



# **RIESGO LITIÁSICO Y DEPRIVACIÓN ANDROGÉNICA EN PACIENTES CON CÁNCER DE PRÓSTATA AVANZADO**

**Facultad de Medicina**

**Programa de doctorado: Medicina clínica y Salud pública**

**Autor: Enrique Javier Diaz Convalía**

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales  
Autor: Enrique Javier Díaz Convalía  
ISBN: 978-84-1306-070-5  
URI: <http://hdl.handle.net/10481/54705>



*UGR*

Universidad  
de **Granada**

**Programa de doctorado: Medicina clínica y Salud pública**

**Título de tesis: Riesgo litíásico y deprivación androgénica en pacientes con tumor de próstata  
avanzado**

**Autor: Enrique Javier Diaz Convalía**

## Agradecimientos

A mi director y tutor de tesis Miguel Arrabal Martín por haber compartido conmigo los mejores conocimientos sobre esta materia que han permitido conducir correctamente esta investigación.

A mi director de tesis Miguel Angel Arrabal Polo por su dedicación y entrega en las diferentes etapas de este trabajo sin cuyo esfuerzo no se hubiera podido alcanzar la calidad final de este proyecto de investigación.

A María Victoria Pérez Jiménez que me ayudó a organizar la consulta con los pacientes y que resolvió problemas sin que fuera esa su labor, tu ayuda me ha conmovido realmente.

A Ángel Arias Arias, perteneciente a la Unidad de Apoyo a la Investigación del Hospital General La Mancha Centro, cuyo consejo y ayuda ha guiado las etapas finales de esta investigación.

A mis padres Jorge y Solange y mi hermano Jorge por su estimulante ejemplo de esfuerzo y sacrificio, elementos sin los cuales no se puede completar con éxito una tarea de tan largo recorrido.

Y por último a mi futura esposa, Josefa Sánchez López, ella mejor que nadie sabe el esfuerzo y dedicación que este trabajo ha requerido y siempre me ha animado a continuar con más ganas de las que yo he tenido en algunas ocasiones.

## Contribuciones

De manera preliminar al estudio objeto de esta tesis doctoral se realizó en nuestro centro un estudio del tipo caso-control para determinar la relación existente entre la aparición de nefrolitiasis y el tratamiento con deprivación androgénica a 5 años.

Bajo el título *Deprivación androgénica en cáncer de próstata y riesgo de aparición de litiasis renal. Resultados de un estudio de casos y controles* se presentan los resultados de este trabajo en la XXXI Reunión nacional del grupo de Urología Oncológica de la Asociación española de Urología celebrada los días 15 y 16 de abril de 2016 (Cádiz).

En el año 2017 se publica el artículo con los resultados de este trabajo en la revista Medicina clínica con el mismo título: Deprivación androgénica en cáncer de próstata y riesgo de aparición de litiasis renal.

En el año 2018 se publican los resultados definitivos de esta tesis doctoral bajo el título Risk of renal stone formation in patients treated with luteinising hormone-releasing hormone analogues for prostate cancer: importance of bone metabolism and urine calcium en la revista: International Urology and Nephrology.

