan amenorrea deben determinarse el estriol y las gonadotropinas séricas. Estas pruebas no son necesarias en mujeres con osteoporosis postmenopáusica clara.

## 2.11 OSTEOPOROSIS EN VARONES

A la osteoporosis en los varones se le ha prestado poca atención durante muchos años, a pesar de que el 30% de las fracturas de cadera y el 20% de las fracturas vertebrales se producen en varones.

Es frecuente la osteoporosis secundaria y suponen hasta un 50% de los casos de osteoporosis masculina<sup>350</sup>.

Las causas más frecuentes son el hipogonadismo, el uso de glucocorticoides, el alcoholismo, las neoplasias o una combinación de estos factores. Se han identificado otros factores de riesgo de baja masa ósea en

encuestas epidemiológicas entre los que se encuentran el bajo peso corporal, la gastrectomía, la hipertensión, el tabaquismo, las enfermedades respiratorias crónicas y la enfermedad ulcerosa péptica <sup>351</sup>.

La patogenia de la osteoporosis en los varones no se conoce tan bien como en las mujeres, pero existen factores de riesgo comunes:

- Las hormonas sexuales desempeñan un papel importante en la regulación de la masa ósea en los varones. El hipogonadismo durante el crecimiento esquelético se asocia a una masa ósea máxima baja y a un aumento de la pérdida ósea en la edad adulta.

Aunque tradicionalmente se han considerado a los andrógenos como los moduladores más importantes de la salud ósea del varón, cada vez hay más datos que sugieren que las manifestaciones óseas del déficit de andrógenos pueden deberse a un déficit de estrógenos en el tejido óseo, debido a la conversión de los andrógenos a estrógenos en los tejidos periféricos por la acción de la aromatasa <sup>352</sup>.

- Los factores genéticos también desempeñan un papel importante en la regulación de la DMO en los varones. Así, en estudios familiares, los antecedentes familiares de osteoporosis se asocian a baja masa ósea <sup>353</sup> y en estudios sobre gemelos se ha podido observar una mayor contribución genética al riesgo de fracturas en varones que en mujeres <sup>354</sup>.

La técnica de elección para el diagnóstico de osteoporosis masculina es la densitometría ósea, aunque los valores de puntuación T-score a los que debe iniciarse tratamiento no se han definido tan claramente como en mujeres.

El estudio de las causas secundarias de osteoporosis es especialmente importante, puesto que éstas son frecuentes en los varones con osteoporosis:

- Análisis bioquímico y hematológico estándar.
  - Pruebas de función hepática.
  - Bioquímica del calcio.

- Determinación de proteínas séricas.
- Determinación de la función tiroidea.
- Hemograma completo
- VSG
- Testosterona sérica.
- Gonadotropinas.
- Inmunoglobulinas (detección de enfermedad inflamatoria y del mieloma).
- Otros estudios endocrinos si se sospechan trastornos hipofisarios o suprarrenales.

## ***II. OBJETIVOS***





Se conoce que la cirrosis hepática provoca pérdida de masa ósea en varones. Sin embargo, los mecanismos de pérdida de masa ósea en pacientes con cirrosis hepática vírica no se conocen.

Los objetivos de nuestro estudio son los siguientes:

1. Evaluar el papel del sTNFR-55 en la patogénesis de la osteoporosis en pacientes con cirrosis hepática viral.
2. Estudiar la relación existente entre los niveles séricos de sTNFR-55 y los marcadores de turnover óseo.



### ***III. MATERIAL Y MÉTODOS***



## II. MATERIAL Y MÉTODOS

### 1. MATERIAL

Nuestra casuística está constituida por 66 varones. De ellos, 40 eran portadores de una cirrosis hepática de origen viral, con edades comprendidas entre 35 y 73 años, media de 59 años, y 26 eran controles sanos no bebedores, con edades comprendidas entre 35 y 72 años, media de 58 años. De los 40 pacientes, 31 tenían anticuerpos frente al virus de la hepatitis C, y 9 el antígeno de superficie del virus B. Todos ellos tenían un BMD  $> 20 \text{ kg/m}^2$ . Cinco pacientes tenían ascitis.

El diagnóstico de cirrosis hepática se realizó mediante biopsia hepática en 32 de los pacientes, en los 8 pacientes restantes se basó en el seguimiento clínico, datos de laboratorio (descenso de la actividad de protrombina, hipoalbuminemia, gammapatía policlonal y trombopenia), hallazgos clínicos evidentes como la presencia de signos físicos de hepatopatía crónica, la presencia de ascitis, la evidencia de varices esofágicas en la gastroscopia y signos ecográficos de cirrosis hepática (relación caudado/LHD  $> 0,65$ , esplenomegalia). Los casos que no reunían la asociación de estos tres criterios clínico, analítico y de imagen, fueron excluidos del estudio.

El grupo control lo formaron 26 voluntarios varones sanos, con edades comprendidas entre 35 y 72 años, media de 58 años. Ninguno consumía más de 60 gramos de etanol/semana. A este grupo, se le comprobó el estado de salud mediante una historia clínica detallada, exploración física general y estudio analítico básico (hemograma, VSG, actividad de protrombina, orina elemental y sedimento, determinación del calcio, urea, creatinina, glucemia basal, colesterol, ácido úrico, proteínas totales, albúmina, bilirrubina directa, bilirrubina indirecta, fosfatasa alcalina, AST (GOT), ALT (GPT), GGT, así como las exploraciones con técnicas de imagen que requirió cada caso.

## CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Se excluyeron del estudio los pacientes cirróticos portadores de enfermedades que afectan a la masa ósea o el metabolismo mineral: malignas, endocrinometabólicas, cardíacas y pulmonares y otras enfermedades óseas, a excepción de la osteoporosis.
- Pacientes con signos físicos de hipogonadismo (ginecomastia, atrofia testicular).
- Pacientes con ingesta de alcohol superior a 20 gr etanol a la semana.
- Pacientes con valores séricos de creatinina > 0,15 mmol/L.
- Pacientes que hubieran recibido calcio, vitamina D, corticosteroides u otra medicación relacionada con el metabolismo mineral.

La toma de diuréticos (espironolactona y/o furosemida) no se consideró criterio de exclusión.

La totalidad de los pacientes y los sujetos controles recibieron información completa del estudio y dieron consentimiento para participar en el estudio. El protocolo fue aceptado por el comité ético de nuestro hospital.

## CLASIFICACIÓN DE LOS PACIENTES

Los pacientes fueron clasificados en grupos atendiendo a la gravedad de la cirrosis basada en la clasificación de Child-Pugh<sup>355</sup> y la presencia o ausencia de osteoporosis.

l) **Atendiendo a la GRAVEDAD DE LA CIRROSIS**, clasificamos a los pacientes en tres grupos: *Grupo A*: 16 pacientes, con media de edad de 57 años (rango 37-67 años); *Grupo B*: 14 pacientes, media de edad de 59 años (rango 42-73 años); *Grupo C*: 10 pacientes, media de edad 61 años (rango 46-70 años).

II) **Atendiendo a la PRESENCIA O AUSENCIA DE OSTEOPOROSIS:**

a) *Pacientes cirróticos víricos con osteoporosis:* T-score de la densitometría ósea  $\leq -2,5$ . Constituido por 22 (56%) pacientes: 6 (38,2%) del grupo Child A, 8 (58,3%) del grupo Child B y 7 (65,8%) del grupo Child C.

b) *Pacientes cirróticos víricos sin osteoporosis:* T-score de la densitometría ósea  $> -2,5$  DS. Constituido por 18 (44%) pacientes: 10 (61,8%) del grupo Child A, 6 (31,7%) del grupo Child B y 3 (34,2%) del grupo Child C.

## 2. MÉTODOS

### 2.1 DETERMINACIÓN DE LA INGESTA ETÍLICA Y OTROS HÁBITOS EN RELACION CON NUESTRO ESTUDIO.

A todos los sujetos pertenecientes al estudio, se les interrogó acerca de sus hábitos etílicos (ingesta diaria de alcohol, tipo de bebida, cantidad e inicio de la ingesta). En la mayoría de los casos, las respuestas fueron contrastadas con un interrogatorio al familiar más directo.

Se les interrogó sobre sus hábitos de vida y sus antecedentes patológicos.

La actividad física se valoró mediante un sistema de puntuación de 1 a 3 (1: Actividad intensa, 2: Media, 3: Sedentaria), la existencia de fracturas espontáneas o patológicas, consumo de tabaco expresado con la puntuación de 1 a 4 (1: No fumador, 2: Fumador de menos de 20 cigarrillos al día, 3: Fumador de más de 20 cigarrillos al día y 4: Exfumador) y la ingesta habitual de medicamentos.

Como parámetro nutricional se utilizó el *índice de masa corporal (IMC)*, cuya fórmula es  $\text{Peso (Kg)}/\text{Talla}^2 \text{ (m)}$ . Sus valores normales oscilan entre 19 y 25.



## 2.2 SEROLOGÍA VIRUS DE LA HEPATITIS (VHA, VHB, VHC).

A todos los sujetos se les realizó serología completa de los virus B y C de la hepatitis mediante el uso de kits comerciales.

## 2.3 DATOS DE LABORATORIO

Las extracciones de sangre y orina se realizaron tras 8 horas de ayuno, a primera hora de la mañana.

1) Parámetros determinados en las muestras de sangre: hemograma completo y actividad de protrombina, urea, creatinina, proteínas totales, albúmina, calcio, AST, ALT, bilirrubina directa e indirecta, GGT, fosfatasa alcalina (FA), fosfatasa alcalina isoenzima ósea (b-AP), receptor soluble del factor de necrosis tumoral (sTNFR-P55), parathormona molécula intacta (PTH), osteocalcina (BGP), 25-hidroxivitamina D3 (25 OH D), factor de crecimiento insulinoide tipo I (IGF-I), testosterona total, y globulina transportadora de esteroides sexuales (SHBG).

2) En las muestras de orina se determinó: calcio, creatinina y deoxipiridinolina libre.

## 2.4 DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA: DENSITOMETRÍA ÓSEA (DXA)

A cada paciente se le realizó una densitometría ósea por absorciometría dual de Rx (DXA) en columna lumbar y cuello femoral, empleándose para ello el densitómetro óseo de rayos X modelo Hologic QDR-1000<sup>TM</sup>, que utiliza radiografías digitales cuantitativas para medir de forma exacta y rápida el contenido mineral óseo (DMO) en gramos/cm<sup>2</sup> en las localizaciones mencionadas.

El densitómetro Hologic QDR-1000<sup>TM</sup> utiliza rayos X de dos niveles de energía diferentes para representar y medir el contenido mineral óseo de la columna lumbar y fémur. Los tejidos blandos que se encuentran en el área de examen son sustraídos y sólo se miden y representan los huesos.

Con el método QDR, los tejidos blandos no ejercen un efecto sustancial sobre el cálculo de la densidad mineral ósea, por lo tanto, los resultados son exactos para la mayoría de las medidas de pacientes en el área anatómica deseada. La precisión es superior al 1% (Coeficiente de variación- C.V.: 1.0% con DMO: 1.0 gr/cm<sup>2</sup>) y la resolución espacial de 1.5mm.

Para nuestro estudio se realizaron mediciones en el cuello femoral (FN) y en columna lumbar (LS) en las vértebras lumbares L<sup>2</sup>, L<sup>3</sup>, L<sup>4</sup> (L<sup>2</sup>-L<sup>4</sup>).

La prueba se realiza en un periodo de tiempo inferior a 25 minutos y la radiación para el paciente es aproximadamente de 2.0- 5.0 mR, lo que equivale a la décima parte de la radiación recibida en una radiografía simple de tórax.

Para realizar la exploración, el sujeto permanece en decúbito supino en la mesa de exploración. En la columna lumbar se coloca un bloque de espuma de aproximadamente 30 cm de altura para disminuir la lordosis fisiológica lumbar. Esto permite mejorar la capacidad para individualizar las vértebras de la columna a la superficie de la mesa. Para la medición del fémur derecho, se utiliza un dispositivo, que situando el pie en rotación interna, con la pierna extendida, asegura una óptima angulación del fémur.

Como valores de referencia del aparato de medición Hologic QDR, tanto para el cuello de fémur como para la columna lumbar, se han empleado los suministrados por las mediciones realizadas en voluntarios de la Universidad de California, empleados de las instalaciones Hologic en Walthman, Massachussets. Los datos se obtienen para las distintas edades y localizaciones mediante tablas.

Para la comparación de la densidad mineral ósea (DMO) entre los pacientes cirróticos de los diferentes grupos del estudio, se utilizó el valor Z-score DMO de las localizaciones de interés, que representa el número de desviaciones estándar (DS) de la DMO con respecto a la población control del aparato, corregido para la edad y sexo, y cuya fórmula se expresa a continuación:

$$\text{Z-score} = \frac{\text{DMO paciente} - \text{media DMO sujetos normales}}{\text{DS de la media DMO en sujetos normales}}$$

Para las comparaciones de los valores de Z-score entre los pacientes cirróticos y controles, se utilizaron los valores Z-score de un grupo español de referencia constituido por 1221 hombres y 1331 mujeres<sup>356,391</sup>.

Ninguno tenía una historia relevante de enfermedad ósea o metabólica ni tomaba medicación con efectos negativos sobre el metabolismo óseo.

Para el diagnóstico de osteoporosis se han requerido los criterios de la OMS<sup>100</sup> que recomendó una definición de osteoporosis basada en mediciones de densidad mineral ósea (DMO) en unidades de desviación estándar llamadas T-score. El T-score se calcula considerando la diferencia entre la medida de la DMO en el paciente y la media de DMO en adultos jóvenes sanos de edad de pico máximo de masa ósea, del mismo sexo y grupo étnico. La fórmula que define el valor T-score es:

$$\text{T-score} = \frac{\text{DMO paciente} - \text{DMO a los 20-29 años (población normal)}}{\text{DS de la media DMO a los 20-29 años (población normal)}}$$

Basándose en todos estos datos se realizó un protocolo que incluía las variables:

- Edad.
- Índice de masa corporal (IMC).
- Gramos/alcohol/día.
- Estadio de Child-Pugh.
- Determinaciones en muestras de sangre:
  - sTNFR-55 (receptor soluble del factor de necrosis tumoral P-55).
  - Actividad de protrombina.
  - Proteínas totales en suero.

- Albuminemia.
  - Creatinina sérica.
  - Bilirrubina directa e indirecta.
  - Calcemia.
  - AST.
  - ALT.
  - GGT.
  - Fosfatasa alcalina total sérica (FA).
  - Fosfatasa alcalina isoenzima ósea (b-AP).
  - Testosterona total.
  - Índice de testosterona libre (ITL).
  - Globulina transportadora de esteroides sexuales (SHBG).
  - Paratohormona molécula intacta (PTH).
  - Osteocalcina (BGP).
  - 25-hidroxivitamina D sérica (25 OH D).
  - Factor de crecimiento insulinoide tipo I (IGF-I).
- Determinaciones en orina:
- Excreción de calcio en ayunas.
  - Creatinina
  - Deoxipiridinolona libre
- Determinación de la densidad mineral ósea:
- Densidad mineral en el cuello femoral (valor Z-score en cuello femoral (FN)).
  - Densidad mineral de la columna lumbar (valor Z-score en columna lumbar (LS)).

Para obtener el índice de testosterona libre se utilizó la siguiente ecuación:

- **Índice de testosterona libre (ITL)** <sup>357</sup>:  
ITL: Testosterona total/SHBG x 100  
(SHBG: proteína transportadora de esteroides).

## 2.5 TÉCNICAS DE ENSAYO

La determinación de parámetros bioquímicos en sangre y orina (a excepción de hormonas y marcadores de remodelado óseo), incluidas las pruebas de función hepática, se realizaron mediante métodos analíticos estándar (*Technicom Instrument Corp., Taritown, New York*).

- **Receptor soluble del factor de necrosis tumoral (sTNFRp-55):** para su determinación se utilizaron kits comerciales para el receptor soluble p-55 del TNF, con un ensayo-inmunoquímica enzimática amplificada (sTNFR-RI EASIA) de Europa Biosource (niveles Bélgica).

- **Testosterona total:** para su determinación se utilizó un kit de radioinmunoensayo directo, facilitado por *SORIN Biomédica*, que utiliza el anticuerpo ligado a las paredes del tubo <sup>360</sup>. Los valores de referencia son 1,5-6,6 ng/ml en varones y 0-0,6 ng/ml en mujeres.

- **Globulina transportadora de hormonas sexuales (SHBG):** se determinó mediante un kit de ensayo radioinmunoquímico suministrado por *Fármos Diagnostica* (SF-90460 Oulunsalo, Finlandia). El procedimiento trata de un radioinmunoensayo de fase líquida, no competitivo <sup>396</sup>. Los valores de referencia son de 16-46 nmol/L en varones y de 20-50 nmol/L en mujeres.

- **Paratohormona intacta (PTH):** se determinó mediante la utilización de un kit para RIA suministrado por *Inmuno Nuclear Corporation* Cat. N° 5100R. Minnesota. (USA). Esta técnica mide específicamente el fragmento de PTH humana que contiene la secuencia de aminoácidos comprendidas entre 44-68, basándose en un anticuerpo sensible a dicha región <sup>362</sup>. Los valores de referencia proporcionados por dicho kit oscilan entre 29 y 85 pmol/L.

- **Osteocalcina (BGP):** fue determinada mediante un kit de RIA suministrado por *Inmuno Nuclear Corporation* (Cat. N° 1500. Stillwater, Minnesota 55082 USA). En esta técnica se utiliza como estándar y trazador BGP bovina, y como

anticuerpo anti-BGP humana de modo totalmente homólogo a la bovina <sup>363</sup>. Los valores de referencia suministrados para este kit se encuentran entre 1,8 y 6,6 ng/ml.

● **Factor de crecimiento insulinoide tipo I (IGF-I):** para su cuantificación se utilizó un kit de RIA indirecto en fase líquida suministrado por Nichols Institute Diagnostics, San Juan Capistrano, USA. Antes de realizar el RIA, se separan las proteínas transportadoras de IGF-I (IGBP-1 y 3), mediante una reacción de precipitación en alcohol ácido <sup>364</sup>. En esta técnica como estándar se utiliza IGF-I humana obtenida por ingeniería genética, y como trazador IGF-I marcada con  $I^{125*}$ , que compite con la IGF-I problema. Como antisuero se utiliza anti-IGF-I de conejo, que reconoce la IGF-I problema. Como pasos finales se administra como segundo anticuerpo un antisuero de cabra anti-suero de conejo.

Mediante una reacción de precipitación se separa el antígeno libre (que quedará en el sobrenadante) del ligado. Una vez eliminado el sobrenadante, se determina con una gammacámara la radiactividad existente en el precipitado, cuya cuantificación se corresponde de forma inversa a la cantidad de IGF-I en el suero problema (reacción inversa) <sup>365</sup>.

Los valores normales varían con la edad. En los adultos:

- 16-24 años: 182-780 ng/ml
- 25-34 años: 114-492 ng/ml
- 40-54 años: 90-360 ng/ml
- Mayores de 55 años: 71-290 ng/ml.

● **25- hidroxivitamina D (25-OH-D):** para su determinación se utilizó un kit comercial de radioinmunoensayo para competitivo indirecto en fase líquida, suministrado por INCSTAR Corporation, Stilwater, Minnesota, USA. Como estándar se utiliza 25-OH-D humana marcada con  $I^{125*}$ , que compite con el 25-OH-D del suero problema. Como antisuero se usa 25-OH-D de cabra, que reconoce a la 25-OH-D humana de forma homóloga. Finalmente, como

segundo anticuerpo se utiliza suero de burro-antisuero de cabra. Mediante una reacción de precipitación se separa el antígeno libre (25-OH-D libre), que quedará en el sobrenadante del ligado. Una vez eliminado el sobrenadante, se determina la radiactividad existente en el precipitado, cuya cuantificación se corresponde de forma inversa a la cantidad de 25-OH-D en el suero problema.

Los valores considerados normales en España varían según la región y estación del año (luminosidad). En nuestra zona se consideran valores normales entre 16 y 74 ng/ml.

● **Deoxipiridolina libre en orina (D-Pyr):** para su determinación se utilizó un kit comercial de ELISA competitivo en fase sólida (Pyrilinks), suministrado por Metra Biosystems, Ins, USA. La fase sólida está constituida por pocillos cubiertos con anti-deoxipiridolina monoclonal de ratón, que reacciona de forma homóloga con la D-Pyr humana. La D-Pyr de la muestra compite con un conjugado de D-Pyr / Fosfatasa alcalina por el anticuerpo. La reacción colorimétrica es detectada tras añadir p-nitrofenol-fosfato como sustrato. Al tratarse de una reacción inversa, la cantidad de color es inversa a la cantidad de D-Pyr de la muestra. Tras la corrección con la creatinina en orina, los valores de referencia en varones son de 2,5-5,5 nM de D-Pyr/mM de creatinina y de 2,5-6,5 en la mujer.

## 2.6 MÉTODOS ESTADÍSTICOS

### A. TEST DE HOMOGENEIDAD DE DOS MUESTRAS

De la casuística total, se aplicó a cada una de las variables del estudio el *test de Kolmogorov-Smirnov*, para comprobar su normalidad<sup>366</sup>. En este test la hipótesis nula consiste en que la variable se distribuya según la normal, y se rechaza cuando la significación de la prueba de dos colas (*2-tailedp*) sea menor que el nivel de significación prefijado, que para nosotros fue de  $\alpha$ : 0,05. Para la comparación de dos medias la normalidad de las variables fue condición indispensable para poder aplicar posteriormente el *test de la t de Student*<sup>367</sup>.

Cuando la variable no se ajustó a la normalidad, se aplicó el *test de Wilcoxon*<sup>368</sup>, que constituye un método no paramétrico con rango, válido para cualquier tipo de variable aleatoria.

En primer lugar, se compararon las variables en el grupo de pacientes (cirróticos de origen vírico) con respecto al grupo control.

Con el fin de conocer la influencia de la gravedad de la hepatopatía en la masa ósea, los sujetos se clasificaron según el estadiaje de Child-Pugh (Child A, B y C respectivamente). Las variables de cada grupo se compararon con las del grupo control, aplicando un *análisis de la varianza de una vía*. Este método se aplicó cuando las variables siguieron una distribución normal. El resultado del ANOVA se expresó mediante la probabilidad F de Snedecor, que si es menor que el nivel de significación prefijado obliga a rechazar la igualdad de las medias<sup>369</sup>. El resultado del test se interpretó con un nivel de significación  $\alpha$ : 0,05 ( $p < 0,05$ ).

Cuando el test fue significativo al nivel prefijado, se realizó posteriormente un test de la t de Student para comparar las medias de las diferentes variables.

Para aquellas variables que no seguían una distribución normal, o eran de tipo ordinal, se aplicó un ANOVA de una vía de Kruskal-Wallis. Este test consiste en una generalización del test de Wilcoxon para una comparación en bloque de un conjunto de muestras independientes.

## **B. TEST DE HOMOGENEIDAD DE DOS PORCENTAJES**

Para comparar las posibles diferencias en el porcentaje de osteoporosis en los distintos grupos según la gravedad de la hepatopatía, se utilizaron las pruebas de asociación e independencia de caracteres cualitativos o *test de la  $\chi^2$  de Pearson*.



Tras realizar una tabla de contingencia, la hipótesis nula es que la distribución de los valores en las celdas del experimento, a pesar de las desproporciones, son explicadas por el azar, y por tanto, los caracteres del estudio son independientes. Dicha hipótesis es rechazada cuando la distribución o las desproporciones no son explicadas por el azar.

En nuestro estudio, al tratarse de tablas de contingencia 2 x 2, cuando en una de las celdas existía una frecuencia de distribución < 5 %, el test de la  $\chi^2$  de Pearson no era aplicable, y se recurrió al *test exacto de Fischer* ( $\chi^2_{FISCHER}$ )<sup>370</sup>. Este test permite detectar la posible asociación en este tipo de tablas, de escasa muestra.

Cuando la tabla de contingencia, además de ser de tipo 2 x 2, estaba constituida por un número total < 200 individuos (como es nuestro caso), se realizó la denominada *corrección de continuidad o corrección de Yates* ( $\chi^2_{YATES}$ ). Esta consiste en modificar ligeramente las frecuencias obtenidas en las cuatro casillas para obligar que las diferencias entre los valores experimentales y teóricos queden artificialmente disminuidos. De esta forma se consigue que sea algo más difícil alcanzar un  $\chi^2$  significativo, aportando un mayor rigor a una prueba realizada con escaso número de individuos.

Para todos los casos, el nivel de significación prefijado fue de  $p < 0,05$ , con un intervalo de confianza del 95%.

### **C- ANÁLISIS DE CORRELACIÓN LINEAL SIMPLE**

Cuando la variable cuantitativa seguía una distribución normal, se calculó el *coeficiente de correlación de Pearson* ("r"), cuyo valor puede estar entre -1 y +1.

Cuando las variables no seguían una distribución normal, se calculó el *coeficiente de correlación de Spearman*, un test no paramétrico que permanece válido, cualquiera que sea la distribución de las variables que se correlacionan x e y.

Para ambos casos el nivel de significación prefijado fue de  $\alpha$ : 0,05 ( $p < 0,05$ ).

#### **D- ANÁLISIS DE REGRESIÓN LINEAL MÚLTIPLE**

En este método multivariante la variable dependiente es de tipo cuantitativo. Igualmente, el conjunto de variables independientes que pueden influir en la anterior y se someten a estudio, son de tipo cuantitativo.

Se utilizó este análisis porque se conoce que existen situaciones en biología, en que al hacer un test de correlación bivariante puede no resultar significación, pero cuando junto a esas dos variables iniciales, se introducen otras que influyen al sistema, se puede poner de manifiesto la correlación que antes no se veía. En nuestro estudio hemos establecido como variable dependiente la masa ósea y como variables independientes la cirrosis hepática. Posteriormente, se han añadido variables que se producen como consecuencia de la cirrosis y que pueden afectar al hueso, como son la edad, el grado de Child-Pugh, el índice de testosterona libre (FTI), los niveles séricos de 25 OH D<sub>3</sub>, los niveles de IGF-I, osteocalcina (BGP) y albúmina.



## ***IV. RESULTADOS***



### **III. RESULTADOS**

#### **A. TEST DE COMPARACIÓN DE MEDIAS**

Los resultados se expresan como valores medios  $\pm$  1 ESM (error estándar de la media). A continuación damos cuenta de los resultados de cada parámetro estudiado en los distintos grupos de pacientes.

##### **I) DATOS ANALÍTICOS:**

- **sTNFR<sub>55</sub> (ng/ml):** El valor medio en el grupo de cirróticos víricos (7,1  $\pm$  0,4) fue significativamente superior al hallado en el grupo control (1,4  $\pm$  0,2),  $p < 0,001$  (Tabla 1) (Figura 1).

Cuando se divide a los pacientes cirróticos víricos en los distintos grupos que se han considerado en este estudio, se obtienen los siguientes resultados:

1) **Atendiendo a la gravedad de la cirrosis:** El valor medio de sTNFR<sub>55</sub> en el grupo de cirróticos víricos Child A (4,5  $\pm$  0,32), Child B (7,7  $\pm$  0,9) y Child C (9,1  $\pm$  0,7) fue significativamente superior al compararlo con el grupo control ( $p < 0,001$  en todos los casos) (Tabla 2, 3 y 4 respectivamente).

Al comparar los distintos grupos de cirróticos, observamos que los niveles de sTNFR<sub>55</sub> eran más elevados en función de la severidad de la enfermedad hepática (Child A frente Child C,  $p < 0,01$  (Tabla 6); Child B frente Child C,  $p < 0,01$  (Tabla 7) (Figura 1).

2) **Presencia o ausencia de osteoporosis:** Los pacientes con cirrosis viral con osteoporosis tenían niveles séricos de sTNFR<sub>55</sub> más elevados que los pacientes con cirrosis viral sin osteoporosis (Figura 13).

- **ALBÚMINA SÉRICA (g/dl):** El valor medio en el conjunto total de los pacientes cirróticos víricos ( $3,54 \pm 0,32$ ) fue significativamente inferior al hallado en el grupo control ( $4,72 \pm 0,1$ );  $p < 0,001$  (Tabla 1) (Fig 2).

- 1) **Atendiendo a la gravedad de la cirrosis:** El valor medio de albúmina sérica en el grupo de cirrosis Child A ( $4,51 \pm 0,1$ ), Child B ( $3,57 \pm 0,13$ ) y Child C ( $2,53 \pm 0,16$ ) fue significativamente inferior al hallado en el grupo control, ( $p < 0,001$ ), (Tabla 2, 3 y 4 respectivamente) (Figura 2).

- 2) **Presencia o ausencia de osteoporosis:** No se observaron diferencias en la albúmina sérica entre el grupo de cirróticos víricos con osteoporosis respecto al grupo de cirróticos víricos sin osteoporosis.

- **PROTROMBINA (%):** El valor medio de protrombina en el conjunto total de los pacientes cirróticos víricos ( $73,7 \pm 5,3$ ) fue significativamente inferior al hallado en el grupo control ( $98,6 \pm 0,4$ );  $p < 0,001$  (Tabla 1) (Figura 3).

- 1) **Atendiendo a la gravedad de la cirrosis:** El valor medio en el grupo de cirrosis vírica Child A ( $89,84 \pm 2,56$ ), Child B ( $82,22 \pm 4$ ) y Child C ( $54,3 \pm 0,25$ ) era significativamente inferior al hallado en el grupo control, ( $p < 0,001$ ), (Tabla 2, 3 y 4 respectivamente) (Figura 3).

- 2) **Presencia o ausencia de osteoporosis:** No se observaron diferencias en los valores de protrombina entre pacientes cirróticos con osteoporosis y sin osteoporosis.

- **INSULIN-LIKE GROWTH FACTOR TIPO I (IGF-I) (ng/ml):** El valor medio en el conjunto total de pacientes cirróticos ( $11,2 \pm 4,3$ ) era significativamente inferior al hallado en el grupo control ( $22,8 \pm 1,9$ ),  $p < 0,001$  (Tabla 1) (Figura 4).

- 1) **Atendiendo a la gravedad de la cirrosis:** El valor medio en el grupo Child A ( $16,2 \pm 2,2$ ) y Child B ( $10,2 \pm 2,3$ ) era significativamente inferior al grupo control ( $p < 0,001$ ), (Tabla 2 y 3). El valor medio en el grupo Child C ( $7,3$

$\pm 1,4$ ) también era significativamente inferior al grupo control ( $p < 0,01$ ) (Tabla 4) (Figura 4).

2) **Presencia o ausencia de osteoporosis:** Los valores medios de IGF-I eran significativamente más elevados en los cirróticos víricos sin osteoporosis [ $12,1 \pm 2,1$  ngr/ml ( $12,1 \mu\text{gr/l}$ )] respecto a los cirróticos víricos con osteoporosis [ $7,2 \pm 1,5$  ngr/ml ( $7,2 \pm 1,5 \mu\text{gr/l}$ )],  $p < 0,05$  (Tabla 8) (Figura 15).

- **25-OH-D (ng/ml):** Se apreciaron valores séricos medios de vitamina D en el conjunto total de los pacientes cirróticos ( $71,8 \pm 10$ ) significativamente descendidos respecto al grupo control ( $110,48 \pm 12,7$ );  $p < 0,05$  (Tabla 1) (Figura 5).

1) **Atendiendo a la gravedad de la cirrosis:** Las concentraciones séricas de vitamina D eran inferiores en los grupos Child B ( $60,3 \pm 27,4$ ) y Child C ( $46 \pm 16,3$ ) con respecto a los controles,  $p < 0,05$  (Tabla 3 y 4) (Figura 5). No se encontraron diferencias entre el grupo Child A y los sujetos control.

2) **Presencia o ausencia de osteoporosis:** No se observaron diferencias significativas en los niveles de vitamina D al comparar el grupo de cirróticos con osteoporosis con el grupo de cirróticos sin osteoporosis.

- **FOSFATASA ALCALINA ÓSEA (b-AP) (U/L):** Se hallaron valores significativamente aumentados en el grupo de cirrosis vírica ( $20,9 \pm 3,1$ ) con respecto al grupo control ( $12,2 \pm 4,1$ );  $p < 0,05$  (Tabla 1) (Figura 6).

1) **Atendiendo a la gravedad de la cirrosis:** Se encontraron valores significativamente más altos en el estadio Child B ( $24,3 \pm 9$ ) y Child C ( $21 \pm 3,5$ ) respecto al grupo control;  $p < 0,05$  (Tablas 3 y 4). No hubo diferencias entre el estadio A y grupo control (Tabla 2) (Figura 6).

2) **Presencia o ausencia de osteoporosis:** No había diferencias significativas al comparar el grupo de cirróticos con osteoporosis con el grupo de cirróticos sin osteoporosis.



- **PARATHORMONA (PTH) (pg/ml):** El valor medio en el conjunto total de los pacientes cirróticos ( $19,7 \pm 2,9$ ) no fue significativamente distinto al hallado en el grupo control ( $26,5 \pm 2,2$ );  $p < 0,5$  (Tabla 1) (Figura 7).

- 1) **Atendiendo a la gravedad de la cirrosis:** El valor medio de PTH estaba disminuida en los pacientes con enfermedad hepática avanzada, grupos Child B ( $18,3 \pm 1,8$ ) y Child C ( $14,9 \pm 3,4$ ) respecto a los sujetos controles,  $p < 0,05$  (Tablas 3 y 4). También se encontraron valores significativamente inferiores en el grupo Child C con respecto al grupo Child A ( $26,4 \pm 7,1$ ),  $p < 0,05$  (Tabla 7). No se encontraron diferencias entre Child A y Child B vs controles (Tablas 2 y 3).

- 2) **Presencia o ausencia de osteoporosis:** No se hallaron diferencias al comparar los niveles de PTH en el grupo de cirróticos con osteoporosis con el grupo de cirróticos sin osteoporosis.

- **OSTEOCALCINA (BGP) ( $\mu\text{g/L}$ ):** Se observaron valores inferiores entre los pacientes cirróticos víricos ( $2,7 \pm 0,4$ ) y los controles ( $3,7 \pm 0,29$ );  $p < 0,05$  (Tabla 1) (Figura 8).

- 1) **Atendiendo a la gravedad de la cirrosis:** No se observaron diferencias entre los grupos Child A ( $3,3 \pm 0,49$ ) y Child B ( $2,51 \pm 0,2$ ) frente a los controles (Tablas 2 y 3). Sólo se halló que los pacientes del grupo Child C ( $2,3 \pm 0,6$ ) tenían valores significativamente inferiores que los controles ( $3,7 \pm 0,29$ ),  $p < 0,05$  (Tabla 4) (Figura 8).

- 2) **Presencia o ausencia de osteoporosis:** No se observaron diferencias significativas en los valores de BGP sérica al comparar el grupo de cirrosis con osteoporosis con el grupo de cirrosis sin osteoporosis.

- **ÍNDICE DE TESTOSTERONA LIBRE (ITL):** El valor medio en el conjunto de pacientes cirróticos víricos ( $4,8 \pm 0,6$ ) fue significativamente inferior al hallado en el grupo control ( $9,8 \pm 0,7$ );  $p < 0,001$  (Tabla 1) (Figura 10).

1) **Atendiendo a la gravedad de la cirrosis:** Se observaron valores significativamente menores en los estadios de Child A ( $5,7 \pm 1,1$ ), Child B ( $4,6 \pm 0,5$ ) y Child C ( $4,2 \pm 1,3$ ) con respecto a los controles,  $p < 0,001$  en (Tablas 2, 3 y 4) (Figura 9).

2) **Presencia o ausencia de osteoporosis:** No se observaron diferencias significativas en los niveles de FTI al comparar el grupo de cirróticos con osteoporosis con el grupo de cirróticos sin osteoporosis.

• **GLOBULINA TRANSPORTADORA DE ESTEROIDES SEXUALES (SHBG) (nmol/ml):** Se hallaron valores aumentados en los pacientes cirróticos víricos ( $105,2 \pm 6,84$ ) respecto al grupo control ( $34,51 \pm 2,32$ );  $p < 0,001$  (Tabla 1) (Figura 10).

1) **Atendiendo a la gravedad de la cirrosis:** Se observaron valores significativamente mayores en los grupos Child A ( $105,2 \pm 6,84$ ) y Child B ( $101,96 \pm 10,1$ ) frente al grupo control ( $34,51 \pm 2,32$ ),  $p < 0,0001$  en ambos casos (Tablas 2 y 3). También se hallaron valores significativamente elevados en pacientes Child C ( $65,7 \pm 26,4$ ) frente a los controles,  $p < 0,05$  (Tabla 4) (Figura 10).

No se apreciaron diferencias al comparar los grupos Child A, B y C (Tablas 5, 6 y 7) (Figura 10).

2) **Presencia o ausencia de osteoporosis:** No se observaron diferencias significativas al comparar el grupo de cirróticos con osteoporosis con el grupo de cirróticos sin osteoporosis.

• **CALCEMIA (Cas) (mg/dl):** El valor medio en el conjunto total de los pacientes cirróticos víricos ( $9,46 \pm 0,2$ ) no presentó diferencias al compararlo con el grupo control ( $9,42 \pm 0,18$ ) (Tabla 1) (Figura 11).

1) **Atendiendo a la gravedad de la cirrosis:** El valor medio de calcio sérico en el grupo Child A ( $9,54 \pm 0,14$ ) no fue significativamente superior al hallado en el grupo de Child B ( $9,4 \pm 0,16$ ) ni Child C ( $9,5 \pm 0,4$ ) (Tablas 5 y

6). No se observaron diferencias al comparar el grupo Child A, B y C con el grupo control (Tablas 2,3 y 4) (Figura 11).

2) **Presencia o ausencia de osteoporosis:** No se observaron diferencias en los niveles de calcio sérico entre el grupo de cirróticos con osteoporosis y el grupo de cirróticos sin osteoporosis.

• **COCIENTE DEOXIPIRIDOLINA/CREATININA EN ORINA (D-Pyr) (nmol/mmol):** Se observaron valores significativamente más altos de excreción urinaria de D-Pyr en el grupo de cirróticos víricos ( $6,42 \pm 0,79$ ) respecto al grupo control ( $4,1 \pm 0,6$ );  $p < 0,05$  (Tabla 1) (Figura 12).

1) **Atendiendo a la gravedad de la cirrosis:** Se observaron valores de excreción de D-Pyr significativamente más elevados en todos los grupos Child (A, B y C) respecto a los sujetos control,  $p < 0,01$  (Tabla 2, 3 y 4). También se observaron valores más elevados en el grupo Child B ( $7,7 \pm 0,8$ ) y Child C ( $8,2 \pm 1,5$ ) respecto a Child A ( $4,37 \pm 0,39$ );  $p < 0,05$  (Tablas 5 y 6) (Figura 12).

2) **Presencia o ausencia de osteoporosis:** La D-Pyr fue significativamente superior en los cirróticos víricos con osteoporosis al compararla con cirróticos víricos sin osteoporosis,  $p < 0,02$  (Tabla 8) y sujetos control,  $p < 0,01$  (Figura 14).

## II) DATOS DE DENSITOMETRÍA ÓSEA (DXA)

Se ha comparado la Z-score del grupo de cirrosis vírica en cuello femoral (FN) y columna lumbar (LS) con grupo de población española sana de referencia (1221 hombres y 1331 mujeres) <sup>390,427</sup>.

• **Valor Z-score en columna lumbar (Z-score LS, L<sub>2</sub>-L<sub>4</sub>):** descendida significativamente en el grupo cirrosis viral ( $-1,04 \pm 0,18$ ) con respecto al grupo control ( $0,05 \pm 0,29$ );  $p < 0,001$  (Tabla 1).

- **Valor Z-score en cuello femoral (Z-score FN):** descendido significativamente en el grupo de cirrosis viral ( $-0,54 \pm 0,14$ ) con respecto a la población control ( $0,025 \pm 0,29$ ),  $p < 0,01$  (Tabla 1).

**1) Atendiendo a la gravedad de la cirrosis:** Al comparar el Z-score del conjunto de cirróticos Child A víricos en LS y FN con el grupo de población sana de referencia, se ha observado un Z-score en LS ( $-0,86 \pm 0,23$ ) y FN ( $-0,44 \pm 0,23$ ) descendido con respecto a la población control ( $0,05 \pm 0,29$ ) para LS,  $p < 0,01$  y ( $0,025 \pm 0,29$ ) para FN,  $p < 0,05$  (Tabla 2).

Al comparar la Z-score en LS y FN del grupo de cirróticos víricos en estadio Child B con el grupo de población sana de referencia, se ha observado un Z-score en LS ( $-1,54 \pm 0,39$ ) y FN ( $-0,64 \pm 0,24$ ) significativamente descendido en el grupo de cirróticos Child B con respecto al grupo control ( $0,05 \pm 0,29$ ) para LS,  $p < 0,001$  y ( $0,025 \pm 0,29$ ) para FN,  $p < 0,05$  (Tabla 3).

Al realizar la comparación del Z-score en LS y FN en el grupo de cirróticos Child C con el grupo control de referencia, se ha observado un Z-score significativamente descendido en el grupo de cirróticos víricos Child C ( $-1,65 \pm 0,03$ ) para LS y ( $-0,83 \pm 0,29$ ) para FN con respecto a la población control ( $0,05 \pm 0,29$ )  $p < 0,01$  respectivamente (Tabla 4).

Al comparar la Z-score en LS y FN de los cirróticos víricos entre los diferentes grados de Child-Pugh, se ha observado un valor de Z-score en el grupo de cirrosis Child C significativamente disminuido con respecto al grupo de cirrosis Child A,  $p < 0,01$ . Así mismo, se encontraron diferencias entre los grupos Child B y Child A,  $p < 0,01$  (Tabla 5) y Child B y Child C ( $p < 0,01$ ) (Tabla 7).

## B. CORRELACIÓN LINEAL SIMPLE

En nuestro estudio, encontramos una correlación inversa fuertemente positiva entre la densidad mineral ósea en columna lumbar (DMO-LS) y los niveles séricos de sTNFR-55 ( $r = -0,79$ ;  $p < 0,001$ ) (Tabla 9).

Así mismo, observamos una fuerte correlación positiva entre los niveles séricos de sTNFR-55 y D-Pyr ( $r = 0,72$ ;  $p < 0,001$ ) (Tabla 9).

Además, en nuestro estudio, encontramos correlaciones entre:

**Tabla 9**

<b>Variables (x/y)</b>	<b>r (coef.correlación)</b>	<b>p (significación)</b>
<i>DMO-LS /sTNFR<sub>55</sub></i>	-0,79	$p < 0,01$
<i>DMO-FN /sTNFR<sub>55</sub></i>	-0,47	$p < 0,05$
<i>DMO-LS / D-pyr urinaria</i>	-0,6	$p < 0,03$
<i>DMO-FN / D-pyr urinaria</i>	0,57	$p < 0,03$
<i>sTNFR<sub>55</sub> / D-pyr urinaria</i>	0,72	$p < 0,001$
DMO-LS / IGF-I	0,33	$p < 0,05$
DMO-LS / 25 OH D	$r = 0,36$	$p < 0,05$
DMO-FN / 25 OH D	$r = 0,37$	$p < 0,05$ .
<i>Albúmina /DMO L<sub>2</sub>-L<sub>4</sub></i>	0,45	$p < 0,01$
<i>D-Pyr /Cro / DMO L<sub>2</sub>-L<sub>4</sub></i>	-0,49	$p < 0,01$
D-Pyr / Cro / 25 OH D	0,51	$p < 0,01$
Calcemia / 25 OH D	0,51	$p < 0,01$
Child-Pugh / DMO L <sub>2</sub> -L <sub>4</sub>	-0,41	$p < 0,02$

### C. PORCENTAJE DE OSTEOPOROSIS.

En nuestro trabajo, se encontró osteoporosis en el 56 % de los pacientes.

Cuando se clasifican a los pacientes según la severidad de la enfermedad hepática, los porcentajes de osteoporosis son:

Child A: 38,2 %

Child B: 58,3 %

Child C: 65,8 %.

La prevalencia de osteoporosis a nivel de columna lumbar (LS) y cuello femoral (FN) en el total de cirróticos víricos fue:

- En columna lumbar (LS): 39,5 %.
- En cuello femoral (FN): 25,37 %.
- En ambos lugares (LS + FN): 18,8 %.

### D. ANÁLISIS DE REGRESIÓN LINEAL

Los resultados del análisis de regresión determinaron que el principal predictor de osteoporosis en columna lumbar (LS) y cuello femoral (FN) se muestran en la tabla 10.

**Tabla 10:** El sTNFR-55 fue la variable independiente más importante en ambos lugares LS y FN ( $p < 0,004$ ).

Variable	Coficiente $\beta$	SE	Valor p
<b>OP LS sTNFR-55</b>	2,39	0,89	0,003
<b>OP FN sTNFR-55</b>	0,44	0,2	0,004

\* Sólo se muestran las variables con  $p < 0,05$ .



## ***V. TABLAS***





**TABLA 1: COMPARACIÓN DE MEDIAS ENTRE CIRRÓTICOS VÍRICOS TOTALES VS CONTROLES**

	<b>CIRRÓTICOS VÍRICOS TOTALES (n =40)</b>	<b>CONTROLES (n=26)</b>	<b>P (significación)</b>
<i>sTNFR-55 (ng/ml)</i>	7,1 ± 0,4	1,4 ± 0,2	P<0,001
<i>ALBÚMINA (gr/dl)</i>	3,54 ± 0,32	4,42 ± 0,1	P< 0,001
<i>PROTROMBINA %</i>	73,7 ± 5,3	98,6 ± 0,4	P< 0,001
<i>AST (U/l)</i>	115 ± 14,6	25 ± 2	P<0,001
<i>GGT (U/l)</i>	85,8 ± 12,7	33 ± 4	P<0,0001
<i>BILIRRUBINA SÉRICA (mg/dl)</i>	2,18 ± 0,36	0,81 ± 0,09	P<0,001
<i>FOSFATASA ALCALINA (U/l)</i>	296,9 ± 47,2	151,3 ± 6	P<0,0001
<i>b-AP (U/L)</i>	20,9 ± 3,1	12,2 ± 4,1	P<0,05
<i>IGF-I (ng/ml)</i>	11,2 ± 4,3	22,8 ± 1,9	P<0,001
<i>25-OH-D (ng/ml)</i>	71,8 ± 10	110,48 ± 12,7	p<0,05
<i>OSTEOCALCINA (BGP) (µg/L)</i>	2,7 ± 0,4	3,7 ± 0,29	P<0,05
<i>TESTOSTERONA (ng/ml)</i>	4,77 ± 0,28	3,57 ± 0,31	P<0,03
<i>ITL</i>	4,8 ± 0,6	9,8 ± 0,7	P<0,001
<i>SHBG (nmol/ml)</i>	105,2 ± 6,84	34,51 ± 2,32	P<0,001
<i>CALCEMIA (mg/dl)</i>	9,46 ± 0,2	9,42 ± 0,18	NS
<i>PTH (pg/ml)</i>	19,7 ± 2,9	26,5 ± 2,2	P<0,5
<i>D-Pyr /Cre (nmol/mmol)</i>	6,42 ± 0,79	4,1 ± 0,6	P<0,05
<i>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</i>	25,5 ± 1,3	25,6 ± 1,4	NS
<i>Z-score LS</i>	-1,04 ± 0,18	0,05 ± 0,29	P<0,001
<i>Z-score FN</i>	-0,54 ± 0,14	0,025 ± 0,29	P<0,01

**TABLA 2: COMPARACIÓN DE MEDIAS ENTRE CIRRÓTICOS VÍRICOS CHILD A VS CONTROLES**

	<b>CIRRÓTICOS VÍRICOS CHILD A (n =17)</b>	<b>CONTROLES (n=26)</b>	<b>P (significación)</b>
<i>sTNFR-55 (ng/ml)</i>	4,5 ± 0,32	1,4 ± 0,2	P<0,001
<i>ALBÚMINA (gr/dl)</i>	4,51 ± 0,1	4,42 ± 0,1	P<0,001
<i>PROTROMBINA %</i>	89,84 ± 2,56	98,6 ± 0,4	P<0,001
<i>AST (U/l)</i>	47 ± 3	25 ± 2	P<0,01
<i>GGT (U/l)</i>	77,4 ± 14,8	33 ± 4	P<0,0001
<i>BILIRRUBINA SÉRICA (mg/dl)</i>	2,4 ± 0,3	0,81 ± 0,09	P<0,01
<i>FOSFATASA ALCALINA (U/l)</i>	240 ± 35,2	151,3 ± 6	P<0,0001
<i>b-AP (U/L)</i>	17,6 ± 4,4	12,2 ± 4,1	NS
<i>IGF-I (ng/ml)</i>	16,2 ± 2,2	22,8 ± 1,9	P<0,001
<i>25-OH-D (ng/ml)</i>	95,7 ± 21,7	110,48 ± 12,7	NS
<i>OSTEOCALCINA (BGP) (µg/L)</i>	3,3 ± 0,4	3,7 ± 0,29	NS
<i>TESTOSTERONA (ng/ml)</i>	4,66 ± 0,38	3,57 ± 0,31	P<0,01
<i>ITL</i>	5,7 ± 1,1	9,8 ± 0,7	P<0,01
<i>SHBG (nmol/ml)</i>	106,41 ± 11,28	34,51 ± 2,32	P<0,0001
<i>CALCEMIA (mg/dl)</i>	9,54 ± 0,14	9,42 ± 0,18	NS
<i>PTH (pg/ml)</i>	26,4 ± 7,1	26,5 ± 2,2	NS
<i>D-Pyr/Cre (nmol/mmol)</i>	4,37 ± 0,39	4,1 ± 0,6	P<0,01
<i>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</i>	26,5 ± 1,2	25,6 ± 1,4	NS
<i>Z-score LS</i>	-0,86 ± 0,23	0,05 ± 0,29	P<0,01
<i>Z-score FN</i>	-0,44 ± 0,23	0,025 ± 0,29	P<0,05