# **RIESGO LITIÁSICO Y DEPRIVACIÓN ANDROGÉNICA EN PACIENTES CON TUMOR DE PRÓSTATA AVANZADO**

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

### **1.- INTRODUCCIÓN**

#### **1.1.- Nefrolitiasis: 9**

1.1.1.-Litiasis cálcica: fisiopatogenia y clasificación: 9-15

1.1.2.-Litiasis de ácido úrico: fisiopatogenia y clasificación: 15-19

1.1.3.-Epidemiología de la litiasis urinaria: 20-24

#### **1.2.-Síndrome metabólico y litiasis urinaria**

1.2.1.-Síndrome metabólico: 24-35

1.2.2.-Relación síndrome metabólico-litiasis de ácido úrico: 36-39

1.2.3.-Relación síndrome metabólico-litiasis cálcica: 39-41

#### **1.3.-Osteoporosis masculina y litiasis urinaria**

1.3.1.-Dimorfismo sexual en el crecimiento y desarrollo óseo: 41-43

1.3.2.-Densidad mineral ósea, nefrolitiasis y riesgo de fractura: 43-50

1.3.3.-Marcadores minerales de remodelado óseo: 50-52

1.3.4.-Marcadores proteínicos de remodelado óseo: 52-58

#### **1.4.-Relación hipogonadismo-litiasis urinaria**

1.4.1.-Fisiología del eje sexual endocrino en el varón: 58-61

1.4.2.-Relación hipogonadismo-síndrome metabólico: 61-66

1.4.3.-Relación hipogonadismo-osteoporosis masculina: 66-72

#### **1.5.-Relación entre terapia de privación androgénica y litiasis urinaria**

1.5.1.-Efectos secundarios generales de la TDA: 73-75

1.5.2.-Síndrome metabólico y TDA: 75-82

1.5.3.-Osteoporosis masculina y TDA: 82-85

## **2.-JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS: 86-88**

## **3.- OBJETIVOS: 89**

## **4.- COMITÉ DE ÉTICA Y CONSENTIMIENTO INFORMADO: 90**

## **5.- METODOLOGÍA: 91-95**

5.1.- Diseño del estudio

5.2.- Ámbito del estudio

5.3.- Sujetos del estudio. Criterios de exclusión e inclusión

5.4.- Variables del estudio

5.5.- Análisis estadístico

### **5.6.- Plan de trabajo**

5.6.1- Fase 0

5.6.2- Fase I

5.6.3- Fase II

5.6.4- Fase III

## **6.- RESULTADOS**

6.1.- Características basales: 96

### **6.2.- Análisis descriptivo y bivalente**

6.2.1.- Densitometría y parámetros clínicos: 96-97

6.2.2.- Parámetros en sangre: 97-99

6.2.3.- Parámetros en orina fresca: 99-100

6.2.4.- Parámetros en orina de 24 horas: 100-102

6.2.5.- Densitometría y parámetros clínicos en función de la variable litiasis: 102-103

6.2.6.- Parámetros en sangre en función de la variable litiasis: 103-106

6.2.7.- Parámetros en orina fresca y de 24 horas en función de la variable litiasis: 106-109

**6.3.- Análisis multivariante: 109-110**

**7.- DISCUSIÓN: 111-118**

**8.-CONCLUSIONES: 119**

**9.-BIBLIOGRAFÍA: 120-162**

# 1.- INTRODUCCIÓN

## 1.1.-NEFROLITIASIS

El componente mayoritario de los cálculos urinarios es el calcio, constituyente principal de aproximadamente el 75% de las litiasis. Las de oxalato cálcico representan en torno al 60%, las mixtas y las de hidroxapatita un 20% y las de brushita un 2%. Tanto las de ácido úrico como las de estruvita (fosfato amónico magnésico) suponen el 10% y las de cistina tan sólo el 1%. Las litiasis asociadas a fármaco y sus metabolitos tales como: triamterene, adenosina, sílice, indinavir y epinefrina son infrecuentes y generalmente evitables.

Clasificación: La mayoría de los sistemas de clasificación para diferenciar litiasis se basan en las anomalías metabólicas y ambientales subyacentes con las que están asociadas. Un variado número de condiciones contribuyen a la formación de litiasis de calcio, ya sea por separado o en conjunto, incluyendo hipercalcemia, hipocitraturia, hiperuricosuria e hiperoxaluria.

Las piedras de ácido úrico sólo se forman en una orina ácida (1)(2), las litiasis de cistina son el resultado de una defectuosa función de reabsorción renal de cistina y las litiasis infectivas ocurren en un medio alcalino producido por bacterias formadoras de ureasa. Para algunas litiasis como las de cistina, el conocimiento de la composición química de las piedras provee suficiente información para iniciar un tratamiento adecuado. Sin embargo, debido a las múltiples causas asociadas a las litiasis cálcicas, una comprensión de los mecanismos metabólicos subyacentes que predisponen a la formación de litiasis cálcicas se requiere para implementar un plan de tratamiento racional.

### 1.1.1.-Litiasis cálcica: fisiopatogenia y clasificación

Existen varios mecanismos que pueden desembocar en el desarrollo de nefrolitiasis de origen cálcico tal y como se expondrá en el texto, de todas ellas la más frecuente es la hipercalcemia idiopática que se establece como un diagnóstico de exclusión ante la ausencia de otros tipos de hipercalcemia contrastados tales como la absorptiva, renal o de ayuno y la reabsortiva.

Sin embargo, tal y como apuntan diversos autores la hipercalcemia es un proceso dinámico que puede verse atravesado por diversos procesos pertenecientes a subdivisiones que si bien permiten aclarar el mapa conceptual de la hipercalcemia no pueden dar debida cuenta en todos

los casos de la realidad fisiopatogénica de estos pacientes que en muchos casos incluye así mismo alteraciones genéticas y moleculares de más reciente desarrollo. Las otras causas de hipercalciuria son: hiperoxaluria, hiperuricosuria, hipocitraturia, pH urinario bajo y la acidosis tubular renal.

#### Hipercalciuria:

Representa la anormalidad identificada más común en pacientes con litiasis cálcicas (3)(4). Sin embargo, el papel de la hipercalciuria en la formación de litiasis es controvertido debido a su hallazgo también en personas que no tienen litiasis.

Existen varias evidencias que apoyan el rol patogénico de la hipercalciuria en la formación de piedras. En primer lugar, la hipercalciuria es un hallazgo frecuente en pacientes con litiasis, entre un 35%-65% (5). Más aún, las estrategias de tratamiento encaminadas a reducir los niveles de calcio urinario se asocian con reducciones en la recurrencia de litiasis (6), y la terapia médica suele fracasar en pacientes con hipercalciuria persistente.

Diversas investigaciones sobre ratas litiásicas con hipercalciuria genética y la subsecuente supersaturación de fosfato cálcico juegan un papel crítico en la formación de litiasis (7). Posteriormente, las investigaciones sobre las placas de Randall como potencial precursor de la formación de litiasis cálcicas han demostrado que estas placas se presentan con mayor frecuencia en pacientes formadores litiasis y que su número está directamente relacionado con los niveles de calcio urinario y el número de episodios. Las concentraciones elevadas de calcio urinario permiten incrementar la saturación de sales cálcicas (8) y reducir la acción inhibitoria del citrato y el condroitín sulfato (9). Los riñones normales filtran aproximadamente 270 mmol de calcio diariamente y reabsorbe todo excepto 4 mmol (10).

Sin embargo, son muchas las condiciones capaces de elevar los niveles urinarios de calcio e incrementar la saturación de las sales cálcicas. Existen múltiples criterios para definir hipercalciuria pero la más precisa es aquella que la define como un nivel de calcio urinario mayor de 200 mg/día después de la administración de 400 mg de calcio y 100 mg de sodio durante una semana. Park and Coe(11) definen la hipercalciuria como excreción mayor de 4 mg/kg/día o mayor de 7 mmol/día en hombres y 6 mmol/día en mujeres.

Históricamente, el término de hipercalciuria idiopática se aplicaba a pacientes difíciles de clasificar en otros subgrupos. El transporte de calcio está regulado en 3 sitios: intestino, hueso y riñón. La desregulación en cualquiera de aquellos puede desencadenar hipercalciuria. Se sabe que estos mecanismos están interrelacionados entre sí: estudios en ratas con hipercalciuria

genética han demostrado que la hipercalcemia puede implicar a diferentes mecanismos de transporte cálcico alterados (7). En 1974 Pak y colaboradores dividieron este término en 3 subtipos diferentes atendiendo a la anormalidad fisiopatológica implicada: hipercalcemia absorbiva (incremento de la absorción intestinal de calcio), hipercalcemia renal (pérdidas renales de calcio urinario) e hipercalcemia resorbiva (incremento de la desmineralización ósea), la hipercalcemia renal y resorbiva también se conoce como hipercalcemia de ayuno (12).

Aunque este sistema de clasificación ha sido ampliamente utilizado ya que permite simplificar los mecanismos patogénicos implicados más representativos, muchos autores la rechazan alegando que en realidad la hipercalcemia está asociada con múltiples e interrelacionados procesos que no pueden simplificarse a tal extremo de atribuirlo a un único sistema (3). Numerosos estudios apuntan además a una gran variedad de mutaciones genéticas relacionadas con varios sistemas que pueden desencadenar la hipercalcemia (13)(14). Las mejoras en el conocimiento de los procesos moleculares y genéticos implicados contribuirán a la mejor categorización y manejo de las litiasis en el futuro.

#### Hiperoxaluria:

Se define como la excreción urinaria mayor de 40 mg/día, permite incrementar la saturación de oxalato cálcico y la subsecuente promoción de las litiasis de oxalato cálcico. Adicionalmente, el oxalato se ha relacionado con el crecimiento de cristales mediante el daño tubular renal secundario a la peroxidación de lípidos y la formación de radicales libres de oxígeno (15). El daño a la membrana permite la fijación de cristales de oxalato cálcico y crecimiento posterior de estos depósitos.