**TABLA 3: COMPARACIÓN DE MEDIAS ENTRE CIRRÓTICOS VÍRICOS CHILD B VS CONTROLES**

	<b>CIRRÓTICOS VÍRICOS CHILD B (n=13)</b>	<b>CONTROLES (n=26)</b>	<b>P (significación)</b>
<i>sTNFR-55 (ng/ml)</i>	7,7 ± 0,9	1,4 ± 0,2	P<0,001
<i>ALBÚMINA (gr/dl)</i>	3,57 ± 0,13	4,42 ± 0,1	P<0,001
<i>PROTROMBINA %</i>	82,22 ± 4	98,6 ± 0,4	P<0,001
<i>AST (U/l)</i>	83,2 ± 2,4	25 ± 2	P<0,001
<i>GGT (U/l)</i>	108,55 ± 23,9	33 ± 4	P<0,0001
<i>BILIRRUBINA SÉRICA (mg/dl)</i>	2,65 ± 0,2	0,81 ± 0,09	P<0,001
<i>FOSFATASA ALCALINA (U/l)</i>	289 ± 37,1	151,3 ± 6	P<0,0001
<i>b-AP(U/L)</i>	24,3 ± 9	12,2 ± 4,1	P<0,05
<i>IGF-I (ng/ml)</i>	10,2 ± 2,3	22,8 ± 1,9	P<0,001
<i>25-OH-D (ng/ml)</i>	60,3 ± 27,4	110,48 ± 12,7	P<0,05
<i>OSTEOCALCINA (BGP) (µg/L)</i>	2,51 ± 0,2	3,7 ± 0,29	NS
<i>TESTOSTERONA (ng/ml)</i>	4,42 ± 2,2	3,57 ± 0,31	NS
<i>ITL</i>	4,6 ± 0,5	9,8 ± 0,7	P<0,01
<i>SHBG (nmol/ml)</i>	101,96 ± 10,1	34,51 ± 2,32	P<0,0001
<i>CALCEMIA (mg/dl)</i>	9,4 ± 0,16	9,42 ± 0,18	NS
<i>PTH intacta (pg/ml)</i>	18,3 ± 1,8	26,5 ± 2,2	P<0,05
<i>D-Pyr/Cre (nmol/mmol)</i>	7,7 ± 0,8	4,1 ± 0,6	P<0,01
<i>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</i>	25,7 ± 2,1	25,6 ± 1,4	NS
<i>Z-score LS</i>	-1,54 ± 0,39	0,05 ± 0,29	P<0,001
<i>Z-score FN</i>	-0,64 ± 0,24	0,025 ± 0,29	P<0,05

**TABLA 4: COMPARACIÓN DE MEDIAS ENTRE CIRRÓTICOS VÍRICOS CHILD C VS CONTROLES**

	<b>CIRRÓTICOS VÍRICOS CHILD C (n =10)</b>	<b>CONTROLES (n=26)</b>	<b>P (significación)</b>
<i>sTNFR-55 (ng/ml)</i>	9,1 ± 0,7	1,4 ± 0,2	P<0,001
<i>ALBÚMINA (gr/dl)</i>	2,53 ± 0,16	4,42 ± 0,1	P<0,001
<i>PROTROMBINA %</i>	54,3 ± 0,25	98,6 ± 0,4	P<0,001
<i>AST (U/l)</i>	143 ± 6	25 ± 2	P<0,001
<i>GGT (U/l)</i>	47,9 ± 6	33 ± 4	P<0,01
<i>BILIRRUBINA SÉRICA (mg/dl)</i>	2,82 ± 0,15	0,81 ± 0,09	P<0,01
<i>FOSFATASA ALCALINA (U/l)</i>	330 ± 59	151,3 ± 6	P<0,01
<i>b-AP (U/L)</i>	21 ± 3,5	12,2 ± 4,1	P<0,05
<i>IGF-I (ng/ml)</i>	7,3 ± 1,4	22,8 ± 1,9	P<0,01
<i>25-OH-D (ng/ml)</i>	46 ± 16,3	110,48 ± 12,7	P<0,05
<i>OSTEOCALCINA (BGP) (µg/L)</i>	2,3 ± 0,6	3,7 ± 0,29	P<0,05
<i>TESTOSTERONA (ng/ml)</i>	2,12 ± 1,3	3,57 ± 1,55	NS
<i>ITL</i>	4,2 ± 1,3	9,8 ± 0,7	P<0,01
<i>SHBG (nmol/ml)</i>	65,7 ± 8,5	34,51 ± 2,32	P<0,05
<i>CALCEMIA (mg/dl)</i>	9,5 ± 0,4	9,42 ± 0,18	NS
<i>PTH intacta (pg/ml)</i>	14,9 ± 3,4	26,5 ± 2,2	P<0,05
<i>D-Pyr/Cre (nmol/mmol)</i>	8,2 ± 1,5	4,1 ± 0,6	P<0,01
<i>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</i>	27,3 ± 2,4	25,6 ± 1,4	NS
<i>Z-score LS</i>	-1,65 ± 0,03	0,05 ± 0,29	P<0,01
<i>Z-score FN</i>	-0,83 ± 0,29	0,025 ± 0,29	P<0,01

**TABLA 5: COMPARACIÓN DE MEDIAS ENTRE CIRRÓTICOS VÍRICOS CHILD A vs CHILD B**

	<b>CIRRÓTICOS VÍRICOS CHILD A (n =17)</b>	<b>CIRRÓTICOS VÍRICOS CHILD B (n=13)</b>	<b>P (significación)</b>
<b>sTNFR-55 (ng/ml)</b>	4,5 ± 0,32	7,7 ± 0,9	p<0,01
<b>ALBÚMINA (gr/dl)</b>	4,51 ± 0,1	3,57 ± 0,13	P<0,0001
<b>PROTROMBINA %</b>	89,84 ± 2,56	82,22 ± 4	NS
<b>AST (U/l)</b>	47 ± 3	83,2 ± 2,4	P<0,001
<b>GGT (U/l)</b>	77,4 ± 14,8	108,55 ± 23,9	NS
<b>BILIRRUBINA SÉRICA (mg/dl)</b>	2,4 ± 0,3	2,65 ± 0,2	NS
<b>FOSFATASA ALCALINA (U/l)</b>	240 ± 35,2	289 ± 37,1	P<0,03
<b>b-AP (U/L)</b>	17,6 ± 4,4	24,3 ± 9	NS
<b>IGF-I (ng/ml)</b>	16,2 ± 2,2	10,2 ± 2,3	P<0,01
<b>25-OH-D (ng/ml)</b>	95,7 ± 21,7	60,3 ± 27,4	NS
<b>OSTEOCALCINA (BGP) (µg/L)</b>	3,3 ± 0,4	2,51 ± 0,2	NS
<b>TESTOSTERONA (ng/ml)</b>	4,66 ± 0,38	4,42 ± 2,2	NS
<b>ITL</b>	5,7 ± 1,1	4,6 ± 0,5	p=0,06
<b>SHBG (nmol/ml)</b>	106,41 ± 11,28	101,96 ± 10,1	NS
<b>CALCEMIA (mg/dl)</b>	9,54 ± 0,14	9,4 ± 0,16	NS
<b>PTH intacta(pg/ml)</b>	26,4 ± 7,1	18,3 ± 1,8	NS
<b>D-Pyr/Cre (nmol/mmol)</b>	4,37 ± 0,39	7,7 ± 0,8	P<0,05
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	26,5 ± 1,2	25,7 ± 2,1	NS
<b>Z-score LS</b>	-0,86 ± 0,23	-1,54 ± 0,29	P<0,01
<b>Z-score FN</b>	-0,44 ± 0,23	-0,64 ± 0,29	P<0,01

**TABLA 6: COMPARACIÓN DE MEDIAS ENTRE CIRRÓTICOS VÍRICOS CHILD A vs CHILD C**

	<b>CIRRÓTICOS VÍRICOS CHILD A (n =17)</b>	<b>CIRRÓTICOS VÍRICOS CHILD C (n=10)</b>	<b>P (significación)</b>
<i>sTNFR-55 (ng/ml)</i>	4,5 ± 0,1	9,1 ± 0,7	P<0,01
<i>ALBÚMINA (gr/dl)</i>	4,51 ± 0,42	2,53 ± 0,16	P<0,001
<i>PROTROMBINA %</i>	89,84 ± 2,56	54,3 ± 0,25	P<0,001
<i>AST (U/l)</i>	47 ± 3	143 ± 6	P<0,001
<i>GGT (U/l)</i>	77,4 ± 14,8	47,9 ± 6	P<0,001
<i>BILIRRUBINA SÉRICA (mg/dl)</i>	2,4 ± 0,3	2,82 ± 0,15	P<0,01
<i>FOSFATASA ALCALINA (U/l)</i>	240 ± 35,2	330 ± 59	P<0,01
<i>b-AP (U/L)</i>	17,6 ± 4,4	21 ± 3,5	P<0,05
<i>IGF-I (ng/ml)</i>	16,2 ± 2,2	7,3 ± 1,4	P<0,05
<i>25-OH-D (ng/ml)</i>	95,7 ± 21,7	46 ± 16,3	P<0,05
<i>OSTEOCALCINA (BGP) (µg/L)</i>	3,3 ± 0,4	2,3 ± 0,6	P<0,05
<i>TESTOSTERONA (ng/ml)</i>	4,66 ± 0,38	2,12 ± 1,3	P<0,01
<i>ITL</i>	5,7 ± 1,1	4,2 ± 1,3	NS
<i>SHBG (nmol/ml)</i>	106,41 ± 11,28	65,7 ± 10,1	P<0,01
<i>CALCEMIA (mg/dl)</i>	9,54 ± 0,14	9,5 ± 0,4	NS
<i>PTH intacta(pg/ml)</i>	26,4 ± 7,1	14,9 ± 3,4	P<0,01
<i>D-Pyr/Cre (nmol/mmol)</i>	4,37 ± 0,39	8,2 ± 1,5	P<0,05
<i>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</i>	26,5 ± 1,2	24,3 ± 2,4	NS
<i>Z-score LS</i>	-0,86 ± 0,23	-1,65 ± 0,03	P<0,01
<i>Z-score FN</i>	-0,44 ± 0,23	-0,43 ± 0,29	P<0,01

**TABLA 7: COMPARACIÓN DE MEDIAS ENTRE CIRRÓTICOS VÍRICOS CHILD B VS CHILD C**

	<b>CIRRÓTICOS VÍRICOS CHILD B (n =13)</b>	<b>CIRRÓTICOS VÍRICOS CHILD C (n=10)</b>	<b>P (significación)</b>
<b>sTNFR-55 (ng/ml)</b>	7,7 ± 0,9	9,1 ± 0,7	p<0,01
<b>ALBÚMINA (gr/dl)</b>	3,57 ± 0,13	2,53 ± 0,16	p<0,001
<b>PROTROMBINA %</b>	82,22 ± 4	54,3 ± 0,25	p<0,001
<b>AST (U/l)</b>	83,2 ± 2,4	143 ± 6	p<0,001
<b>GGT (U/l)</b>	108,55 ± 23,9	47,9 ± 6	p<0,001
<b>BILIRRUBINA SÉRICA (mg/dl)</b>	2,65 ± 0,2	2,82 ± 0,15	NS
<b>FOSFATASA ALCALINA (U/l)</b>	289 ± 37,1	330 ± 59	NS
<b>b-AP (U/L)</b>	24,3 ± 9	21 ± 3,5	NS
<b>IGF-I (ng/ml)</b>	10,2 ± 2,3	7,3 ± 1,4	NS
<b>25-OH-D (ng/ml)</b>	60,3 ± 27,4	46 ± 16,3	NS
<b>OSTEOCALCINA (BGP) (µg/L)</b>	2,51 ± 0,2	2,3 ± 0,6	NS
<b>TESTOSTERONA (ng/ml)</b>	4,42 ± 2,2	2,12 ± 1,3	NS
<b>ITL</b>	4,6 ± 0,5	4,2 ± 1,3	NS
<b>SHBG (nM/ml)</b>	101,96 ± 10,1	65,7 ± 8,5	NS
<b>CALCEMIA (mg/dl)</b>	9,4 ± 0,16	9,5 ± 0,4	NS
<b>PTH (pg/ml)</b>	18,3 ± 1,8	14,9 ± 3,4	NS
<b>D-Pyr/Cre (nmol/mmol)</b>	7,7 ± 0,8	8,2 ± 1,5	NS
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	25,7 ± 2,1	24,3 ± 2,4	NS
<b>Z-score LS</b>	-1,54 ± 0,39	-1,65 ± 0,03	p<0,01
<b>Z-score FN</b>	-0,64 ± 0,24	-0,83 ± 0,29	p<0,01

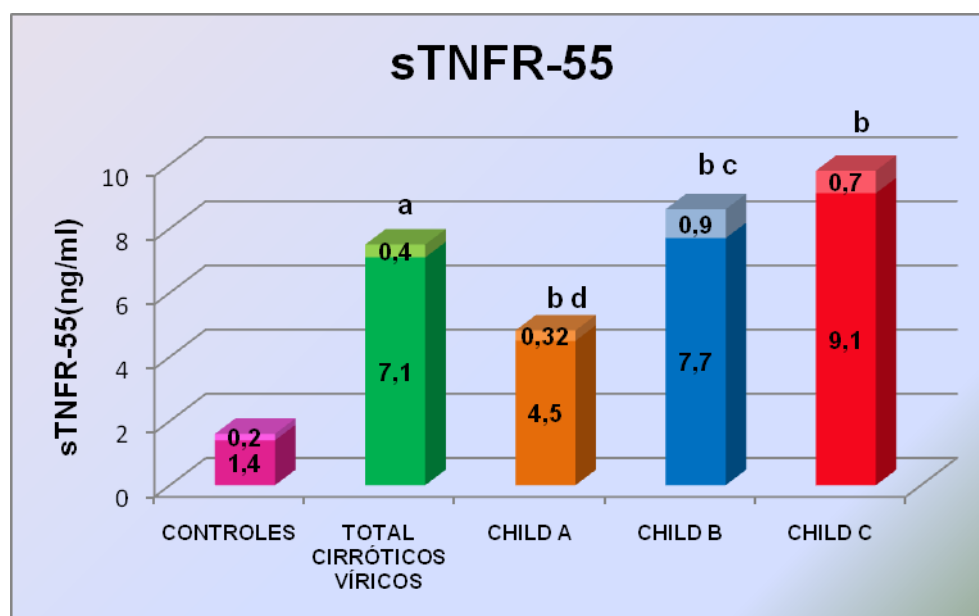


**TABLA 8: COMPARACIÓN DE MEDIAS ENTRE CIRRÓTICOS CON OSTEOPOROSIS Y CIRRÓTICOS SIN OSTEOPOROSIS**

	<b>sTNFR 55 (ng/ml)</b>	<b>D-Pyr (ng/L)</b>	<b>IGF-I (ng/ml)</b>
<b><i>CIRROSIS CON OSTEOPOROSIS</i></b>	8,1 ± 0,6	4,8 ± 0,5	7,2 ± 1,5
<b><i>CIRROSIS SIN OSTEOPOROSIS</i></b>	4,5 ± 0,3	7,6 ± 0,7	12,1 ± 2,1
<b><i>p</i></b>	p<0,001  p<0,1 vs controles	p<0,02  p<0,01 vs controles	p<0,05

## ***VI. FIGURAS***

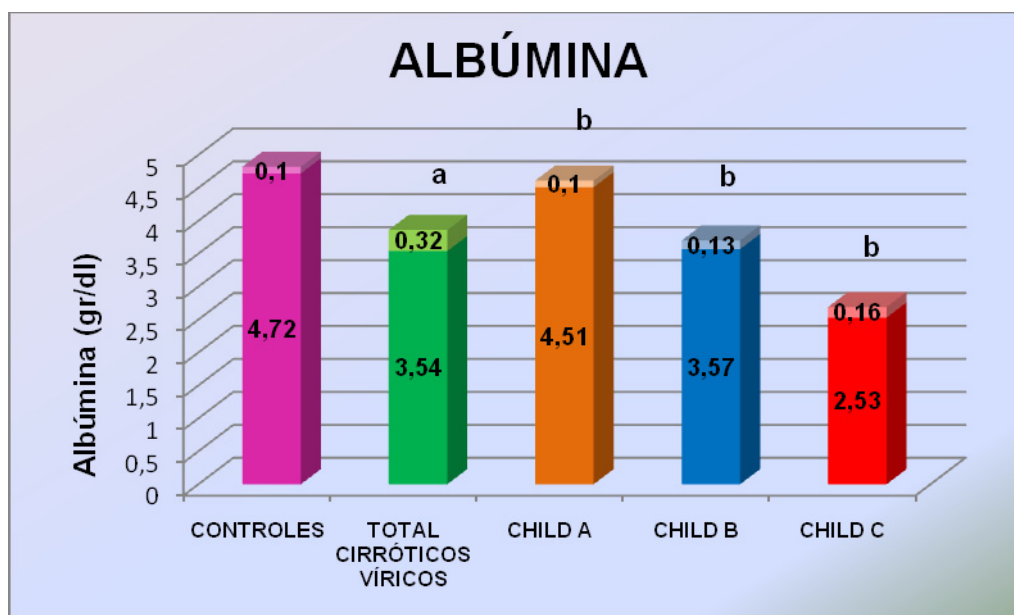




**FIGURA 1:** comparación de valores séricos medios de sTNFR 55 entre cirróticos totales, controles y los distintos grupos Child (A, B y C).

Se observa que los niveles séricos de sTNFR 55 eran significativamente inferiores en el grupo control con respecto a los cirróticos víricos, (<sup>a</sup>  $p < 0,001$ ). Los niveles de STNFR 55 eran mayores en los diferentes grupos Child (A, B y C) con respecto a los controles (<sup>b</sup>  $p < 0,001$  respectivamente).

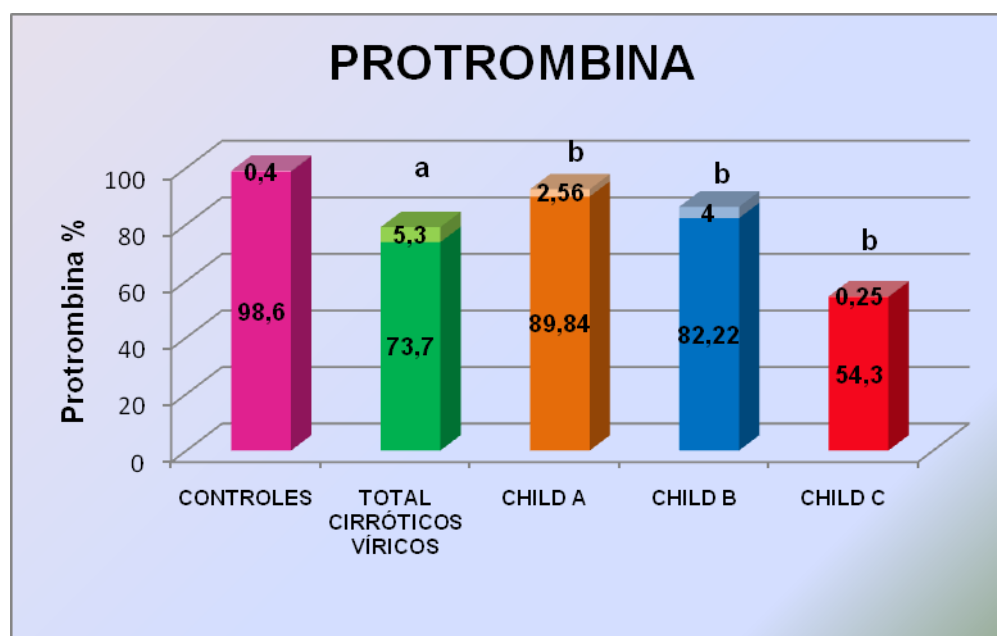
Observamos que los niveles de sTNFR 55 eran más elevados en función de la gravedad de la hepatopatía (Child A frente a Child C, <sup>c</sup>  $p < 0,01$ ; Child B frente a Child C, <sup>d</sup>  $p < 0,01$ ).



**FIGURA 2:** comparación de valores medios de albúmina sérica en el total de cirróticos víricos, controles y grupos Child A, B y C.

Se puede apreciar que el valor medio en el total de los cirróticos virales es significativamente inferior al valor de los controles (<sup>a</sup> p<0,001).

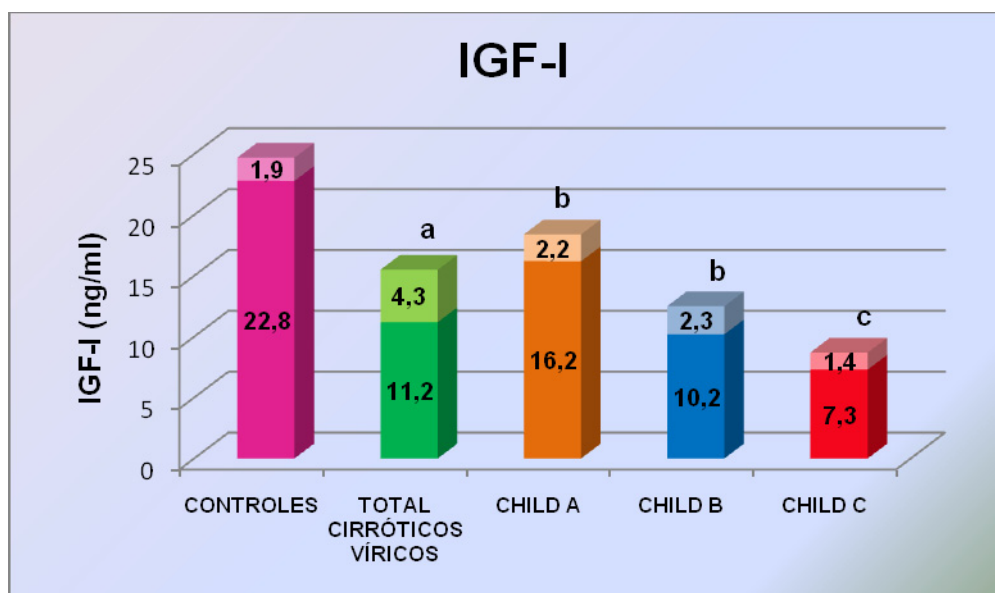
Los valores de albúmina en los grupos Child A, B y C son significativamente inferiores a los hallados en los controles (<sup>b</sup> p<0,001 respectivamente).



**FIGURA 3:** valores medios de protrombina entre el total de cirróticos virales, controles y los distintos grupos de Child (A, B y C).

El valor medio de protrombina en el total de cirróticos víricos era significativamente inferior al valor de los controles (<sup>a</sup>  $p < 0,001$ ).