La terapia antioxidante ha demostrado prevenir la precipitación de oxalato cálcico en riñones de rata y consigue reducir la excreción de oxalato en pacientes litiasicos (16). De modo análogo, el depósito de oxalato cálcico in vitro en el urotelio se pudo prevenir empleando eliminadores de radicales libres como el ácido pítico o manitol manteniendo así la integridad de la membrana celular (16).

Las causas más frecuentes de hiperoxaluria incluyen alteraciones en la biosíntesis (hiperoxaluria primaria), malabsorción intestinal asociada con intestino irritable, enfermedad celíaca o resección intestinal (hiperoxaluria entérica); así como excesiva ingesta en la dieta o altos niveles de vitamina C (hiperoxaluria dietética).

#### Hiperuricosuria:

Se define como una excreción urinaria de ácido úrico superior a 600mg. Más de un 10% de los pacientes con litiasis cálcica presentan un aumento de los niveles de ácido úrico como única anomalía.

La hiperuricosuria incrementa los niveles de urato monosódico, que fomenta la formación de litiasis de oxalato cálcico. Con un pH menor de 5,5, la forma indisociada de ácido úrico predomina, permitiendo la formación de litiasis de ácido úrico u oxalato cálcico. Con un pH mayor de 5,5, la formación de urato monosódico promueve la formación de litiasis de oxalato cálcico mediante nucleación heterogénea (17). La presencia de ácido úrico también reduce la efectividad de inhibidores naturales de la cristalización. Los cristales de ácido úrico pueden unir glucosaminoglicanos tales como la heparina que inhibe la cristalización de oxalato cálcico (17).

Muchos estudio han demostrado que los pacientes con hiperuricosuria y litiasis de calcio tienen elevadas tasas de formación de litiasis y síntomas más severos que aquellos pacientes litiásicos normouricosúricos(5)(18). La causa más frecuente de hiperuricosuria es el incremento en la dieta de las purinas. Sin embargo, tanto formas adquiridas como hereditarias pueden acompañar a la hiperuricosuria incluyendo la gota, trastornos mielo y linfoproliferativos, mieloma múltiple, policitemia secundaria, anemia perniciosa, trastornos hemolíticos, hemoglobinopatías y talasemia (1)

La reciente identificación de un transportador de urato en el túbulo proximal renal, el anión cotransporte URAT1 puede arrojar nuevos indicios sobre las causas subyacentes de la hiperuricosuria(19). Mutaciones en los genes URAT1, SLC22A12 han demostrado producir hiperuricosuria hipouricémica y un alto riesgo de litiasis urinaria (19). Otra anomalía genética potencial caracterizada por un incremento de la prevalencia de ácido úrico ha sido identificada en una pequeña y remota población en Cerdeña. Un locus susceptible se identificó en el cromosoma 10q21-q22 que codificaba una proteína con una función desconocida pero con una fuerte asociación con las litiasis de ácido úrico (20).

#### Hipocitraturia:

Es una anomalía importante y corregible asociada con nefrolitiasis, que se asocia de forma aislada hasta en un 10% de los pacientes con litiasis de ácido úrico y asociada a otros procesos en un 20%-60% (21). El citrato es un importante inhibidor que reduce la formación de litiasis cálcica por diversos mecanismos.

En primer lugar, el citrato reduce la saturación urinaria de las sales cálcicas uniéndose a ellas y por otro lado el citrato previene directamente la nucleación espontánea del oxalato

cálcico (22). En tercer lugar el citrato inhibe la aglomeración y sedimentación de los cristales de oxalato cálcico (11). Por último, los niveles normales de citrato urinario pueden potenciar el efecto inhibitorio de la glucoproteína de Tamm-Horsfall(23). La hipocitraturia se define como un nivel urinario de citrato menor de 320mg/día (24) o menor de 0,6 mmol (hombre) o 1,03 (mujer) diario (25)

En un estudio que comparó sujetos normales con formadores de litiasis se identificaron niveles comparables de citrato urinario y filtrado; sin embargo, las cifras de citrato urinario de 24 horas y la ratio citrato/creatinina era significativamente más reducida y la reabsorción tubular de citrato incrementada en los formadores de litiasis comparado con los controles (26). La evidencia indirecta de una probable etiología renal de la hipocitraturia procede de un estudio que compara la absorción intestinal de citrato en formadores de litiasis con hipercalcemia idiopática y controles (27). La ingestión oral de citrato fue seguida de una rápida y eficiente absorción en ambos grupos, con entre un 96% a 98% absorbido en 3 horas. Como se deduce, es improbable que la hipocitraturia se origine de una disfunción de la absorción intestinal de citrato en formadores de litiasis sin enfermedad intestinal.