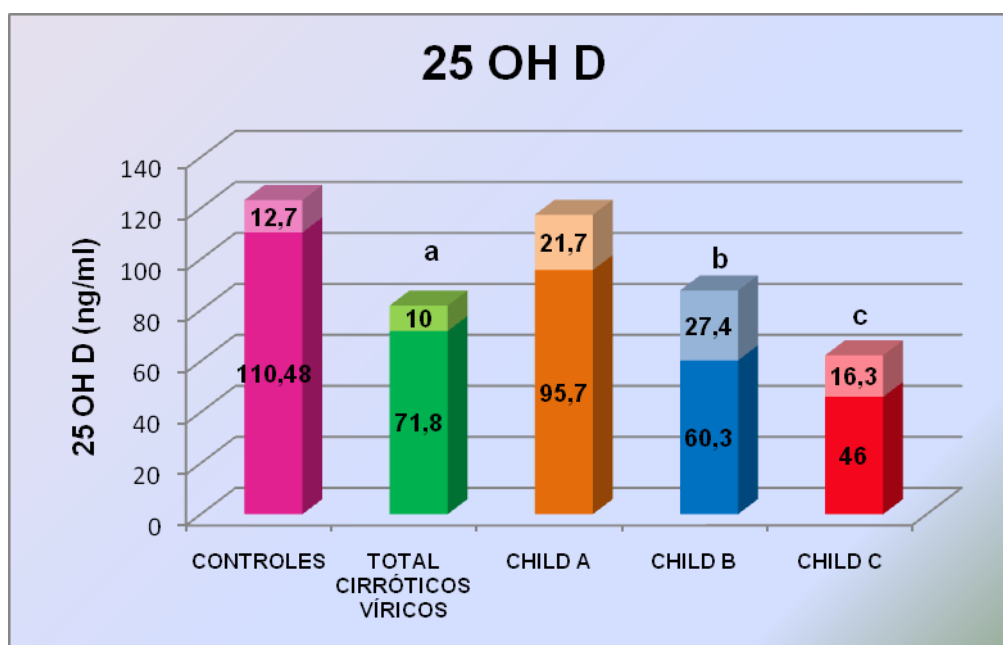
El valor medio en los grupos Child A, B y C era significativamente inferior al grupo control (<sup>b</sup>  $p < 0,001$ ) respectivamente.



**FIGURA 4:** valores medios de IGF-I en los cirróticos totales, controles y en los grupos Child A, B y C.

El valor medio de IGF-I en total de pacientes cirróticos era inferior al del grupo control (<sup>a</sup>  $p < 0,001$ ).

El valor medio en los grupos Child A, B y C era significativamente inferior al grupo control (<sup>b</sup>  $p < 0,001$  para Child A y B frente a controles; <sup>c</sup>  $p < 0,01$  para Child C frente a controles).

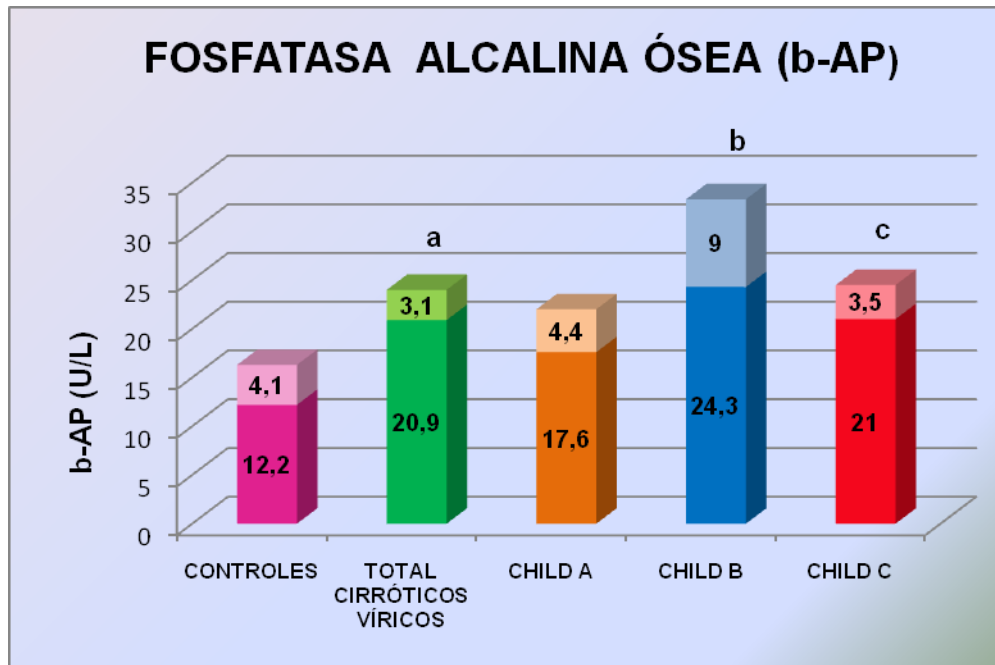


**FIGURA 5:** valores medios de niveles séricos de 25 OH D<sub>3</sub> entre cirróticos víricos, controles y diferentes grupos de Child (A, B y C).

Se aprecian valores significativamente menores en los cirróticos virales que en los controles (<sup>a</sup>  $p < 0,05$ ).

Los valores de 25 OH D<sub>3</sub> eran significativamente menores en los grupos Child B y C con respecto a los controles (<sup>b</sup>  $p < 0,05$  y <sup>c</sup>  $p < 0,05$  respectivamente).

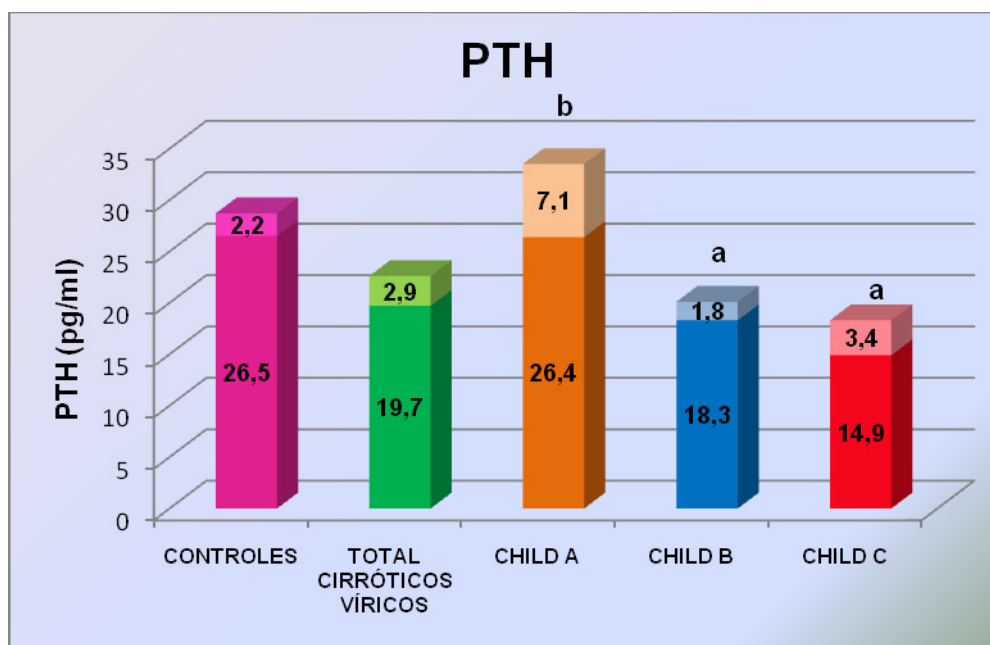




**FIGURA 6:** valores medios de fosfatasa alcalina ósea (b-AP) en los cirróticos virales, controles y grupos de Child (A, B y C).

Se hallaron valores significativamente más elevados en cirróticos virales que en el grupo control (<sup>a</sup>  $p < 0,05$ ).

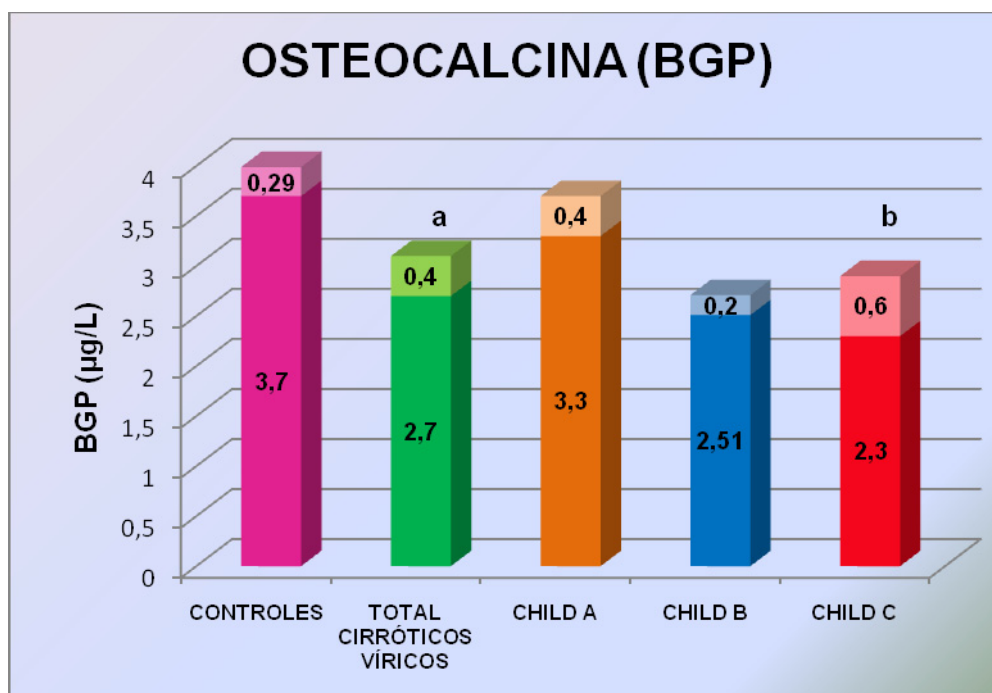
Se encontraron valores significativamente más elevados en los grupos Child B y C que en el grupo control (<sup>b</sup>  $p < 0,05$  y <sup>c</sup>  $p < 0,05$  respectivamente).



**FIGURA 7:** valores medios de PTH en cirróticos víricos, controles y grupos Child A, B y C.

Se observó que el valor medio de PTH en cirrótico virales no fue significativamente mayor que el de los controles.

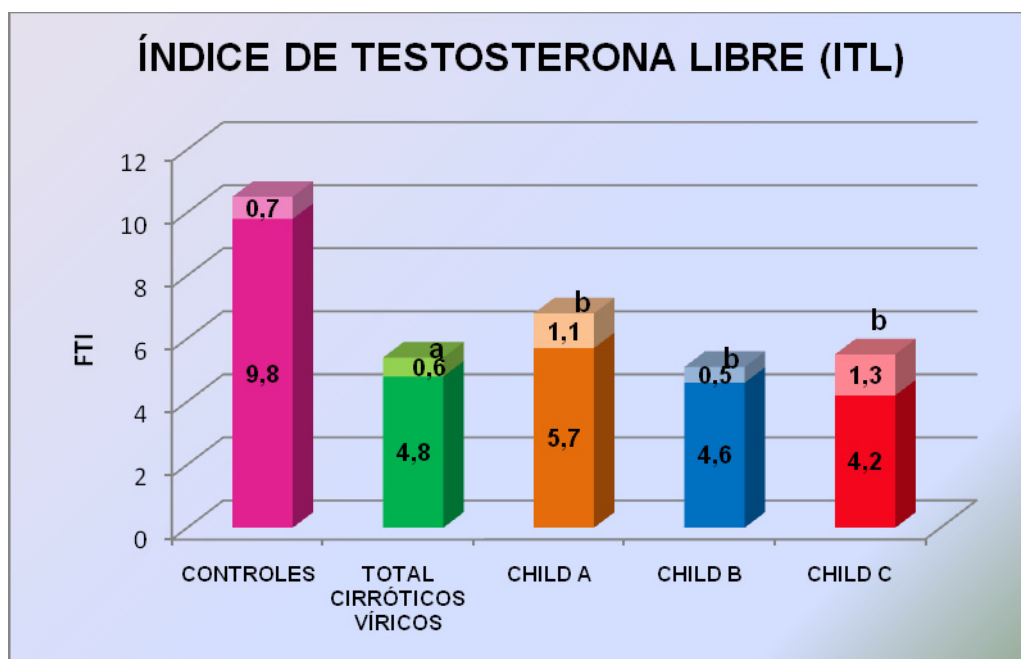
Los valores de PTH estaban descendidos en los pacientes con hepatopatía avanzada (grupos Child B y C) respecto a los controles (<sup>a</sup> $p < 0,05$ ). También se encontraron diferencias entre los grupos Child A y Child C (<sup>b</sup>  $0,05$ ).



**FIGURA 8:** valores medios de osteocalcina en cirróticos virales, controles y grupos Child A, B y C.

Se hallaron valores inferiores en los pacientes víricos que en los controles (<sup>a</sup>  $p < 0,05$ ).

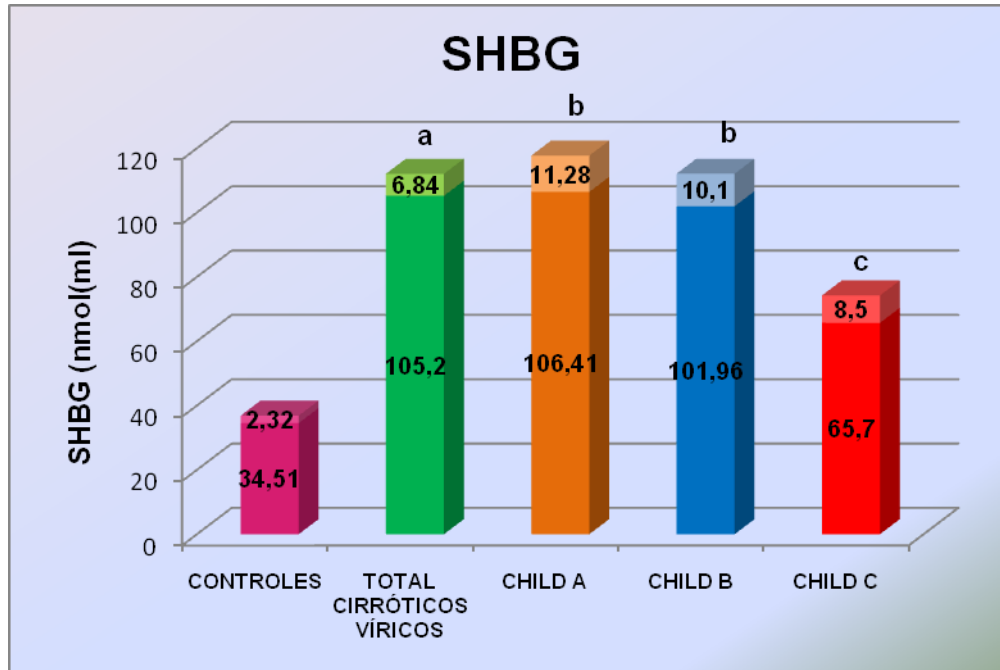
No se hallaron diferencias entre los grupos Child A y B frente a los controles. Se apreciaron valores significativamente inferiores al grupo Child C con respecto a los controles (<sup>b</sup>  $p < 0,05$ ).



**FIGURA 9:** valores medios de ITL en cirróticos virales totales, controles y pacientes en grupos Child A, B y C).

El valor medio de ITL en los cirróticos víricos era significativamente inferior a los controles (<sup>a</sup>  $p < 0,001$ ).

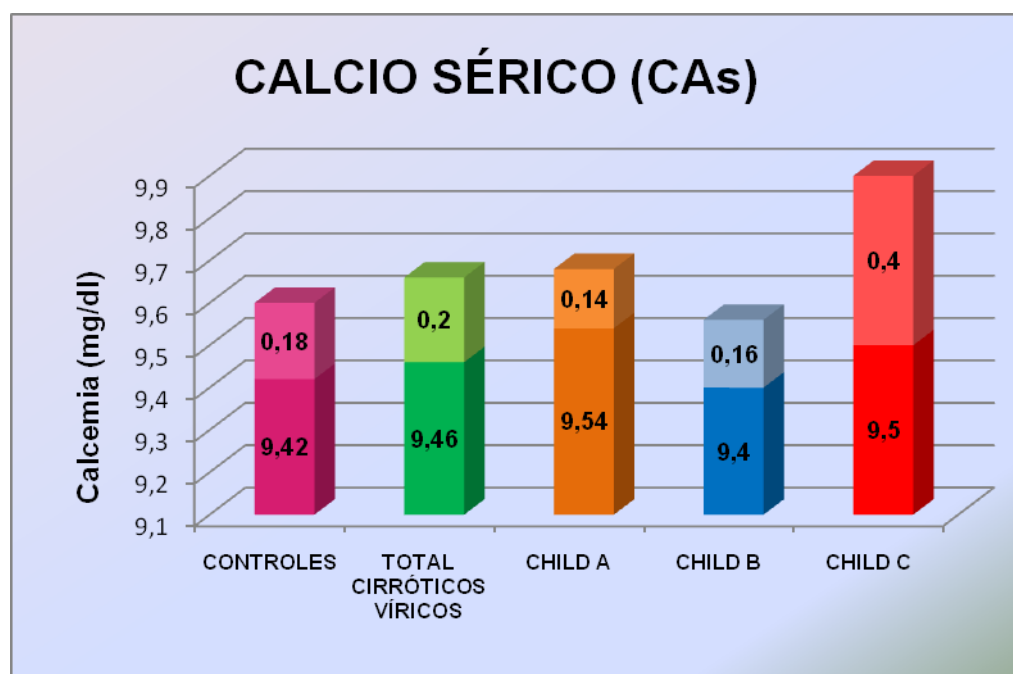
Se hallaron valores inferiores en los grupos Child A, B y C con respecto a los controles (<sup>b</sup>  $p < 0,001$  en todos los casos)



**FIGURA 10:** valores medios de globulina transportadora de hormonas sexuales (SHBG) en cirróticos víricos, controles y diferentes grupos de Child (A, B y C).

Se hallaron valores significativamente elevados en los cirróticos víricos respecto al grupo control (<sup>a</sup>  $p < 0,001$ ).

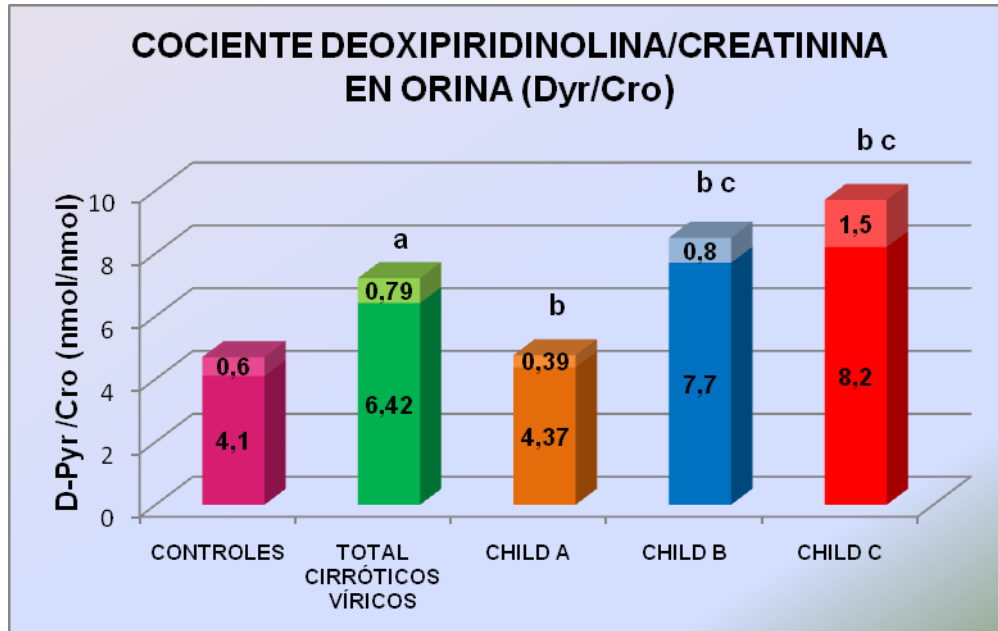
También se observan valores significativamente aumentados en los distintos grupos de Child frente a los controles (<sup>b</sup>  $p < 0,0001$  para Child A y B vs controles y <sup>c</sup>  $p < 0,05$  Child C vs controles). No se observaron diferencias entre los distintos grupos de Child.



**FIGURA 11:** valores medios de calcio sérico en cirróticos víricos, controles y diferentes grupos de Child (A, B y C).

No se hallaron diferencias al comparar los valores medios de calcemia entre cirróticos víricos y controles.

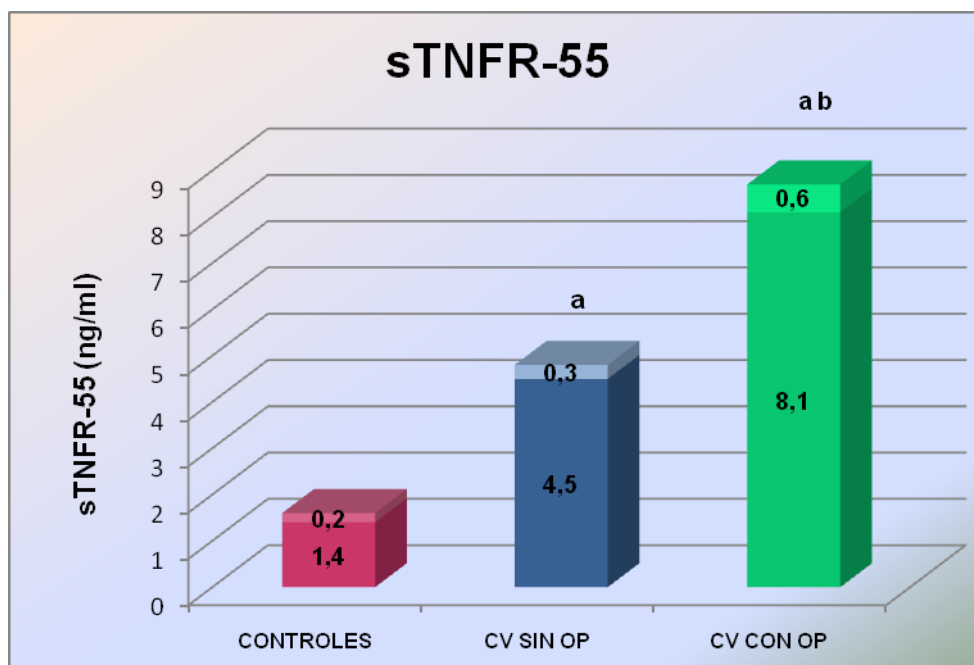
Así mismo, no se hallaron diferencias al comparar los diferentes grupos de Child con los controles.



**FIGURA 12:** valores medios de D-Pyr urinaria en cirróticos víricos, controles y grupos de Child A, B y C.

Se observan valores significativamente más elevados en los cirróticos víricos en relación con los controles. (<sup>a</sup>  $p < 0,05$ ).

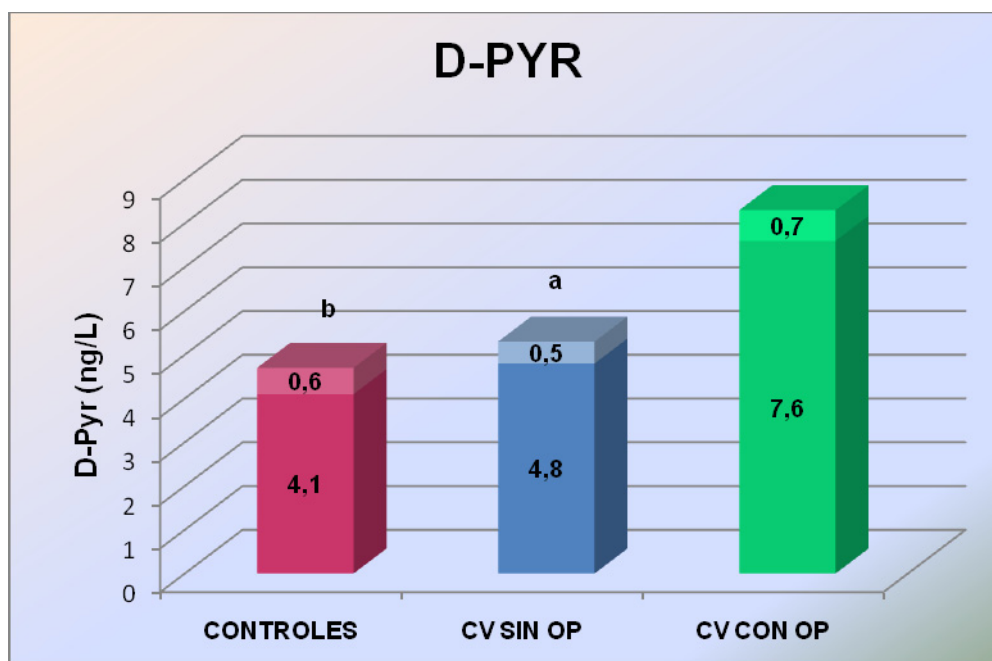
Se observan valores significativamente más elevados en todos los grupos de Child con respecto a los controles (<sup>b</sup>  $p < 0,01$  en todos los casos). Así mismo se hallaron valores más elevados en los grupos Child B y C con respecto al grupo Child A (<sup>c</sup>  $p < 0,05$ ).



**FIGURA 13:** Niveles séricos de sTNFR-55 en sujetos controles y pacientes con cirrosis viral (CV) con y sin osteoporosis (OP).

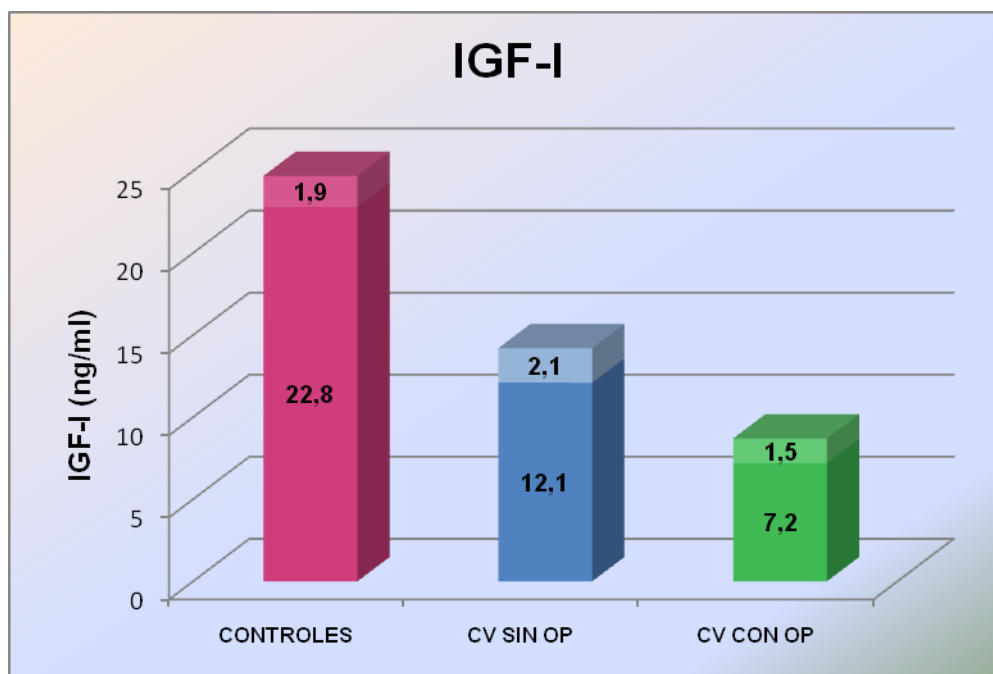
Los datos muestran valores medios de STNFR 55 significativamente mayores en cirróticos víricos que en controles, y estos son más elevados en cirróticos víricos con osteoporosis que sin osteoporosis (<sup>a</sup>  $p < 0,001$  vs controles y <sup>b</sup>  $p < 0,01$  vs CV sin OP).





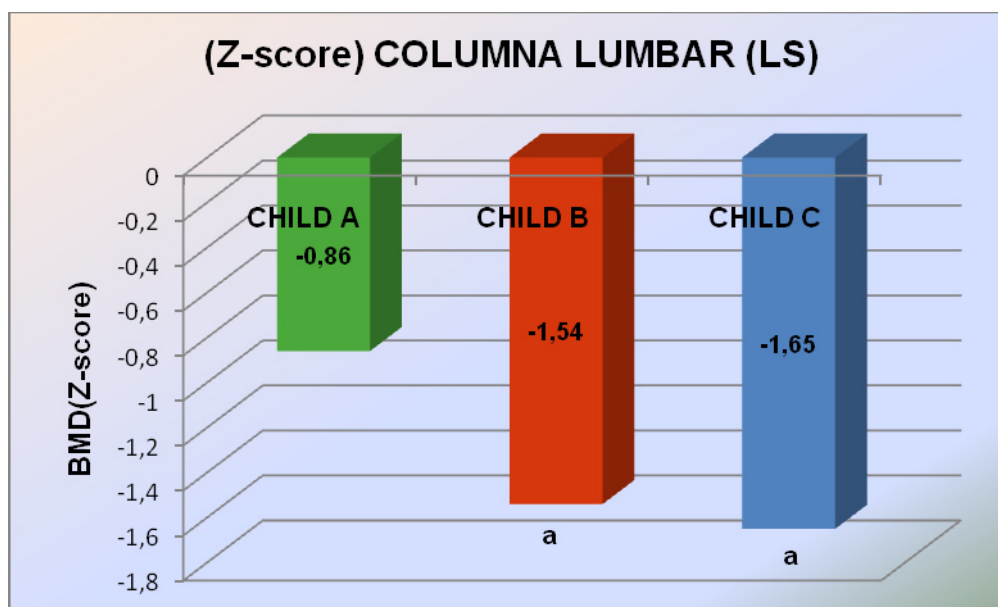
**FIGURA 14:** Niveles de D-Pyr en cirróticos víricos con y sin osteoporosis y sujetos controles.

Se hallaron niveles de D-Pyr significativamente mayores en cirróticos con osteoporosis que en cirróticos sin osteoporosis y controles (<sup>a</sup>  $p < 0,02$  vs CV sin OP, <sup>b</sup>  $p < 0,01$  vs controles).



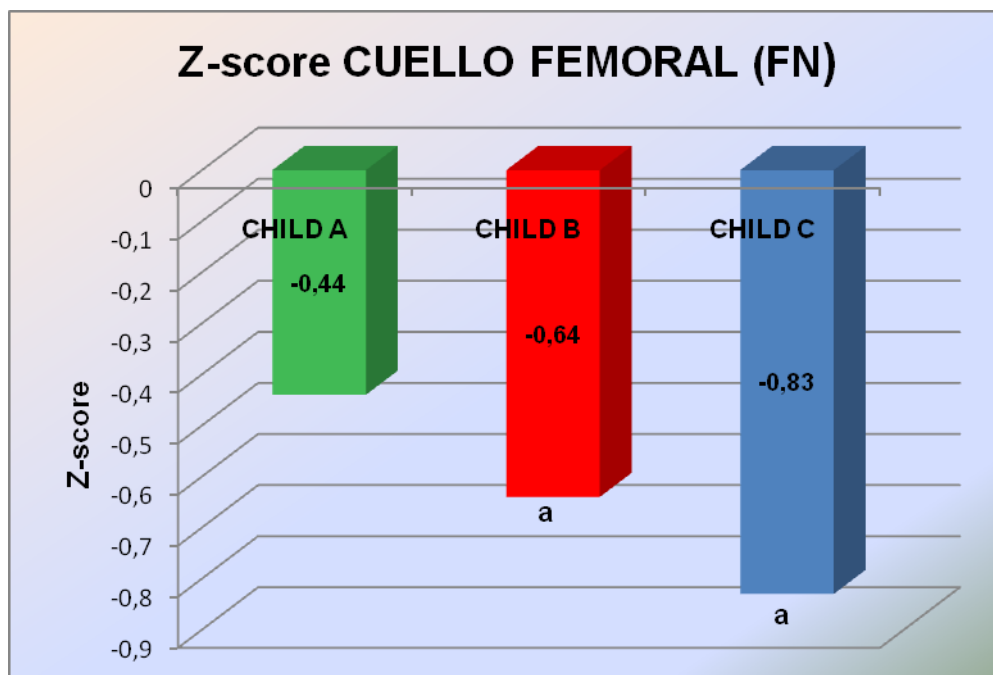
**FIGURA 15:** valores de IGF-I en cirróticos víricos con y sin osteoporosis y sujetos controles.

Se observan niveles significativamente más elevados en cirróticos sin osteoporosis que en cirróticos con osteoporosis (<sup>a</sup> p<0,05).



**FIGURA 16:** Densidad mineral ósea (Z-score) en pacientes cirróticos víricos clasificados según la puntuación Child-Pugh.

Se observan menores valores de Z-score en pacientes con hepatopatía más avanzada (<sup>a</sup> p<0,01 vs Child A).



**FIGURA 17:** Densidad mineral ósea (Z-score) en pacientes con cirrosis hepática viral clasificados según la puntuación de Child-Pugh.

Se observan menor masa ósea en los cirróticos con enfermedad más avanzada (<sup>a</sup>  $p < 0,01$  vs Child A).



## ***VII. DISCUSIÓN***



## **IV. DISCUSIÓN**

Mediante nuestro estudio hemos podido comprobar que los pacientes varones con cirrosis hepática de etiología vírica, y sin historia previa de consumo de alcohol, presentan disminución de la masa ósea tanto en la columna lumbar (hueso trabecular) como en el cuello de fémur (hueso cortical), y que esta disminución es más intensa en los pacientes con cirrosis más avanzada. Aún así, la pérdida de densidad mineral ósea ya es objetivable en los pacientes cirróticos bien compensados.

Del mismo modo, estos pacientes presentan una alta prevalencia de osteoporosis. Hallazgos similares habían sido previamente descritos por nuestro grupo en pacientes con cirrosis vírica<sup>282</sup>.

Sin embargo, la mayoría de otros estudios previos sobre masa ósea en la cirrosis hepática no son homogéneos en cuanto a su etiología ni en lo referente a los pacientes estudiados, pues se suelen incluir pacientes de ambos sexos, con diferentes etiologías en el mismo estudio, pacientes cirróticos etílicos, víricos y de etiología mixta (Diamond, 1990, Mangal 1997, Chen 1996).

Hemos observado que la mayor pérdida de densidad mineral ósea se localiza sobre todo en la columna lumbar y, de forma menos evidente, en el cuello de fémur. Aunque no disponemos de una explicación definitiva para este hallazgo, sugerimos que podría ser debido a que el remodelado en el hueso cortical es más activo que en el trabecular<sup>371</sup>, y posiblemente los factores patológicos exógenos podrían afectar más intensamente al hueso con turnover más alto.

La patogenia de la pérdida de DMO en pacientes cirróticos ha sido ampliamente estudiada en los de etiología alcohólica (Diamond<sup>372</sup>, Bickle<sup>252</sup>, Ramón<sup>373</sup>), y se conoce que incluso los sujetos etílicos crónicos, sin enfermedad hepática, tienen disminución de la DMO<sup>253-255</sup>, siendo su



mecanismo patogénico principal la disminución de la actividad osteoblástica, provocada de forma directa por el alcohol <sup>253,255</sup>.

Se acepta que en los alcohólicos con cirrosis hepática deben existir otros factores sobreañadidos, no bien definidos y dependientes de la hepatopatía, que contribuyen a la pérdida de masa ósea.

Por otro lado, la patogenia de la osteoporosis asociada a cirrosis hepática de etiología vírica, sin consumo asociado de alcohol, permanece desconocida, si bien se ha publicado que un descenso de los valores séricos de IGF-I puede intervenir en la pérdida de masa ósea de estos pacientes <sup>282</sup>.

Es importante resaltar que la cirrosis hepática vírica es un proceso infeccioso inflamatorio crónico del hígado, en el que se ha descrito la existencia de valores séricos elevados de múltiples citoquinas entre las que destacan la llamadas “citoquinas osteopenizantes” (IL-1, IL-6 y TNF) <sup>356, 374</sup>.

El TNF- $\alpha$  es un potente estimulante de la resorción ósea, que favorece la actividad osteoclástica por diversos mecanismos: estimula la osteoclastogénesis <sup>375,376</sup> y la activación de los osteoclastos <sup>377,378</sup>.

El TNF- $\alpha$  ejerce su función biológica mediante su unión a receptores específicos celulares <sup>107</sup> que también se encuentran, en su forma soluble, en suero <sup>108,117</sup> y se denominan receptores solubles del TNF.

Hemos observado que nuestros pacientes con cirrosis vírica tenían valores séricos elevados del receptor soluble del TNF p55 (sTNFR-55) respecto a los sujetos controles. Estos resultados son similares a los que habían sido previamente descritos en pacientes con cirrosis alcohólica <sup>1116, 379,380</sup>.

Además, hemos observado que los valores séricos de sTNFR-55 se correlacionan con la gravedad de la cirrosis, siendo, por tanto, más elevados en los casos con mayor deterioro de la función hepática.

También, hemos observado que los valores de sTNFR-55 se encuentran más elevados en los pacientes cirróticos con osteoporosis respecto a los

cirróticos sin osteoporosis, y, además, existía correlación inversa entre los niveles séricos de sTNFR-55 y la DMO tanto en columna lumbar como en cuello de fémur.

Finalmente, en el estudio de correlación múltiple, observamos que el nivel sérico de sTNFR-55 era el principal determinante del desarrollo de osteoporosis en pacientes cirróticos víricos, tanto en columna lumbar como en cuello femoral, habiéndose incluido en el modelo de regresión otros parámetros que podían influir en la masa ósea, como la edad, el grado de Child-Pugh, FTI y los niveles séricos de 25 OH D, IGF-I, PTH, BGP y albúmina.

Sobre la base de todos estos hallazgos y el conocido efecto osteopenizante del TNF, sugerimos que los elevados valores séricos de TNF en pacientes con cirrosis vírica parecen jugar un importante papel en el desarrollo de osteoporosis en estos pacientes.

En nuestro estudio, hemos determinado la excreción urinaria de D-Pyr como marcador bioquímico de resorción ósea, la cual tiene algunas ventajas sobre otros marcadores de función osteoclástica, sobre todo en pacientes con cirrosis hepática, debido a que la D-Pyr se encuentra casi exclusivamente en el hueso y la dentina, pero no en la fibrosis hepática, y, por tanto, la mayoría de la D-Pyr que aparece en orina procede del hueso<sup>317,318</sup>, evitando así posibles interferencias de productos de degradación del colágeno, que puedan ocurrir como consecuencia de la excesiva fibrosis hepática propia de los pacientes cirróticos.

Un estudio en pacientes con cirrosis biliar primaria (CBP) puso de manifiesto que la excreción urinaria de D-Pyr se correlacionaba con los niveles séricos del propéptido aminoterminal del colágeno tipo III, que es un índice de fibrogénesis hepática, sugiriendo que la D-Pyr en orina podría proceder al menos en parte, del metabolismo del colágeno hepático<sup>383</sup>. Sin embargo, la señalada correlación podría ser consecuencia de un aumento de la resorción ósea propia de los pacientes con CBP<sup>278</sup>, que además se correlacionan con la gravedad de la hepatopatía<sup>279</sup>. Por tanto, parece ser que los elevados niveles

de D-Pyr en orina, en pacientes con CBP, sólo es una consecuencia del alto turnover óseo de estos pacientes.

Finalmente, al contrario de otros marcadores de función osteoclástica, la D-Pyr de la dieta no se absorbe <sup>332</sup> lo que hace innecesario las dietas especiales durante los períodos de recogida de orina.

Hemos hallado que la excreción urinaria de D-Pyr era mayor en los pacientes con osteoporosis que en los que no tenían osteoporosis. Si bien, aún más destacados son los hallazgos de una correlación inversa entre la DMO con la excreción urinaria de D-Pyr, y una fuerte correlación positiva entre la D-Pyr urinaria y los niveles séricos de sTNFR-55.

Estos hallazgos ponen en evidencia que, nuestros pacientes con cirrosis vírica tienen una resorción ósea aumentada, que está en relación con los niveles séricos elevados de sTNFR-55.

Por otro lado, en el estudio de otros parámetros de remodelado óseo, hemos obtenido valores elevados de isoenzima ósea de la fosfatasa alcalina (b-AP) en pacientes con afectación hepática avanzada (Child B y C), pero no en enfermos con hepatopatía bien compensada. Otros autores han publicado hallazgos similares en cirrosis hepática de diversas etiologías <sup>254,384</sup>.

Se ha señalado que el incremento de b-AP podría, en parte, ser consecuencia de reactividad cruzada ( $\approx 16\%$ ) entre la isoenzima ósea y la isoenzima hepática <sup>331</sup>. Sin embargo, la reactividad cruzada puede ocasionar valores falsamente elevados de b-AP solamente en pacientes con elevación intensa de fosfatasa alcalina total ( $> 2$  veces el límite superior de la normalidad) <sup>385</sup>. En nuestro estudio, ningún paciente tenía valores de fosfatasa alcalina en el rango señalado.

Los incrementos de b-AP en los pacientes con hepatopatía avanzada pueden reflejar un aumento de formación ósea en respuesta a la elevada actividad osteoclástica de estos pacientes.

En cuanto a la osteocalcina (BGP), hemos hallado valores séricos elevados solamente en pacientes cirróticos con grado C de Child, y no ha habido correlación significativa entre los valores séricos de BGP y de b-AP, lo cual concuerda con resultados de estudios previos<sup>277,282</sup>.

La falta de paralelismo entre las modificaciones de los valores séricos de BGP y de b-AP puede ser consecuencia de la insuficiencia hepática avanzada de algunos pacientes, o puede ser debido a déficit de síntesis de BGP causada por los reducidos niveles de 25 OH D<sup>386</sup> y/o de IGF-I<sup>387</sup> o bien debido a los bajos niveles de andrógenos circulantes<sup>372</sup>.

A parte de lo ya expuesto, la pérdida de masa ósea en la cirrosis vírica tiene probablemente un origen multifactorial, y existen otros factores que pueden influir de forma más o menos determinante.

En cuanto a las modificaciones de la PTH, sólo los pacientes con hepatopatía avanzada tenían valores inferiores que los sujetos controles. Por otro lado, no hemos encontrado diferencias entre pacientes con osteoporosis y los pacientes sin osteoporosis. Tampoco hemos hallado correlación entre los valores séricos de PTH y la DMO, ni la PTH ha sido un predictor de osteoporosis en el modelo de regresión múltiple.

Por tanto, concluimos que las modificaciones de los valores de PTH no parecen representar un papel importante en la pérdida de masa ósea de los pacientes cirróticos víricos. Del mismo modo, tampoco se había apreciado que los cambios de PTH influyan en la patogenia de la osteoporosis asociada a cirrosis hepática de otras etiologías<sup>252,255</sup>.

Los valores séricos de 25 OH D, se encontraban disminuidos en cirróticos con hepatopatía avanzada, lo que coincide con los resultados de trabajos previos en pacientes cirróticos de diferentes etiologías<sup>257,258,282</sup>. Sin embargo, hemos hallado una correlación positiva, débilmente significativa, entre los valores de 25 OH D y la DMO. El estudio de regresión múltiple no destacó a la 25 OH D como un factor predictor de osteoporosis en nuestros pacientes.

Sugerimos que los niveles descendidos de 25 OHD pueden ejercer alguna influencia sobre la pérdida de masa ósea en pacientes con cirrosis vírica.

Se conoce que los valores séricos de IGF-I constituyen un factor determinante de la DMO en hombres sanos <sup>388</sup> y se ha descrito que valores descendidos de IGF-I podrían ser responsables de algunos casos de osteoporosis idiopática <sup>389</sup>.

En nuestro estudio, hemos hallado valores descendidos en todos los grupos de pacientes cirróticos, siendo el descenso más marcado en los casos más graves. Además, los valores de IGF-I se correlacionan con la DMO en columna lumbar, aunque no en cuello femoral, y los pacientes con osteoporosis tenían valores más bajos que los pacientes sin osteoporosis. Sin embargo, el estudio de regresión múltiple puso de manifiesto que los niveles séricos de IGF-I no constituían un predictor de osteoporosis en nuestros pacientes. Sugerimos que el descenso de IGF-I parece tener un papel en el desarrollo de osteoporosis en la cirrosis vírica.

El hipogonadismo es bien conocido como factor de riesgo de osteoporosis <sup>390</sup>. En nuestro estudio, los pacientes con signos físicos de hipogonadismo fueron excluidos. Sin embargo, todos los grupos de pacientes, incluidos los casos de hepatopatía bien compensada, presentaban valores de índice de testosterona libre (ITL) inferiores que los sujetos controles. No hemos observado correlación entre los valores de ITL y la DMO. Tampoco hemos apreciado diferencias de ITL entre los pacientes con osteoporosis y los que no la tienen.

Por tanto, según nuestros resultados, las modificaciones de ITL halladas en nuestros pacientes no parecen tener un efecto determinante en la pérdida de DMO.

En conclusión, este estudio confirma que la cirrosis hepática de origen vírico es una causa importante de osteoporosis en hombres.

La patogenia de la osteoporosis parece ser multifactorial, y ponemos de manifiesto, por primera vez, que la pérdida de masa ósea está estrechamente relacionada con los niveles séricos elevados de sTNFR-55 que presentan estos pacientes.

La enfermedad hepática avanzada y los niveles séricos descendidos de 25 OH D y de IGF-I también pueden ser considerados factores de riesgo de osteoporosis en estos pacientes.

Finalmente, nuestros resultados ponen de manifiesto la existencia de un aumento de resorción ósea en la cirrosis vírica asociada a los elevados niveles séricos de sTNFR-55.



## ***VIII. CONCLUSIONES***





## **VIII. CONCLUSIONES**

1. La cirrosis hepática de origen vírico es una causa importante de osteoporosis en hombres.
2. Existe relación positiva entre la gravedad de la cirrosis y la pérdida de masa ósea.
3. El hueso trabecular se ve más afectado que el hueso cortical.
4. El receptor soluble del TNF (sTNFR-55) parece ser un factor determinante de la pérdida de masa ósea en pacientes con cirrosis hepática de origen vírico.
5. Los valores descendidos de 25 OH D y de IGF-I parecen influir también en la pérdida de masa ósea en estos pacientes.
6. Los pacientes con cirrosis hepática vírica presentan una osteoporosis de alto turnover, que está en relación con los niveles séricos elevados de sTNFR-55.



## ***IX. BIBLIOGRAFIA***



## IX. BIBLIOGRAFÍA

1. Anthony PP, Ishak KG, Nayak NC, Poulsen HE, Scheuer PJ, Sobin. The morphology of cirrhosis: definition, nomenclature, and classification. *Bull World Health Organ* 1977; 55:521-540.
2. Erlinger S y Benhamou JP. Cirrosis aspectos clínicos. *Tratado de hepatología clínica*. Tomo I, 1991: 447-451.
3. Douglas M, Scott A, Hunter JR. *Gastroenterología*, ed. Mc Graw-Hill Interamericana, 1997, 6:169-213.
4. Brugera M, Rodés J: Cirrosis hepática compensada. *Tratamiento de las enfermedades hepáticas*. Capítulo 7, 1997:45-48.
5. Powell, E.E; Cooksley, W.G.E; Hanson, R, et al. The natural history of nonalcoholic steatohepatitis: A follow up study of forty two patients followed for up to 21 years. *Hepatology* 1990; 11:74.
6. Bacon, B, Faravash, M.J; Janney, C.G; et al. Nonalcoholic steatohepatitis: An expanded clinical entity. *Gastroenterology*, 1994; 107-1103.
7. Castellano G y Pérez M: Esteatohepatitis no alcohólica. *Tratamiento de las enfermedades hepáticas*. Capítulo 19, 1997: 113-116.
8. Peguignot G, Tuyns AJ, and Berta JL. Ascitic cirrhosis in relation to alcohol consumption. *International Journal of Epidemiology*, 1978, 7: 113-120.
9. Lelbach WK. Epidemiology of alcohol liver disease. In Popper H and Schaffner F, eds *progress in liver Diseases*. New York: *Gune Straton*, 1976: 494-515.
10. Coates RA, Halliday ML, Rankin JG, Feinman SV, Fisher MM. Risk of fatty infiltration or cirrhosis of the liver in relation to ethanol consumption: a case control study. *Clin Invest Med* 1986; 9:26-32.
11. Ugarte G, Iturriaga H, Insunza I. Some effects of ethanol on normal and pathological livers. Popper M, Schaffner F (eds). *In Progress in Liver Disease, vol 3*. New York, *Grune Straton*, 1970.
12. Becker U, y cols. Prediction of rise of liver disease by alcohol intake, sex and age: a prospective population study. *Hepatology* 1996, 23: 1025.
13. Naveau S, y cols. Excess weight risk factor for alcoholic cirrhosis. *Hepatology* 1997, 25:108.
14. Foody W, y cols. Nutritional therapy for alcoholic hepatitis: new life for an old idea. *Gastroenterology* 2001, 120:1053.
15. Tilg H, y cols. Cytokines in alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis. *N Eng J Med* 2000, 343:1467.
16. Lieber CS. Medical disorders of alcoholism. *N Eng J Med* 1995; 333:1058.
17. Kapadia C. Alcoholic steatosis: the Kupfer cell-a villain? *Gastroenterology* 2001; 120:581.
18. Avunduk C. *Manual of Gastroenterología*. Capítulo 50, 2006; 376-384.