Los niveles urinarios bajos de citrato proceden de una variedad de estados patológicos relacionados con la acidosis. La acidosis tubular renal distal se caracteriza por un pH urinario menor de 6,8, alto cloro sérico y niveles bajos de bicarbonato y potasio (28). La imposibilidad de acidificar la orina en respuesta a un ácido oral confirma el diagnóstico de acidosis tubular renal. Los estados de diarrea crónica producen pérdida de alcalinidad intestinal con la consecuente acidosis sistémica e hipocitraturia(29). El exceso de proteínas animales puede producir una carga ácida, reduciendo los niveles de citrato (30). Así mismo, estudios metabólicos que evalúan el efecto de dietas hiperproteicas y bajas en hidratos de carbono han demostrado una reducción significativa en los niveles de citrato urinario y el pH, probablemente como resultado de bajo citrato y la ingesta elevada de proteínas animales.

Diuréticos como las tiazidas inducen hipopotasemia y acidosis intracelular (31). El enalapril puede producir hipocitraturia independientemente de la acidosis sistémica de la hipopotasemia, quizás debido a la acidosis intracelular (32). Finalmente, el ejercicio físico intenso induce la aparición de acidosis láctica (22). Sin embargo, la hipocitraturia representa una anomalía aislada no correlacionada con un estado acidótico. Los niveles de citrato en orina aumentan en los estados alcalóticos, así como con niveles elevados de paratohormona, estrógenos, hormona del crecimiento y vitamina D.

pH urinario bajo:

A niveles bajos de pH urinario (menor de 5,5) predomina la forma indisociada del ácido úrico, permitiendo la formación de litiasis de ácido úrico y calcio. Las litiasis de oxalato cálcico se forman como resultado de la nucleación heterogénea con cristales de ácido úrico (5). Cualquier alteración que produzca un descenso del pH urinario puede predisponer a la formación de litiasis. La acidosis metabólica crónica puede generar un pH urinario bajo, hipercalciuria e hipocitraturia.

La acidosis incrementa la resorción ósea y produce acúmulo de calcio renal (33). La diátesis gotosa hace alusión a la predisposición de pacientes litiásicos a presentar pH urinario bajo de etiología desconocida asociado o no a artritis gotosa.

#### Acidosis tubular renal:

La acidosis tubular renal es un síndrome clínico caracterizado por acidosis metabólica secundario a un defecto en la secreción tubular renal del ión hidrógeno o la reabsorción de bicarbonato. Existen 3 tipos de ATR: 1,2 y 4. La ATR tipo I (distal) es de particular interés para el urólogo no sólo porque es la forma más frecuente sino porque es la que se asocia de manera más frecuente con la aparición de litiasis, ocurriendo hasta en un 70% de los individuos afectados (34). De hecho, los síntomas iniciales asociados con la nefrolitiasis permiten establecer el diagnóstico inicial de la ATR tipo I en hasta el 50% de los casos (35). El equilibrio ácido-base se mantiene por el riñón gracias a diversos mecanismos que implican al túbulo proximal y distal. Debido a que el bicarbonato se filtra libremente al glomérulo, el riñón debe reabsorber o regenerar casi todo el bicarbonato filtrado en un día (4500 mmol) para mantener su función de tampón (36).

Además, el riñón debe excretar el exceso de ácido, que se acumula por la metabolización de carbohidratos, grasas y proteínas y como resultado de la pérdida de carbohidratos. Un defecto tanto en la reabsorción de bicarbonato o en la excreción de ácido producirá una acidosis metabólica.