19. Dienstag JL e Isselbacher KL. Hepatitis crónica; en Brawnwalld E, Isselbacher KJ, Petersdof RG y cols. Harrison: Principios de Medicina Interna 13ª edición en español. México, Interamericana. Mc Graw-Hill, 1995; 1699-1705.
20. Dibisceglie AM, Goodman ZD, Ishak KG, Hoofnagle JH, Melpolder JJ, Alter HJ. Long-term clinical and histopathological follow-up of chronic posttransfusion Hepatitis. *Hepatology* 1991; 14:969-974.
21. Seeff LB, Buskell-Bales Z, Wright EC, Durako SJ, Alter HJ, Iber FL, Hollinger FB, Gitnick G, Knodell RG, Perrillo RP. Long term mortality after transfusion associated non-A non-B hepatitis. *N Eng j* 1992; 327:1906.
22. Mendenhall CL, Seeff L, Diehl AM, Ghons SJ, French SW, Gartside PS, Rouster SD, Buskell-Bales Z, Grossman CJ, Roselle GA. Antibodies to hepatitis B virus and hepatitis C virus in alcoholic hepatitis and cirrhosis: Their prevalence an clinical relevance. The VA Cooperative Study Group. *Hepatology* 1991; 154:581-589.
23. Liaw YF, Tai DI, Chu CM, Chen TJ. The development of cirrhosis in patients with chronic type B hepatitis: a prospective study. *Hepatology* 1988; 8:493-496.
24. Realdi, Alberti A, Rugge M, Rigoli AM, Tremolada F, Shivazappa L, Ruol A. Long-term follow-up of acute an chronic NANB postransfusion hepatitis: evidence of progression to liver cirrhosis. *Gut*, 1982; 23:270-275.
25. Weissberg, Andres LL, Smith CT, Weick S, Nichols JE, Garcia G, Robinson WS, Merigan TC, Gregory PB. Survival in chronic hepatitis B : an analysis of 379 patients. *Ann Intern Med* 1984; 101: 613-616.
26. Conn HO, Atterbury CE. Cirrhosis. In Schiff L and Schiff ER, eds. *Diseases of the liver*, 6th edn. Philadelphia: JB Lippincott Co. 1987; 725-864.
27. Leibach WK. Cirrhosis in alcoholics and its relation to the volume of alcohol abuse. *Ann NY Acad Sci* 1975; 252: 85-105.
28. Runyon BA. Bacterial infections in patients with cirrhosis. *J Hepatol*, 1993 Jul; 18:271-2.
29. Gómez F, Ruiz P, Schreiber AD. Impaired function of macrophage Fc gamma receptors and bacterial infection in alcoholic cirrhosis. *N Eng J Med*, 1994 Oct 27; 331:1122-8.
30. Caly WJ, Strauss E. A prospective study of bacterial infections in patients with cirrhosis. *J Hepatol* 1993 Jul; 18:353-8.
31. LeVeen HH, Piccone VA, and Hutto RB. Manegement of ascites with hydrothorax. *American Journal of Sugery*, 1985; 148:210-13.
32. Mc Cormack TT, et al. Gastric lesions in portal hypertension: inflammatory gastritis or congestive gastrophyty? *Gut*, 1985; 26:1226-32.
33. Grace ND, y cols. Portal hypertension and variceal bleeding. *Hepatology* 1998, 28: 868.
34. Hegab AM, y cols. Bleeding esophageal varices. *Postgrad Med* 2001, 109:75.
35. Bassile AS, y cols. Ammonia and GABAA-ergic neurotransmission: inter-related factors in the pathogenesis of hepatic encephalopathy. *Hepatology* 1997, 25:130.
36. Abon-Assi, y cols. Hepatic encephalopathy. *Postgrad Med* 2001, 109:52.

37. Francavilla , Gastro, 1987; 92:203.
38. Van Thiel DH, et al. Patterns of hypothalamic pituitary gonadal dysfunction in men with liver disease due to differing etiologies. *Hepatology* 1981; 1:39-46.
39. Van Thiel DH, Gavaler JS, and Schade RR. Liver disease and the hypothalamic pituitary gonadal axis *Seminars in Liver Disease*, 1985; 5:35-45.
40. Arky RA, Freinkel N. Alcohol hypoglycemia. V. Alcohol infusion to test gluconeogenesis in starvation, with special reference to obesity. *N Engl J Med*, 1966 Feb 24 ; 274:426-33.
41. Mc Fazdean, *Am J Med*, 1969; 47:220.
42. Hercker R, Sherlock S. Electrolyte and circulatory changes in terminal liver failure. *Lancet* 1956; 2: 1121-5.
43. Arroyo V, Bataller R, Guevara M. Treatment of hepatorenal syndrome. En: Arroyo V, Ginés P, Rodés J, Schrier RW, editors. *Ascities and renal dysfunction in liver disease. Pathogenesis, diagnosis and treatment*. Malden: Blackwell Science, 1999; 492-510.
44. Martin PY, Ginés P, Schrier RW. Nitric oxide as a mediator of hemodynamic abnormalities and sodium and water retention in cirrhosis. *N Eng J Med* 1998; 339: 533-41.
45. Arroyo V. Definition and diagnostic criteria of refractory ascities and hepatorenal syndrome in cirrhosis. *Hepatology* 1996, 23:164.
46. Ellis G, Goldberg DM, Spooner RJ, and Ward AM. Serum enzyme tests in diseases of the liver and biliary tree. *American Journal of Clinical Pathology* 1978, 70:248-258.
47. Williams ALB, and Hoofnagle JH. Ratio of serum aspartate to alanine aminotransferase in chronic hepatitis. Relationship to cirrhosis. *Gastroenterology*, 1988; 95:734-739.
48. Rosalki S and Rau D. Serum gamma-glutamyl-traspeptidase activity in alcoholism. *Clinica Chimica Acta*, 1972; 39:41-47.
49. Reichling JJ and Kaplan MM. Clinical use of enzymes in liver disease. *Digestive Diseases and Sciences*, 1988; 33: 1601-1614.
50. Harbin WP, Robert NJ and Ferruci JC. Diagnosis of cirrhosis based in regional changes in hepatic morphology. *Radiology*, 1980; 135:173.
51. Sandford NL, Walsh P, Matis C et al. Is ultrasonography useful in the assessment of diffuse parenchymal liver disease? *Gastroenterology*, 1985; 89:186-191.
52. Giorgio A, Amoroso P, Lettieri G et al. Cirrhosis: Value of caudate to right lobe ratio in diagnosis with U.S *Radiology* 1986; 161:443-445.
53. Finet L, Yzet T, Davion T, Tossou H, Joly JP, Capron D, Capron JP. Increase fasting gallbladder volume: a new ultrasonic sign of cirrhosis? *Gastroenterol Clin Biol*, 1991; 15:678-8.
54. *Radiology*, 1994; 193:533.
55. *Radiology*, 1991; 178:493. *Lin Ultrasound*. 1984; 12:75.
56. Lebrech D, et al. Portal hypertension, size of esophageal varices, and risk of gastrointestinal bleeding in alcoholic cirrhosis. *Gastroenterology*, 1980; 79:1139-1144.



57. Gluud C, Henriksen JH, Nielsen G, and the Copenhagen Study Group for Liver Diseases, Prognostic indicators in alcoholic cirrhosis men. *Hepatology*, 1988; 8:222-227.
58. North Italian Endoscopic Club for the Study and Treatment of Esophageal Varices. Prediction of the first variceal haemorrhage in patient with cirrhosis of the liver and esophageal varices. A prospective multicenter study. *New England Journal of Medicine*, 1988; 319: 983-989.
59. Lebrec D, Golbfard G, Degott C et al. Transvenous liver biopsy: An experience based on 1000 hepatic tissues samplings with this procedure. *Gastroenterology*, 1982; 83:338-340.
60. Powell WJ and Klatskin G. Duration of survival in patients with Laennec's cirrhosis. *American Journal of Medicine*, 1968; 44:406-420.
61. Saunders, *BMJ*, 1981; 282:263.
62. Ratnoff OD and Pack AJ Jr. The natural history of Laennec's cirrhosis of the liver: analysis of 386 cases. *Medicine*, 1942; 21:207-268.
63. D'Amico G, Morabito A, Pagliaro L, Marubini E, the Liver study Group of V. Cervello hospital. Survival and prognostic indicators in compensated and descompensated cirrhosis. *Dig Dis sci* 1986; 31:468-475.
64. Child CG, turcotte JG. Surgery and portal hypertension. *Major Probl Clin Surg* 1964; 1:1-85.
65. Infante-Rivard C, Esnaola S, Villeneuve JP. Clinical and statistical validity of conventional prognosis in predicting short-term survival among cirrhosis. *Hepatology*, 1987; 7:660-664.
66. Orrego H, Israel Y, Blake JE, Medline A. Assessment of prognosis factor in alcoholic liver disease towards a global quantitative expression of severity. *Hepatology* 1983; 3:896-905.
67. Gluudd C, Henriksen JH, Nielssen G, and the Copenhagen Study Group for Liver diseases. Prognosis indicators in alcoholic cirrhosis men. *Hepatology* 1988; 8:222-227.
68. Albers I, Hartmann H, Bircher J, Creutzfeld W. Superiority of the Chil-Pugh classification to quantitative liver function test for assessing prognosis of the liver cirrhosis. *Scand J Gastroenterol*, 1989; 24: 269-276.
69. Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *J Biol Chem* 2000; 275:2247-2250.
70. Schuppan D. Structure of the extracellular matrix in normal and fibrotic liver: collagens and glycoproteins. *Seminars in Liver Diseases*, 1990; 10:1-10.
71. Gressner AM. Activation of proteoglycan synthesis in injured liver, a brief review of molecular and cellular aspects. *European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*, 1994; 32:225-237.
72. Prockop DJ and kivirikko KI. Collagens: molecular biology, diseases and potentials for therapy. *Annual Review of Biochemistry*, 1995; 64: 403-434.
73. Neubauer, *Gastroenterology* 1995; 9:1401.
74. Lane TF and Sage EH. The biology of SPARC, a protein that modulates cell- matrix interactions. *FASEB Journal*, 1994; 8:163-173.
75. Porto, *AnatRec*, 1990; 228:392.

76. S Benlloch, B Beltrán, R Romero y M Berenguer. Fibrogénesis y trasplante hepático. *Gastroenterol Hepatol* 2003, 26(6): 381-395.
77. Van Thiel DH, Gavaler JS, Lester R, Loriaux DL, Braunstein GD. Plasma oestrone, prolactin, neurophysin, and sex steroid binding globulin in chronic alcoholic men. *Metabolism*, 1975; 24:1015-1019.
78. Mowat NAG, Edward CR, Fisher R, McNeilly AS, Green JR, Dawson AM. Hypothalamyc-pituitary-gonadal function in men with cirrhosis of the liver. *Gut*, 1976; 17:345-350.
79. Cavanaugh J, niewoeher CB and Nuttall FQ. Gynecomastia and cirrhosis of the liver. *Arch Inter Med*: 1990; 150:563.
80. Martinez-Riera A, Santolaria-Fernandez F, Gonzalez-Riemens E et al. Alcoholic hypogonadism: response to clomiphene. *Alcohol* 1995; 12:581.
81. Ho KY, Evans WS, Blizzard RM, Veldhuis JD, Merriam GR, Samojlik E, Furlanetto R, Rogol AD, Kaiser DL, Thorner MO. Effects of sex and age on the 24-hour profile of growth hormone secretion in man: importance of endogenous estradiol concentrations. *J Clin Endocrinol Metabol* 1987; 64:51-58.
82. Hogartman ML, Veldhuis JD, Johnson ML, Lee MM, Alberti KGMM, samojlik E, Thorner MO. Augmented growth hormone (GH) secretory burts frequency and amplitude mediate enhanced GH secretion during a two day fast in normal men. *J Clin Endocrinol Metabol*, 1992; 74:757-765.
83. Taylor AL, Lipman RL, Salam A, Mintz DH. Hepatic clearance of human growth hormone. *J Clin Endocrinol Metabol*, 1972; 34: 395-399.
84. Russel WE, D'Ercole Aj, Underwood LE. Somatomedin C / insulin-like growth factor I during liver regeneration. *Am J Phys* 1985; 248:E618-E623.
85. Steward A, Johnston DG, Alberti KG, Nattrass M, Wright R. Hormone and metabolite profiles in alcoholic liver disease. *Eur J Clin Invest*, 1983; 13:397-403.
86. Shankar TP, Fredi JL, Himmelstein S, Solomon SS, Duckworth WC. Elevated growth hormone levels and insulin resistance in patients with cirrhosis of the liver. *Am J Med Sci* 1986; 291: 248-254.
87. Minuto F, Berreca A, Del Monte P, Buffia C, Beverino R, Montale F, Torre G, Giordano G. In vivo an in vitro effect of liver on somatomedin generation. *Horm Metabolism Res*, 1984; 16: 663-666.
88. Buzzeli G, Dattolo P, Pinzani M, Brocchi A, Romano S, Gentilini P. Circulating growth hormone and insulin-like growth factor-I in nonalcoholic liver cirrhosis with or without siperimposed hepatocarcinoma: evidence of an altered circadian rhythm. *Am J Gastroenterol*, 1993; 88:1744-1748.
89. Wu JC, Daughaday WH, Lee SD, Hsiao TS, Chou CK, Tsai YT, Chiang BN. Radioimmunoassay of serum IGF-I and IGF-II in patients with chronic liver diseases and hepatocellular carcinoma with or without hypoglycemia. *J Lab Clin Med*, 1988; 112:589-594.
90. Moller S, Juul A, Becker U, Flyvbjerg A, Skakkaebak NE, Henriksen JH. Concentrations, release and disposal of insulin-like growth factor (IGF)-binding proteins (IGFBPI), IGF-I and growth hormone in different vascular beds in patients with cirrhosis. *J Clin Endocrinol Metab*, 1995; 80:1148-1157.

91. Donaghy A, Ross R, Gimson A, Hughes SC, Holly L, Williams R. Growth hormone, insulinlike growth factor-I and insulinlike growth factor binding proteins I and III in chronic liver disease. *Hepatology*, 1995; 21:680-688.
92. Assaad AN, Gunningham GR and Samaan NA. Abnormal growth hormone dynamics in chronic liver disease do not depend on severe parenchymal disease. *Metabolism*, 1990; 39:349-356.
93. Mundy GR, Chen D, Oyajobi BO,. Bone remodeling. Primer on metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism. Washington: American Society for Bone an Mineral Research; 2003, p.46-47.
94. Dempster SW. New concepts in bone remodeling. Seibel MJ, Robins SP, Bilezikian JP. Dynamics of bone and cartilage metabolism. San Diego: Academic Press; 1999, p.261-73.
95. NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevencion, Diagnosis an Therapy. *JAMA*, 2001; 285:785-95.
96. Sosa Henríquez, Consecuencias de la osteoporosis. Osteoporosis: una guía para profesionales de la salud. Madrid: Fundación Hispana de Osteoporosis y Enfermedades Metabólicas Óseas (FHOEMO); 1997. P.21-4.
97. Cummings SR, Melton LJ. Epidemiology an outcomes of osteoporotic fractures. *Lancet*, 2002; 359:1761-7.
98. Melton LJ. How many women have osteoporosis now? *J Bone Miner Res*, 1995; 10:175-177.
99. Nevitt MC, Cummings SR. Type of fall and risk of hip and wrist fractures: a study of osteoporotic fractures. *J Am Geriatr Soc*, 1993; 41: 1226-1234.
100. WHO Study Group 1994 Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Geneva: World Health Organization; Tech Rep Ser 843.
101. Hastell R, Hampton L, Colwell a. Urinary collagen crosslinks aare highly correlated with radioisotopic measurements of bone resorption. In: Christiansen C, Overgaard K, editors. Osteoporosis. Copenhagen: Osteopress, 1990: 469-470.
102. Owen ME. Lineage of osteogenic cells and their relationship to the stromal system. In: Peck WA, ed. Bone and mineral research. Volume 3. Amsterdan:Elsevier, 1985:1-25.
103. Ducy P, Schinke T, Karsenty G. The osteoblast: a sophisticated fibroblast under central surveillance. *Science*, 2000; 289:1501-1504.
104. Suda T, Takahashi N, martin TJ. Modulation of osteoclast differentiation. *Endocr Rev*, 1992; 13:66-80.
105. Teitelbaum SL. Bone resorption by osteoclasts. *Science*, 2000; 289:1504-1508.
106. Noble BS, Reeve J. Osteocyte function, osteocyte death and bone fracture resistance. *Molec Cell Endocrinol*, 2000; 159: 7-13.
107. Kull Jr, FC 1988 The TNF receptor in TNF-mediated cytotoxicity. *Nat Inmun Cell Growth Regul* 7: 254-265.
108. Peetre C, Trysell H, Grubb A, Olsson I 1988. A tumor necrosis factor binding protein is present in human biological fluids. *Eur J Haematol* 41; 414:419.

109. Eugelberts I, Moeller A, Schoen GJM, Van DerLindeCJ, Buurman WA 1991. Evaluation of measurement of human TNF in plasma by ELISA. *Lymphokine Cytokine Res* 20:69-76.
110. Tracey K, Cerami A. Tumor necrosis factor: an update review of its biology. *Cri Care Med* 1993; 21: 415-22.
111. Vassalli P. The pathophysiology of tumor necrosis factors. *Annu Rev Inmunol* 1992; 10. 411-452.
112. Breunan FM, Maini RN, Feldman M. TNF $\alpha$ : a pivotal role in rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol* 1992; 6: 485-516.
113. Jacob CO, Fronck Z, Lewis GD. Heritable major histocompatibility complex class II-associated differences in production of tumor necrosis factor  $\alpha$ : relevance to genetic predisposition to systemic lupus erythematosus. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 1233-7.
114. Loetscher H, Pan Y-CE, Lahm H-W, Grentz R, Brockhaus M, Tabuchi H, Lesslauer W 1990. Molecular cloning and expression of human 55 kd tumour necrosis factor receptor. *Cell* 61:361-370.
115. Smits CA, Davis T, Anderson D, Solan L, Beckmann MP, Jerzy R, Dower SK, Cosman D, Goodwin RG 1990. A receptor for tumour necrosis factor defines an unusual family of cellular and viral proteins *Science* 248: 1019-1023.
116. Diez Ruiz A, Tilz GP, Zaugerle R, Baier-Bitterlich G, Wachter H, Fuchs D 1995. Soluble receptors for tumor necrosis factor in clinical laboratory diagnosis. *Eur J Haematol* 54:1-8.
117. Aderka D, Engelmann H, Maor Y, Brakebush C, Wallach D 1992. Stabilization of the bioactivity of tumor necrosis factor by its soluble receptors. *J Exp Med* 175:323-329.
118. Aukrust P, Liabakk NB, Müller F, Lien E, Espevik T, Froland SS 1994. Serum levels of tumor necrosis factor  $\alpha$  and soluble tumor necrosis factor receptors in individuals with human immunodeficiency virus type I infection. Correlations to clinical, immunologic, and virologic parameters. *J Infect Dis* 169:420-424.
119. Zaugerle R, Gallati H, Sarcelletti R, Wachler H, Fuchs D 1994. Tumor necrosis factor  $\alpha$  and soluble tumor necrosis factor receptor in individuals with human immunodeficiency virus infection. *Inmunol Lett* 41: 229-234.
120. IK Campbell, LJ Roberts, IP Wicks: Molecular targets in immune-mediated diseases: the case of tumor necrosis factor and rheumatoid arthritis. *Immunology and Cell Biology* 2003; 81: 354-366.
121. Van Denventer SJH. Tumor necrosis factor and Crohn's disease. *Gut* 1997; 40: 443-448.
122. Panagiotis P, Gregori C, Fanning, Athol U, Wells, Kenneth I, et al. Analysis of tumor necrosis factor receptor II, an interleukin-6 polymorphisms in patient with idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 163:1432-36.
123. Raisz LG. Physiology and pathophysiology of bone remodeling. *Clin Chem*, 1999; 45:1353-8.
124. J. Gonzalez y JM Olmos Martinez. Fisiopatología de la osteoporosis. *Guía osteoporosis. Medicine*, 2006; 9 extr 1: 8-14.
125. Horton MA, Davies J. Perspectives: adhesion receptors in bone. *J Bone Miner Res*, 1989; 4: 803-807.

126. Parfitt AM. The cellular basis of the bone remodeling. The quantum concept re-examined in light of recent advances in cell biology. *Calcif Tissue Int*, 1984; 36: 37-45.
127. Eriksen EF. Normal and pathological remodeling of human trabecular bone: three-dimensional reconstruction of the remodeling sequence in normal and in metabolic bone diseases. *Endocr Rev*, 1986; 7:379-408.
128. Stavros C, Manolagas SC, Jilka RL. Bone marrow, cytokines and bone remodeling. In Review articles. *N Eng J Med*, 1995; 332:305-311.
129. Canalis E. Regulation of bone remodeling. En: Murray JF, ed. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism* (3<sup>a</sup> ed.). Philadelphia: Lippincott, Raven, 1996; 29-34.
130. Troen BR. Molecular mechanisms underlying osteoclast formation and activation. *Experimental Gerontology*, 2003; 38:606-614.
131. Troen BR. Molecular mechanisms underlying osteoclast formation and activation. *Experimental Gerontology*, 2003; 38: 606-14.
132. Khosla S. Leptin-central or peripheral to the regulation of bone metabolism? *Endocrinology*, 2002; 143: 4161-4.
133. Manolagas SC, Jilka RL. Bone marrow, cytokines. And the bone remodeling. *N Eng J Med* 1995; 332: 305-11.
134. Boyle WJ, Scott Simonet W, Lacey DJ. Osteoclast differentiation and activation. *Nature*, 2003; 423:337-42.
135. Khosla S. Minireview: The OPG/RANKL/RANK system. *Endocrinology*, 2001; 142(12):5050-5055.
136. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Lüthy R, Nguyen HQ, Wooden S, Bennett L, Boone T, Shimamoto G, DeRose M, Elliot R, Colombero A, Tan HL, Trail G, Sullivan J, Davy E, Bucay N, Renshaw-Gegg I, Hughes TM, Hill D, Pattison W, Campbell P, Sander S, Van G, Tarpley J, Derby P, Lee R, Boyle WJ. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell*, 1997; Apr 18;89(2):309-319.
137. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Mochizuki SI, Yano K, Fujise N, Sato Y, Goto M, Yamaguchi K, Kuriyama M, Kanno T, Murakami A, Tsuda E, Morinaga T, Higashio K. Identity of osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF) and osteoprotegerin (OPG): a mechanism by which OPG/OCIF inhibits osteoclastogenesis in vitro. *Endocrinology*, 1998 Mar;139(3):1329-1337.
138. Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR, Lacey DL, Spelsberg TC, Riggs BL. Estrogen stimulates gene expression and protein production of osteoprotegerin in human osteoblastic cells. *Endocrinology*, 1999 Sep; 140(9):4367-4370.
139. Fiore CE, Falcidia E, Foti R, Motta M, Tamburino C. Differences in the time course of the effects of oophorectomy in women on parameters of bone metabolism and interleukin-1 levels in the circulation. *Bone Miner*, 1993; 20:79-85.
140. Inzucchi SE, Robbins RJ. Effects of growth hormone on human bone biology. *J Clin Endocrinol Metab*, 1994; 79:691-694.

141. Jull A, Pedersen SA, Sorensen S, Winkler k, Jorgensen JO, Christiansen JS, Skakkeback NE. Growth hormone (GH) treatment increases serum insulin-like growth factor binding protein-3, bone isoenzymes alkaline phosphatase and forearm bone mineral content in young adults with GH deficiency of childhood onset. *Eur J Endocrinol*, 1994; 131:41-49.
142. Binoux M, Lassare C, Hardouin N. Somatomedin production by rat liver in organ culture. *Acta Endocrinol*, 1982; 99:422-460.
143. Langford KS, Miell JP. The insulin-like growth factor-I/binding protein axis: physiology, pathophysiology, and therapeutic manipulation. *Eur J Clin Invest*, 1993; 23:503-516.
144. Baxter RC. Circulating binding proteins for the insulin-like growth factors. *Trends Endocrinol Metab*, 1993; 4: 91-96.
145. Schawander JC, Hauri C, Zapf J, Froesch ER. Synthesis and secretion of insulin-like growth factor and its binding protein by the perfused rat liver. Dependence on growth hormone status. *Endocrinology*, 1983; 113:297-305.
146. Cohick WS, Clemmons DR. The insulin-like growth factors. *Annu Rev physiol*, 1993; 55:131-153.
147. Uthne K, Uthne T. Influence of liver resection and regeneration of somatomedin (sulfation factor) activity sera from normal and hypophysectomized rats. *Acta Endocrinol*, 1971; 71:225.
148. Ernst M, Froesch ER. Growth hormone dependent stimulation of osteoblast-like cells in serum-free cultures via local synthesis of insulin-like growth factor-I. *Biochem Biophys Res Commun*, 1988; 151:142-147.
149. Inzucchi SE, Robbins RJ. Effects of growth hormone on human bone biology. *J Clin Endocrinol Metab*, 1994; 79:691-694.
150. Gray TK, Mohan S, Linkhart TA, Baylink DJ. Estradiol stimulates in vitro the secretion of insulin-like growth factors by the clonal osteoblastic cell line, UMR-106. *Biochem Biophys Res Commun*, 1989; 158: 407-412.
151. Canalis E, Centrella M, Burch W, Mc carthy TL. Insulin-like growth factor I mediates selective anabolic effects of parathyroid hormone in bone cultures. *J Clin Invest* 1989; 83:60-65.
152. Chenu C, valentine-Opran A, Chavassieux P, Saéz s, Menuhier PJ, delmas PD. Insulin-like growth factor I hormonal regulation by growth hormone and by 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and activity on human osteoblast-like cells in short-term cultures. *Bone*, 1990; 11:81-6.
153. Kassem M. Cellular and molecular effects of growth hormone and estrogen on human bone cells. *AP MIS*, 1997; supl 71; 105.
154. Daniels GH, Martin JB. Regulation neuroendocrina y enfermedades de la hipófisis anterior del hipotálamo; en: Brawnwald E, Isselbacher KL, Petersdof RG et al. *Principios de Medicina Interna* 13ª edición en español. México, Interamericana. McGraw-Hill, 1991; 1992-1950.
155. Canalis E. Insulin-like growth factors and osteoporosis. *Bone*, 1997; 21:215-216.
156. Kassem M, Brixen K, Blum W, Mosekilde L, Eriksen EF. No evidence for reduced spontaneous or growth-hormone-stimulated serum levels of insulin-like growth factor IGF-I, IGF-II or binding protein 3 in women with spinal osteoporosis. *Eur J Endocrinol*, 1994; 131: 150-155.

157. Kanzaki S, Baxter RC, Knutsen R, Baylink DJ, Mohan S. Evidence that human bone cells in culture secrete insulin-like growth factor (IGF)-II and IGF binding protein-3 but not acid labile subunit both under basal and regulated conditions. *J Bone Min Res*, 1995; 10:854-858.
158. Hassager C, Spencer EM, Fitzpatrick LA, Riggs BL, Conover CA. Basal and regulated secretion of insulin-like growth factor binding proteins in osteoblast-like cells is cell line specific. *J Clin Endocrinol Metab*, 1992; 75:228-233.
159. Nilsson A, Swolin D, Enerback S, Ohlsson C. Expression of functional growth hormone receptors in cultured human osteoblast-like cells. *J Clin Endocrinol Metab*, 1996; 80: 3483-3488.
160. Seeman E., Invited review: Pathogenesis of osteoporosis. *J Appl Physiol*, 2003, 95: 2142-51.
161. Riggs BL, Klossa S, Melton LJ. A unitary model for involutional osteoporosis: Estrogen deficiency causes Type I and Type II osteoporosis in postmenopausal women and contributes to bone loss in aging men. *J Bone Miner Res*, 1998; 13: 763-73.
162. Aubin JE, Bonnellye E. Osteoprotegerina and its ligand: a new paradigm for regulation of osteoclastogenesis and bone resorption. *Osteoporos Int*, 2000; 11:905-13.
163. Pacifici R. Estrogen, cytokines, and pathogenesis of postmenopausal osteoporosis.
164. Kelly PJ, Nguyen T, Hopper J, Pocok N, Sambrook P, Eisman J. Changes in axial bone density with age: a study. *J Bone Miner Res* 1993; 8:11-7.
165. Vazquez Gámez MA, Montoya MJ, Gómez de Tejada MJ, et al. Niveles séricos de osteoprotegerina en mujeres sanas osteoporóticas. *REEMO*, 2003; 12 (3): 63-7.
166. Seeman E. Pathogenesis of bone fragility in women and men. *Lancet* , 2002; 359:1841-50.
167. Auerbach GD. Parathyroid hormone, calcitonin and the calciferols. *Textbook of Endocrinology*. Editado por Williams RH. WB Saunders. Ed 1981; 985-1053.
168. Norman AW, Roth L, Orci L. The vitamin D endocrine system: steroid metabolism, hormone receptors and biological response (calcium binding proteins). *Endocr Rev* 1982; 3:331-336.
169. Staal, Birkenhager JC, Pols HA, Buurman CJ, Vink-van Wijngaarden T, Kleinekoort WM, Van den Bmd GJ, Van leeuwen JP. Transforming growth factor B-induce dissociation between vitamin D receptor level and 1,25 (OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> action in osteoblast-like cells. *Bone Miner*, 1994; 26:27-42.
170. Centrella M, Mc Carthy TL, Kusmik WF, Canalis E. Isoform-specific regulation of platelet-derived growth factor activity and binding in osteoblast-enriched cultures from fetal rat bone. *J Clin Invest*, 1992; 89: 1076-1084.
171. Draper MW. The structure of parathyroid hormone. Its effects on biological action. *Mineral Electrolyte Metab*, 1982; 8: 159-172.
172. Martin KJ, Hruska KA, Freitag JJ, Klahr S, Slatopolsky E. The peripheral metabolism of parathyroid hormone. *N Engl j Med*, 1979; 301: 1092-1098.
173. Nussbaum SR, Zahradnik RJ, Lavigne JR, Brennan GL, Nozawa-Ung K, Kim LY, Keutmann HT, Wang CA, Potts JT, Segre GV. Highly sensitive two-site immunoradiometric assay of parathyrin and its clinical utility in evaluating patients with hypercalcemia. *Clin Chem*, 1987; 33: 1364.
174. Martinez ME, Fisiología del metabolismo mineral. *Medicine*, 1993; 32:1336-1349.

175. Knox FJ, Osswald H, Marchand GR, Spielman WS, Haas JA, Berndt T, Youngberg SP. Phosphate transport along the nephron. *Am J Physiol*, 1977; 233: 261-280.
176. De Luca HF, Schonoes HK, Vitamin D: recent advances. *Ann Rev Biochem*, 1983; 52:411-439.
177. Brunette MG, Chan M, Ferreire C, Roberts KD. Site of 1,25 (OH)<sub>2</sub> vitamina D<sub>3</sub> synthesis in the kidney. *Nature*, 1978; 276: 287-289.
178. De Luca HF. The metabolism, physiology and function of vitamin D. in: vitamin D: Basis and clinical aspect. Editado por R Kumar. Martinus Nijhoff publisher. Boston. Ed 1984.
179. Muñoz M. Aportaciones al diagnóstico de hiperparatiroidismo primario tratado quirúrgicamente y otros desórdenes del metabolismo mineral. Tesis doctoral. Facultad de Medicina de Granada, 1987.
180. De Franco DJ, Glowacki J, Cox KA, Lian JB. Normal bone particles are preferentially resorbed in the presence of osteocalcin-deficient bone particles in vivo. *Calcify tissue int*, 1991; 49: 43-50.
181. Bikle DD, Genant HK, Cann C, Recker RR, Halloran BP, Strewler GJ. Bone disease in alcohol abuse. *Ann Intern Med*, 1985; 103: 42-48.
182. Bachelet M, Lacey B, Uman A. Early effects of 1,25 dihydroxivitamin D<sub>3</sub> on phosphate absorption. A role for alkaline phosphatase. *Min Elect Metab*, 1982; 8: 261-266.
183. Austin LA, Heath HH. Calcitonin: Physiology and pathophysiology. *N Eng J Med*, 1981; 304: 269-274.
184. Giustina A, Angeli A, Canalis E. Glucocorticoid-induced osteoporosis. Basilea, Karger, 2002.
185. Saag KG. Glucocorticoid-induced osteoporosis. *Endocrinol Metab Clin Am* 2003; 32: 135-157.
186. Lukert BP. Glucocorticoid-induced osteoporosis. En: Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism. 5ª ed. Washinton, American Society for Bone and Mineral Research, 2003; 364-370.
187. Turner RT, Riggs BL, Spelsberg TC. Skeletal effects of estrogen. *Endocr Rev*, 1994; 16:275-300.
188. Buchanan JR, Hospadar P, Myers C, Livienberger P, Demers LM. Effect of excess endogenous androgens on bone density in young women. *J Clin Endocr Metab*, 1988; 67: 937-943.
189. Eriksen EF, Colvard DS, Berg NJ, Graham ML, Mann KG, Spelsberg C, Riggs BL. Evidence of estrogen receptors in normal human osteoblast-like cells. *Science*, 1988; 241: 84-86.
190. Robinson JA, Riggs BL, Spelsberg TC, Oursler MJ. Osteoclasts and transforming growth factor-B: estrogen-mediated isoform-specific regulation of production. *Endocrinology*, 1996; 137: 615-621.
191. Pacifici R, Brown c, Puscheck E et al. Effect of surgical menopause and estrogen replacement on cytokine release from human blood mononuclear cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991; 88: 5134-8.
192. Keeting PE, Scott RE, Colvard DS, Han IK, Spelsberg TC, Riggs BL. Lack of a direct effect of estrogen on proliferation and differentiation of normal human osteoblast-like cells. *J Bone Miner Res*, 1991; 6: 297-304.



193. Scheven BA, Damen CA, Hamilton NJ, Verhaar HS, Duursma SA. Stimulatory effects of estrogen and progesterone on proliferation and differentiation of normal human osteoblast-like cells in vitro. *Biochem biophys Res Commun*, 1992; 186:54-60.
194. Barret-connor E, Kritz-Silverstein D. Does hyperinsulinemia preserve bone? *Diabetes Care*, 1996; 19: 1388-1392.
195. Littlejohn GO, Smythe HA. Marked hyperinsulinemia after glucose challenge in patients with diffuse idiopathic skeletal hyperostosis. *J Rheumatol*, 1981; 8: 965-968.
196. Stolk RP, Van Daele PLA, Pols HAP, Burger H, Hofman A, Birkenhager JC, Lamberts SWJ, Grobde DE. Hyperinsulinemia and bone mineral density in an elderly population: the Rotterdam study. *Bone*, 1996; 18:545-549.
197. Yano H, Ohya K, Amagasa T. Effects of insulin on in vitro bone formation in fetal rat parietal bone. *Endo J*, 1994; 41: 293-300.
198. Mykkanen L, Laakson M, Pyorala k. Association of obesity and distribution of obesity with glucose tolerance and cardiovascular risk factors in the elderly. *Int J Obesity*, 1992; 16: 695-704.
199. Riggs BL, Melton LJ III. Involutional osteoporosis. *N Eng J Med*, 1986; 314: 1676-1684.
200. Nguyen TV, Kelly PJ, Sambrook PN, Gilbert C, Pocok NA, Eisman JA. Lifestyle factors and bone density on the elderly: implications for osteoporosis prevention. *J Bone Min Res*, 1994; 9: 1339-46.
201. Pocok NA, Eisman JA, Hopper JL, Yeates MG, Sambrook PN, Eberl S. Genetic determinants of bone mass in adult. A twin study. *J Clin Invest* 1987; 80: 706-710.
202. Smith MA, Sutton D, Tothill P. Comparison between 153 Gd and 241 Am, 137 Cs for dual-photon absorciometry of the spine. *Phys Med Biol* 1983; 28: 709-721.
203. Morrison NA, Qi JC, Tokita et al. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature*, 1994; 367:284-7.
204. Riggs BL, Nguyen TV, Melton LJ, Morrison NA, O'Fallon WM, Kelly PJ, et al. The contribution of vitamin D receptor gene alleles to the determination of bone mineral density in normal and osteoporotic women. *J Bone Miner Res* 1995; 10: 991-6.
205. Lucotte G, Mercier G, Burckel A. The vitamin D receptor Fok I start codon polymorphism and bone mineral density in osteoporotic postmenopausal French women. *Clin Genet*. 1999; 56:221-4.
206. Stewart TL, Ralston SH. Role of genetic factors in the pathogenesis of osteoporosis. *J endocrinol* 2000; 166:235-245.
207. Hunter D, de Lange M, Snieder H et al. Genetic contribution on bone metabolism, calcium excretion, and vitamin D and parathyroid hormone regulation. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 371-8.
208. Eisman LA, Genetics of osteoporosis. *Endocrinol Rev* 1999; 20:788-804.
209. Advani S, Wimalawansa SJ. Bone an nutricion: common sense supplementation for osteoporosis. *Curr Womens Health Rep*. 2003; 3: 187-92.
210. Reid IR, Grey AB. Corticoid osteoporosis. In: Reid DM editor. *Bailliere's Clinical Rheumatology*. London: Bailliere Tindall, 1993; p.573-87.

211. Nieves JW. Calcium, vitamin D, and nutrition in elderly adults. *Clin Geriatr Med* 2003; 19: 321-35.
212. Seeman E, Hooper JL, Bach LA, Cooper ME, Parkinson E, McKay J, et al. Reduced bone mass in daughters of women with osteoporosis. *N Eng J Med* 1989; 320:554-8.
213. Tabensky A, Duan Y, Edmonds J, Seeman E. The contribution of reduced peak accrual of bone and age-related bone loss to osteoporosis at the spine and hip: insights from the daughters of women with vertebral or hip fractures. *J Bone Miner Res.* 2001; 16: 1101-7.
214. Becherini L, Gennari L, Masi L et al. Evidence of linkage disequilibrium between polymorphisms in the human estrogen receptor alpha gene and their relationship to bone mass variation in postmenopausal Italian women. *Hum Molec Genet* 2000; 9:2043-50.
215. Slemenda CW, Christian JC, Williams CJ, Norton JA, Johnston CC. Genetic determinants of bone mass in adult woman: a reevaluation of the twin model and the potential importance of gene interaction of heritability estimated. *J Bone Min Res*, 1991; 6: 561-567.
216. Masi L, Becherini L, Gennari L et al. polymorphism of the aromatase gene in postmenopausal Italian women: distribution and correlation with bone mass and fracture risk. *J Clin Endocrinol Metab* 2001, 86: 2263-69.
217. Wynne F, Drummond F, O'Sullivan K, Daly M, Shanahan F, Molloy MG, et al. investigation of the genetic influence of the OPG, VDR (Fok1), and COL1A1 Sp1 polymorphisms on BMD in the Irish population. *Calcif Tissue Int.* 2002; 71: 26-35.
218. Nilson A, Swolin D, Enerback S, Ohlsson C. expression of functional growth hormone receptors in cultured human osteoblast-like cells. *J Clin Endocrinol Metab*, 1996; 80:3483-3488.
219. Melton LJ, Chao EYS, Lane J. Biochemical aspects of fractures. En: Riggs BL, Melton LJ, eds. *Osteoporosis: Etiology, Diagnosis and Management*. New York: Raven Press, 1988; 111-131.
220. Manolagas SC, Jilka RL. Bone marrow, cytokines, and bone remodeling. Emerging insights into the pathophysiology of osteoporosis. *N Eng J Med* 1995; 332: 305-311.
221. Rosen CJ, Donahue LR, Hunter SJ, Insulin-like growth factor and bone: the osteoporosis connection. *Proc Soc Exp Biol Med* 1994; 206: 83-102.
222. Van Hemert AM, Bickenhager JC, De Jong FH, Vandenbroucke JP, Valkenburg HA. Sex hormone binding globulin in postmenopausal women: a predictor of osteoporosis superior to endogenous estrogens. *Clin Endocrinol*, 1989, 31: 499-509.
223. Riggs BL, Klossa S, Melton LJ. Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. *J Cell Biochem* 2002; 23: 279-302.
224. Reid DM, New SA. Nutritional influences on bone mass. *Proc Nutr Soc* 1997; 56: 977-987.
225. Murphy S, Khaw KT, May H, Compston JE. Milk consumption and bone mineral density in middle aged and elderly women. *Br Med J* 1994; 308: 939-41.
226. Reid IR, Ames RW, Evans M et al. Effect of calcium supplementation on bone loss postmenopausal women. *New Eng J Med* 1993; 328: 460-64.
227. Whedon GD. Disuse osteoporosis: physiological. *Calcif Tissue Int*, 1984; 36: 146-450.
228. Skerry TM. Mechanical loading and bone: what sort of exercise is beneficial to the skeleton? *Bone* 1997; 20: 179-181.

229. Drinkwater BL, Nilson K, Chestnut CH et al. Bone mineral content of amenorrheic and eumenorrheic athletes. *New Eng J Med* 1984; 311: 277-281.
230. González-Macías J, Marín F, Vila J et al; Investigaciones del proyecto ECOSAP. Factores de riesgo de fractura osteoporótica en una serie de 5.195 mujeres mayores de 65 años. *Med Clin (Barc)* 2004; 123:85-9.
231. Sosa Henríquez M. Osteoporosis. Factores de riesgo, clasificación y clínica. En. Rapado Errazti A, Díaz Curiel M, editores. *Manual práctico de Osteoporosis en Atención Primaria*. Madrid: Fundación Hispana de Osteoporosis y Enfermedades Metabólicas Óseas (FHOEMO); 1996: 35-44.
232. Raisz LG. Physiology and pathophysiology of bone remodeling. *Clin Chem*. 1999; 45: 1353-8.
233. Gallagher JD. Vitamin D metabolism and therapy in elderly subjects. *South Med J* 1992; 85(2):43-7.
234. Carranza-Lira S, Rosas M, Murillo A, Martínez N, Santos J. Osteoporosis in postmenopausal women (México city): 1. Risk factors. *Int J Fertil Womens Med*, 2002; 47:22-25.
235. Fink K, Clark B. Screening for osteoporosis in postmenopausal women. *Am Fam Physician*. 2004;69: 139-40.
236. Nordin BEC, Need AG, Morris HA, Horowitz M. New approaches to the problems of osteoporosis. *Clin Orthop* 1985; 200: 181-197.
237. Riggs BL, Melton III LJ. The prevention and treatment of osteoporosis. *N Eng J Med* 1992; 327:620-627.
238. Gavalier JS. Alcohol effects on hormone levels in normal postmenopausal women and postmenopausal women with alcohol-induced cirrhosis.
239. Izumotani K, Hagiwara S, Izumotani T, Miki T, Morii H, Nishizawa Y. Risk factors for osteoporosis in men. *J Bone Miner Metab*, 2003; 21: 86-90.
240. Arden NK, Baker J, Hogg C, Baan K, Spector TD. The heredability of bone mineral density, ultrasound of the calcaneus and hip axis length: a study of postmenopausal twins. *J Bone Miner Res* 1996; 11: 30-4.
241. Mann V, Hobson EE, Li B et al. A COLIA 1 Sp1 binding site polymorphism predisposes to osteoporotic fracture by affecting bone density and quality. *J Clin Invest* 2001; 107: 899-907.
242. Barthe N, Basse-Cathalinat B, Meunier PJ, Ribot C, Marchandise X, Sabatier JP, et al. Measurement of bone mineral density in mother-daughter pairs for evaluating the family influence on bone mass acquisition: a GRIPO study. *Osteoporosis Int*. 1998; 8: 379-84.
243. Cummings SR, Block G, McHenry K, Baron RB. Evaluation of two food frequency methods of measuring dietary calcium intake. *Am J Epidemiol*. 1987; 126: 796-802.
244. Matkovic V. Calcium and peak bone mass. *J Intern Med* 1992; 231: 151-60.
245. Toss G. Effect of calcium intake vs other life-style factors on bone mass. *J Intern Med* 1992; 231: 181-186.
246. Massey LK. Caffeine and bone: directions for research. *J Bone Miner Res* 1991; 6: 1149-51.

247. Johnston JD, Smokers have less dense bones and fewer teeth. *JR Soc Health*, 1994; 114: 265-9.
248. Slemenda CW. Cigarettes and the skeleton. *N Eng J Med* 1994; 330:430-1.
249. Hopper JL, Seeman E. The bone density of female twins discordant for tobacco use. *N Eng J Med* 1994; 330: 387-92.
250. Turner RT. Skeletal response to alcohol. *Alcohol Clin Exp Res*, 2000; 24:1693-1701.
251. Moniz C. Alcohol and bone. *Br Med Bull* 1994; 50: 67-75.
252. Bikle DD, Genant HK, Cann C, Recker RR, Halloran BP, Strewler GJ 1985. Bone disease in alcohol abuse. *Ann Intern med* 103: 42-48.
253. González-Calvín JL, García-Sánchez A, Bellot V, Muñoz-Torres M, Raya-Álvarez E, Salvatierra-Rios D 1993. Mineral Metabolism, osteoblastic function and bone mass in chronic alcoholism. *Alcohol Alcoholism* 28: 571-579.
254. García-Sánchez A, González-Calvín JL, Díez-Ruiz A, Casals JL, Gallego-Rojo FJ, Salvatierra D 1995 Effect of acute alcohol ingestión on mineral metabolism and osteoblastic function. *Alcohol Alcoholism* 30: 449-453.
255. González-Calvín JL, García- Sánchez A, Mundi JL 1999. Effect of alcohol consumption on adult bone mineral density and bone turnover markers. *Alcohol Clin Exp Res* 23:1416-17.
256. Khoruts A, Stahnkel, Mc Clain CJ, Logan G, Allen JI 1991. Circulating tumour necrosis factor, interleukin-1 and interleukin-6 concentrations in chronic alcoholic patients. *Hepatology* 13: 267-276.
257. Compston JE 1986. Hepatic osteoditrophy: vitamin D metabolism in patients with liver disease. *Gut* 27: 1073-1090.
258. Diamond TH, Stiel D, Lunzer M, Mc Dowall D, Eckstein RP, Posen S 1989. Hepatic osteodystrophy. Static and dynamic bone histomorphimetry and serum bone Gla-protein in 80 patients with chronic liver disease. *Gastroenterology* 96: 213-221.
259. Slemenda CW, Christian JC, Reed T, Reister TK, Williams CJ, Johnston CC. Long term bone loss in men: effects of genetic and environmental factors. *Ann Intern Med* 1992; 117: 286-91.
260. Holbrook TL, Brett-Connor E A prospective study of alcohol consumption and bone mineral density. *Br Med J* 1993; 306: 1509.
261. Littman AJ, White E, Kristal AR, Patterson RE, Satia-Abouta J, Potter JD. Assesment of a one-page questionnaire on long-term recreational physical activity. *Epidemiology* 2004; 15: 105-13.
262. Nilas L, Christiansen C. Rates of bone loss in normal women: evidence of accelerated trabecular bone loss after the menopause. *Eur J Clin Invest* 1988; 18: 529-34.
263. Dawson-Hughes B, Shipp C, Sadowski L, Dallal G. Bone density of the radius, spine and hip in relation to percent of ideal body weight in postmenopausal women. *Calcif Tissue Int* 1987; 40:310-14.
264. Croucher PI, Vedi S, Motley RJ et al. Reduced bone formation in patients with osteoporosis associated with inflammatory bowel disease. *Osteoporosis Int* 1993, 3: 236-241.

265. Buchman AL. Metabolic bone disease in inflammatory bowel disease. *Curr Treat Options Gastroenterol* 2002; 5: 173-80.
266. Kaus J, Armbrecht G, Steinkamp M, et al. high prevalence of osteoporotic vertebral fractures in patients with Crohn's disease. *Gut* 2002; 51: 654-8.
267. Jahnsen J, Falch JA, Aadland E, Mowinckel P. Bone mineral density is reduced in patients with Crohn's disease but patients with ulcerative colitis: a population based study. *Gut* 1997; 40:313-9.
268. Reid DM, Harvie J. Secondary osteoporosis. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 1997; 11: 83-99.
269. Arden NK, Cooper C. Assessment of the risk of fracture in patients with gastrointestinal disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15:865-8.
270. Bernstein CN, Leslie WD, Leboff MS. AGA technical review on osteoporosis in gastrointestinal diseases. *Gastroenterology* 2003; 124: 795-841.
271. Corazza GR, Di Sario A, Cecchetti L, et al. Influence of pattern of clinical presentation and of gluten-free diet on bone mass and metabolism in adult celiac disease. *Bone* 1996; 18: 525-30.
272. Mora S, Barera G, Ricotti A et al. Reversal of low bone density with a gluten-free diet in children and adolescents with celiac disease. *Am J Clin Nutr* 1998; 67: 477-481.
273. Melton III LJ, Crowson CS, Khosla S, et al. fracture risk after surgery for peptic ulcer disease: a population based cohort study. *Bone* 1999; 25:61-7.
274. Brenckmann C, Papaioannou A. Bisphosphonates for osteoporosis in people with cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2001. CD002010.
275. Conway SP, Morton AM, Oldroyd B, et al. Osteoporosis and osteopenia in adults and adolescents with cystic fibrosis: prevalence and associated factors. *Thorax* 2000; 55. 798-804.
276. Carey E, Balan V. Metabolic bone disease in patients with liver disease. *Curr Gastroenterol Rep* 2003; 5: 71-7.
277. Bisballe S, Eriksen EF, Melsen F, Mosekilde L, Sorensen OH, Hesso I 1991. Osteopenia and osteomalacia after gastrectomy. Interrelations between biochemical markers of bone remodeling, vitamin D metabolites, and bone histomorphometry. *Gut* 32; 1303-1307.
278. Cuthbert JA, Park CYC, Zerwekh JE, Glass KD, Combes B 1984. Bone disease in primary biliary cirrhosis: increased bone resorption and turnover in the absence of osteoporosis or osteomalacia. *Hepatology* 4:1-8.
279. Hodgson SF, Dickson ER, Eastell R, Eriksen EF, Bryant SC, Riggs BL 1993. Rates of cancellous bone remodeling and turnover in osteopenia associated with primary biliary cirrhosis.
280. Janes CH, Dickson ER, Okazaki R, et al. Role of hyperbilirubinemia in the impairment of osteoblast proliferation associated with cholestatic jaundice. *J Clin Invest* 1995; 95: 2581-6.
281. González Sanz-Agüero P, Muñoz Nuñez F, et al. Metabolismo óseo en las hepatopatías crónicas sin colestasis. *Med Clin* 1998; 111:446-50.
282. Gallego Rojo FJ, González Calvín JL, Muñoz Torres M, Mundi JL, Fernandez Pérez R, Rodrigo Moreno D 1998. Bone mineral density, serum insulin-like growth factor I and bone turnover markers in viral cirrhosis. *Hepatology* 28: 695-699.

283. Laitinen K, Lamberg-Allardt C, Tunninen R, Härkönen M, Välimäki M 1992. Bone mineral density and abstention-induced changes in bone mineral metabolism in non cirrhosis male alcoholics. *Am J Med* 93: 642-650.
284. Paul TL, Kerrigan J, Kelly AM et al. Long-term L-thyroxine therapy is associated with decreased hip bone density in premenopausal women. *J Am Med Assoc* 1988; 259: 3137-3141.
285. Cummings SR, Nevitt MC, Browner WS et al. Risk factors for hip fracture in white women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *New Eng J Med* 1995; 332: 767-773.
286. Silverberg SJ, Shane E, Jacobs TP et al. A 10 year prospective study of primary hyperparathyroidism with or without parathyroid surgery. *New Eng J Med* 1999; 1249-1255.
287. Compston J. Glucocorticoid-induced osteoporosis. *Horm Res*, 2003; 60 (3): 77-9.
288. Van Staa TP, Leufkens HGM, Abenhaim L, zang B, Cooper C. Use of oral corticosteroids and rik of fractures. *J Bone Miner Res* 2000; 15: 993-1000.
289. Van Staa TP, Leufkens HGM, Cooper C. Use of inhaled corticosteroids and risk of fractures. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 581-588.
290. Rapado errazti A, editor. Osteoporosis secundarias. Madrid: Asociación Hispana Española de Estudio de la Osteoporosis y Metabolismo Mineral (AHOEMO) y Pharma –Consult S.A 1994.
291. Oefelein MG, Ricchuitii V, et al. Skeletal fracture associated with suppression induced osteoporosis. Theclinical incidence and risk factors for patients with prostate cancer. *J Urol* 2001; 166: 1724-1728.
292. Reid JR, Ames RW, et al. hydrochlorothiazide reduces loss of cortical bone in normal postmenopausal women: a randomized controlled trial. *Am J Med.* 2000; 109: 362-70.
293. Riggs BL, Melton LJ III. Evidence for two distinct syndrome of involutinal osteoporosis. *Am J Med* 1983; 75:889-901.
294. Heany RP, Recker RR, Saville PD. Menopausal changes in bone remodeling. *Lab Clin Med* 1978; 92: 964-70.
295. Gennari G, Agnusdei D, Nardi P, Civitelli R. Estrogen preserves a normal intestinal responsiveness to 1,25 OH D<sub>3</sub> in oophorectomized women. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 71:1288-1293.
296. McKane WR, Khosla S, Burrit MF. Mechanism of renal calcium conservation with estrogen replacement therapy in women in early postmenopause a clinical research center study. *J Endocrinol Metab* 1995; 80: 3458-3464.
297. Ebeling PR, Lynne MA, Janet RG, Burger HG, Dennerstein L, Hopper JL, Wark JD. Bone turnover markers and bone density across the menopausal transition. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 3366-3371.
298. Meunier p, Coupron P, Edouard C, Bernard J, Bringuier J, Vignon X. Physiological senile involution and pathological rarefaction of bone. Quantitative and comparative histological data. *Clin Endocrinol Metab* 1973; 2: 239.
299. Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover I: theoretical considerations an clinical use in osteoporosis. *American J Med* 1993; 95: 11-16.

300. Marcus R. Biochemical markers of bone remodeling. En: Michael Kleeredoper, Stephen M Krane, eds. New York: Mary Ann Liebert Inc publishers 1989; 49-57.
301. Christiansen C. Biochemical markers of bone turnover in diagnosis and assement of therapy. *Calcif Tissue Int (supl)* 1991; A-5 (abstract).
302. Christiansen C, Riis BJ, Rodbro P. Prediction of rapid bone loss in postmenopausal women. *Lancet* 1987; i.1105-8.
303. Guañabens N. Osteodistrofia hepatica. *Gastroenterol Hepatol* 1994; 17: 444-450.
304. Long RG, Meinhard E, Skinner RK, Varghese Z, Wills Mr, Sherlock S. Clinical, bioquematical and histological studies of osteomalacia, osteoporosis and parathyroid function in chronic liver disease. *Gut* 1978,19 : 85-90.
305. Diamond T, Stiel D, Lunzer M, Wilkinson M, Posen S. Ethanol reduces bone mass and may cause osteoporosis. *Am J Med* 1989; 86: 282-288.
306. Nakano A, Kanda T, Miyamoto T, Ishigami Y, Sato T, Shimizu Y. A study of osteopenia in liver cirrhosis by dual energy X-ray absorciometry (DXA). *Nippon.shokakibyogakkai-Zasshi* 1993; 90: 1689-1694.
307. Nasava M, Monegal A, Guañabens N, Rimola A, Peris P, Martínez de Oasaba MJ, Pons F, Muñoz-Gómez, Rodés J. Patología metabólica ósea y alteraciones hormonales asociadas en los pacientes candidatos a trasplante hepático. *Gastroenterol Hepatol* 1995; 18:292.
308. Bikle DD, Monson s. 1,25 OH D<sub>3</sub> increases calmodulin binding to specific proteins in the chick duodenal brush border membrane. *J Clin Invest* 1985; 76:3212-3216.
309. Crilly RG, Anderson C, Hogan D, Delaquerriere-Richardson L. Bone histomophometry, bone mass, and related parameters in alcoholic males. *Calcif Tissue Int* 1988; 43: 269-276.
310. Chappard D, Plantard B, Fraisse h, Palle S, Alexandre C, Riffat G. Bone changes in alcoholic cirrhosis of the liver. A histomorphometric study. *Pathol resch Pract* 1989; 184: 480-485.
311. Pietschmann P, Resch H, Muller Ch, Woloszczuk W, Willvonseder R. Decreased serum osteocalcin levels in patients with liver cirrhosis. *Bone Miner* 1990; 8: 103-108.
312. Kanda T, Otsuki m, Nishikawa Y, Okabayashi K, Yoshida T, Matsumura T, Suematsu T, Uematsu I. Biochemical analysis of bone and mineral metabolism in liver cirrhosis. *Nippon-Shokakibyogakkai-Zasshi* 1990; 87: 69-73.
313. Grandi m, Pederzoli S, Sacchetti C, Maietta A, Bonati ME, Riva P. Endocrine-metabolix aspect of rarefying osteopathy of patients with cirrhosis. *Recenti-prog-med* 1991; 82: 363-366.
314. Etienne M. Bone loss after orthotopic liver transplantation. *Am J Med* 1994; 97: 445-450.
315. Navasa M, Monegal A, Guañabens n, Rimola A, Peris P, Martínez de Osaba MJ, Pons F, Muñoz-Gómez, Rodés J. Patología metabólica ósea y alteraciones hormonales asociadas en los pacientes candidatos a trasplante hepático. *Gastroenterol hepatol* 1995; 18: 292.
316. Gallego-Rojo FJ, González-Calvín JL, Muñoz-Torres M, Mundi JL, Fernández-Pérez R, Rodrigo-Moreno D. Bone mineral density, serum insulin-like growth factor I, and bone turnover markers in viral cirrhosis. *Hepatology* 1998,28: 695-699.

317. Sklarin PM, Shoback DM, Lagman CB. History and physical examination. Clinical evaluation of bone and mineral disorders. En: Favus MJ editor. Primer on the metabolic bone diseases disorders of mineral metabolism. Whashington: American Society for Bone and Mineral Research; 2003, p.143-5.
318. Cummings SR, Melton LJ III. Epidemiology and outcomes of osteoporotic fractures. *Lancet* 2002; 359: 1761-7.
319. Vestergaard P, Emborg C, Stoving RK, Hagen C, Mosekilde L, Brixen K. fractures in patients with anorexia nervosa, bulimia nervosa and other eating disorders-a nationwide register study. *Int Eat Disord*, 2002; 32; 301-8.
320. Ausín Ulizar J. Definición y epidemiología de la menopausia. En: Palacios Gil-Antuñano S, editor. *Climaterio y Menopausia*. Madrid: Mirpal. Ciba-geigy, 1992, p.9-15.
321. Marshall D, Johnell O, Wedel H. Meta-analysis of how well measures of bone mineral density predict occurrence of osteoporosis fractures. *BMJ* 1996; 312: 1254-9.
322. Cheng XG, Lowet G Boonen S, et al. Predicción de vertebral and femoral strenght in vitro by bone mineral density measured at different skeletal sites. *J Bone Miner Res*. 1998; 13: 1439-43.
323. Kanis JA, Johnell O, Oden A, Johansson H, et al. The use of multiple sites for the diagnosis of osteoporosis. *Osteoporos Int*. 2006; 17: 527-34.
324. Blake GM, Fogelman I. Applications of bone densitometry for osteoporosis. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 1998; 27: 267-88.
325. Garrero et al. Markers of bone resorption predict hip fracture in elderly women. *J Bone Min Res* 1996; 11: 1531-1538.
326. Eriksen EF, Brixen K, Charles P. New markers of bone metabolism: clinical use in metabolic bone disease. *Eur J Endocrinol* 1995; 132: 251-63.
327. Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover for the clinical assessment of metabolic bone disease. *Endocrinol Metab clin North Am*. *Metabolic Bone Disease part II* 1989, 10: 1-17.
328. Kiviriko KI, Laitinen O, Prockop DJ. Modifications of a specific assay for hidroxyproline in urine. *Annal Biochem* 1967, 19: 249-255.
329. Eyre D, Koob TJ, Van Ness KP. Quantitation of hydroxypyridinium cross links in collagen by high performance liquid chromatography. *Ann Biochem* 1984; 137: 380-388.
330. Robins SP. Cross-linking of collagen: isolation, structural and glycosylation of pyridoline. *Biochem J* 1983; 215: 167-173.
331. Linde A, Robins SP. Quantitative assessment of collagen crosslink in dissected predentine and dentine. *Collagen Relat resch* 1988; 8: 443-50.
332. Eastell R, Hampton L, Colwell A. Urinary collagen crosslinks are highly correlate with radioisotopic measurements of bone resortion. In: Christiansen C, Overgaard K, editors. *Osteoporosis*. Conpenhagen: Osteopress 1990: 469-470.
333. Colwell A, Eastell R, Assiri AMA, Russel RGG. Effect of diet on the deoxypyridoline excretion. In: Christiansen C, Overgaard K editors. *Osteoporosis*. Conpenhagen: Osteopress 1990: 590-591.



334. Vargas DM, Audi L, Carrascosa A. Marcadores bioquímicos del metabolismo óseo. *Endocrinología* 1994; 41: 283-289.
335. Rivero A, Palacios M, Grijalba A, Martínez JL, Sorbet MJ, García S. Deoxipiridinolina y otros marcadores bioquímicos de reabsorción ósea en distintas patologías. *Rev Clin Esp* 1997; 197: 389-392.
336. Langman MJS, Leuthold E, Robson EB, Harris J, Luffman JE, Harris H. Influence of diet on the intestinal component of serum alkaline phosphatase in people of different ABO blood groups and secretor status. *Nature* 1966; 212: 41-43.
337. Delmas PD. Marcadores bioquímicos del turnover óseo en la osteoporosis. En: Riggs BL y Melton LJ. *Osteoporosis, Etiología, Diagnóstico y Tratamiento*. Editado por Raven Press Books, Ltd 1988. Vol II: 321-341.
338. Nielsen HK, Brixen K, Mosekilde L. Diurnal rhythm in serum activity of wheat-germ lectin-precipitable alkaline phosphatase. Temporal relationships with the diurnal variation of serum osteocalcin. *Scand J Clin Lab Invest* 1990; 50: 551-856.
339. Ramussen H. Hipofosfatasa. En: *Metabolic Basis of Inherited Disease*. Editado por JB Stanbury, JB Wingarden, DS Fredrickson, JL Goldstein, MS Brown. Mc Graw Hill Book Company. New York. 5ª edición. 1983; 1497-1507.
340. Puche RC, Caferra DA, Rosillo I. Bone isoenzyme of serum alkaline phosphatase measured with wheat-germ agglutinin. *Clin Chem* 1988; 34: 1372-1375.
341. Garnero P, Delmas PD. Assessment of the serum levels of bone alkaline phosphatase with a new immunoradiometric assay in patients with metabolic bone disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 1993; 77: 1046-53.
342. Poser JW, Esch FS, Ling NC, Price PA. Isolation and sequence of the vitamin K-dependent protein from human bone. *J Biol Chem* 1988; 225: 5685-5691.
343. Delmas PD, Wilson DM, Mann G. Origin of the vitamin k-dependent bone protein found in plasma and its clearance by kidney and bone. *J Clin Endocrinol Metab* 1983; 57: 1028-1030.
344. Hoof VO, Haylaerts MF, Geryl H, Mullen M, Leputre LG, Broe MEE. Age and sex distribution of alkaline phosphatase isoenzymes by agarose electrophoresis. *Clin Chem* 1990; 36: 875-878.
345. Gerstenfeld LC, Chipman SD, Glowacki J, Lian JB. Expression of differentiated function by mineralizing cultures of chicken osteoblast. *Dev Biol* 1987; 122: 49-60.
346. Parffit AM. The cellular basis of bone remodeling. The quantum concept reexamined on light of recent advances in the cell biology of bone. *Calcif Tissue Int* 1984; 36: 37-45.
347. Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover I. theoretical considerations and clinical use in osteoporosis. *American J Med* 1993; 95: 11-16.
348. Storm T, Thamsborg G et al. Effects of intermittent cyclical etidronate therapy on bone mass and fracture rate in women with menopausal osteoporosis. *N Eng Med* 1990; 322: 1265-1271.
349. Steiniche T, Hasling C et al. A randomized study on the effects of estrogen gestagen or high dose oral calcium on trabecular bone remodeling in postmenopausal osteoporosis. *Bone* 1989; 10: 313-320.
350. Francis RM. Male osteoporosis. *Rheumatology* 2000; 39: 1055-1057.

- 
351. Orwoll ES, Bevan L, Phipps KR. Determinants of bone mineral density in older men. *Osteoporosis Int* 2000; 11: 815-821.
352. Khosla S, Melton LJ III, Riggs BL. Estrogens and bone health in men. *Calcif tiss int* 2001; 69: 189-192.
353. Soroko SB, Barret.Connor E, Edelstein SL, Kriz-silverstein D. Family history of osteoporosis and bone mineral density at the axial skeleton: the Rancho Bernardo study. *J Bone Miner res* 1994, 9: 761-769.
354. Kannus P, Palvanen M, Kaprio J et al. Genetic factors and osteoporotic fractures in elderly people. Prospective 25 year follow up of a nationwide cohort of elderly Finnish twins. *Br Med J* 1999; 319: 1334-1337.
355. Pugh RNH, Murray-Lyon MI, Dawson JL, Pietroni MC, Williams R. Transection of esophagus for bleeding of esophageal varices. *British Jorunal of Surgery*, 1973; 60:646-649.
356. Díaz-Curiel M, Castro N. Bone mineral density in the Spanish population measured dual x-ray absorptiometry (DEXA). *Bone Miner* 1993; 17 (supl): 133.
357. Loric S, Guechot J, Duron F, Auebert P, Giboudeau J. determination of testosterone in serum not bound by sex-hormone-binding globulin: diagnostic value in hirsute women. *Clin Chem* 1988; 34: 1826-1829.
358. Coe FL. Treated and untrested recurrent calcium nephrolitiasis in patients with idiopathic hypercalciuria, hyperuricoduria, or no metabolic disorder. *Ann Intern* 1977; 87. 404-409.
359. Nordin BEC, fraser R. Assessment o urinary phosphate excretion. *Lancet* 1960; i: 947-950.
360. Dufau ML, Catt KL, Tsuruhara T, Ryan D. Radioimmunoassay of plasma testosterone. *Clin Chim Acta* 1972; 37: 109.
361. Hammond GL, Langley MS, Robinson PA. A liquid-phase immunoradiometric assay (IRMA) for human sex hormone binding globulin (SHBG). *J Steroid Biochem* 1985; 23: 451-460.
362. Aaron Dc. Detection and characterization of small mid-region parathyroid hormone fragments in normal and hyperparathyroid glands and serum by immunoextraction and region specific rasioimmunoassay. *Clin Resch* 1981: Abstrac 400.
363. Gundberg CM, Markowitz ME, Mizuchri M, Rosen JF. Osteocalcin in human serum: a circadian rhytm. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 60: 736-739.
364. Daughaday WH, Mariz IK, Blethen SL. Inhibition of access of bound somatomedin to membrane receptor and immunobinding sites: a comparison of radioreceptor and radioimmunoassay of somatomedin in native and acid-ethanol-extracted serum. *J Clin Endocrinol Metab* 1980; 51: 781-788.
365. Underwood LE, D'Écrole AJ, Van Wyk JJ. Somatomedin C and the assessment of growth. *Ped Clinics of North America* 1980; 27:771.
366. Massey FJ. The Kolmogorov-Smirnov test for goodness fit. *J Amer assoc* 1951; 46: 68-78.
367. Student. *Biometrika* 1908; 6: I.
368. Wilcoxon F. *Biometrics Bulletin* 1945; I: 80.

369. Bishop TA, Dudowicz EJ. Exact analysis of variance with unequal variances: test procedures and tables. *Technometrics* 1978; 20: 419-430.
370. Fisher RA, Yates F. *Statistical tables for biological, agricultural and medical research*. Edinburg: Longman, 1963.
371. Parffit AM. Morphologic basis of bone mineral measurements: transient and steady-state effects of treatment in osteoporosis. *Miner Electrolyte Metab* 1980, 4: 273-287.
372. Diamond T, Stiel D, Linzer M, Wilkinson M, Roche J, Posen S. Osteoporosis and skeletal fractures in chronic liver disease. *Gut* 1990; 31: 82-87.
373. Fernández Pérez R. Pérdida de masa ósea en cirrosis hepática compensada. Papel de la circulación colateral y factores de crecimiento óseo. Tesis Doctoral Universidad de Granada 2000.
374. Díez-Ruiz A, Santos-Pérez JL, López-Martínez G, González-Calvín JL, Gil-Extremera B, Gutiérrez-Gea F 1993. Tumour necrosis factor, interleukin-1 and interleukin-6 in alcoholic cirrhosis. *Alcohol Alcoholism* 28: 319- 323.
375. Pfeilschifer J, Chenu C, Bird A, Mundy GR, Roodman GD. 1989 Interleukin-1 and tumor necrosis factor stimulate the formation of human osteoclast-like cells in vitro. *J Bone Miner Res* 4: 113-118.
376. Van der Pluijm G, Most W, Van der Wee-Pals L, de Groot H, Papapoulos S, Lowick C 1991. Two distinct effects of recombinant human tumor necrosis factor  $\alpha$  on osteoclast development and subsequent resorption of mineralized matrix. *Endocrinology* 129:1596-1604.
377. Bertolini DR, Nedwin GE, Brigman TS, Smith DD, Mundy GR 1986. Stimulation of bone resorption and inhibition of bone formation in vitro by human tumor necrosis factor. *Nature* 319: 516-518.
378. Tashjian Jr AH, Voelkel EF, Lazaro m, Goad D, Bosma T, Levine L 1987. Tumor necrosis factor  $\alpha$  stimulates bone resorption in mouse calvaria via a prostaglandin-mediated. *Endocrinology* 120:2029-2036.
379. Kimble RB, Matayoshi AB, Vannice JL, Kung VT, Williams C, Pacifici R 1995. Simultaneous block of interleukin-1 and tumor necrosis factor is required to completely prevent bone loss in the postovarectomy period. *Endocrinology* 136: 3054-3061.
380. Tilg H, Vogel W, Wiedermann CJ, Shapiro L, Herold M, Judmaier G, Dinarello CA 1993. Circulating interleukin-1 and tumor necrosis factor antagonists in liver disease. *Hepatology* 18: 1132-1138.
381. Linde A, Robins SP 1988. Quantitative assessment of collagen crosslink in dissected pre-dentine and dentine. *Coll Relat Res* 8: 443-450.
382. Ricard-blum S, Bresson-Hadni S, Vuitton DA, Ville G, Grimaud JA 1992. Hydroxypyridinium collagen cross-links in human liver fibrosis: study on alveolar echinococcosis. *Hepatology* 15: 599-602.
383. Guañabens N, Pares A, Álvarez L, Martínez de Osaba MJ, Monegal A, Peris P, Ballesta AM, Rodes J 1998. Collagen-related markers of bone turnover reflect the severity of liver fibrosis in patients with primary biliary cirrhosis. *J Bone Miner Res* 13: 731-738.
384. Conte D, Caraceni MP, Duriez, Mandelli C, Corghi E, Cesana M et al. Bone involvement in primary hemochromatosis and alcoholic cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 1989; 84: 1231-1234.

385. Calco MS, eyre DR, Gundberg CM. molecular basis and clinical application of biological markers of bone turnover. *Endocr rev* 1997; 17: 333-368.
386. Morrison N, Shine J, Eisman J 1990. 1,25 OH D<sub>3</sub> responsive element and glucocorticoid repression of the osteocalcin gene. *Science* 246: 115-161.
387. Canalis E, Lian JB. Effects of bone-associated growth factors on DNA, collagen and osteoclastin synthesis in cultured fetal rat calvariae. *Bone* 1988; 9: 243-246.
388. Johannsson AG, Forslund A, Hambraeus L, Blum WF, Ljunghall S 1994. Growth hormone dependent insulin-like growth factor binding protein is a major determinant of bone mineral density in healthy men. *J Bone Miner Res* 9: 915-921.
389. Wüster C, blum WF, Schlemilch S, ranke MB, Ziegler R 1993. Decreased insulin-like growth factors and IGF binding protein 3 in osteoporosis. *J Intern Med* 234:249-255.
390. Jackson JA, Kleerekopez M, Parfitt AM, Sudhaker D, Villanueva AR, Frame B 1987. Bone histomorphometry in hypogonadal and eugonadal men with spinal osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 65: 53-58.
391. Muñoz-Torres M, Jodar E, Escobar- Jimenez F, López-Ibarra PJ, Luna JD 1996. Bone mineral density measured by dual X-ray absorciometry in Spanish patients with insuli-dependent diabetes mellitus. *Calcif Tissue Int* 58: 316-319.