El bicarbonato filtrado se reabsorbe casi por completo en el túbulo proximal a través de un mecanismo indirecto que implica la excreción del protón H<sup>+</sup>. Debido a la expulsión de Na<sup>+</sup> del túbulo proximal por la bomba Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasa localizada en la membrana basolateral, desciende el sodio intracelular, conduciendo el transportador Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> en la membrana apical. Además, una bomba H<sup>+</sup>-ATPasa posteriormente secreta H<sup>+</sup> a la luz tubular. La anhidrasa carbónica en la célula tubular genera H<sup>+</sup> y HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, suministrando iones H<sup>+</sup> que son secretados a la luz tubular. El HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> se transfiere después mediante un contrtransportador basolateral Na<sup>+</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> para llevar a cabo la reabsorción transepitelial neta de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>. La nefrona proximal

es un sistema de transporte de bajo gradiente altamente especializado que permite la reabsorción del  $\text{HCO}_3^-$  filtrado sin producir secreción neta de  $\text{H}^+$  o cambios significativos en el pH urinario (37). En la nefrona distal entre el 5-10% del bicarbonato filtrado se reabsorbe de forma similar al proximal. La eliminación neta de  $\text{H}^+$  sucede de diversos modos. El hidrógeno se une a un tampón urinario como el fosfato o el amonio permitiendo la eliminación neta de  $\text{H}^+$  en forma de  $\text{NH}_4^+$ .

La excreción neta de  $\text{H}^+$  ocurre a través de la secreción activa desde células intercaladas alfa. Estas células secretan  $\text{H}^+$  empleando un cotransportador  $\text{H}^+/\text{K}^+$  ATPasa. Las células intercaladas también presentan el cotransportador  $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$  que conduce el  $\text{HCO}_3^-$  a la sangre y su homólogo al transportador conocido como proteína banda 3 (AE1). Estas bombas activas producen un gradiente 1000:1 de  $\text{H}^+$  entre las células y la luz tubular, permitiendo una reducción de pH por debajo de 4,5. Otro factor importante es la ausencia de anhidrasa carbónica luminal que evitase la rápida disociación de  $\text{HCO}_3^-$  catalizada por la enzima.

La ATR (acidosis tubular renal) ocurre como resultado de una disfunción de la excreción neta de ácido a la orina (tipo I) o de la reabsorción de  $\text{HCO}_3^-$  (tipo II). La distinción entre estas anomalías permite establecer la clasificación de la acidosis tubular renal en proximal y distal, aunque ambas comparten los hallazgos característicos de acidosis metabólica hiperclorémica asociada con elevado pH urinario.

### **1.1.2.-Litiasis de ácido úrico: fisiopatogenia y clasificación**

Las litiasis de ácido úrico constituyen una minoría de los casos de nefrolitiasis, comprenden entre el 8-10% de todas las litiasis renales en los Estados Unidos, el 16% en Okinawa, Japón, y el 25% en ciertas regiones de Alemania, pero son significativamente más frecuentes entre pacientes litiásicos con síndrome metabólico. La mayoría de los mamíferos, a excepción de los humanos y la raza canina dálmata, sintetizan la enzima uricasa, que cataliza la conversión de ácido úrico en alantoina, el producto final de degradación de las purinas (38).

Consecuentemente, los humanos acumulan niveles más elevados de ácido úrico en sangre y orina. Debido a que la alantoina es entre 10 a 100 veces más soluble en orina que el ácido úrico, esto les predispone la formación de litiasis de ácido úrico. El ácido úrico es un ácido débil con una fuerza de disociación de 5,35 a una temperatura de 37° C. A ese pH, la mitad del ácido úrico está presente como sal de urato y la otra mitad como ácido úrico libre. Debido a que el urato sódico es aproximadamente 20 veces más soluble que el ácido libre, la proporción

relativa presente como ácido úrico libre, determina con gran probabilidad el riesgo de formación de litiasis.

El pH urinario es un factor crítico para determinar la solubilidad del ácido úrico; con un pH de 5, modestas cantidades de ácido úrico exceden la solubilidad del ácido úrico, mientras que con un pH de 6.5, concentraciones de ácido úrico excediendo los 1200mg/L permanecen solubles (39). En condiciones normales, el límite de solubilidad del ácido úrico es de aproximadamente 96mg/L, un nivel habitualmente excedido por la excreción diaria de ácido úrico, entre 500-600mg/L. Consecuentemente, la orina ha de alcanzar la supersaturación, particularmente a un pH menor de 6. Los niveles bajos de pH incrementan la concentración de la forma no disociada de ácido úrico, que permite su precipitación directa.

Es de destacar que tanto el ácido úrico como el urato sódico pueden ser el asiento de litiasis de oxalato cálcico a través de la nucleación heterogénea y de este modo, el pH urinario bajo es un factor de riesgo para litiasis de ácido úrico y oxalato cálcico (5)

El proceso de formación de las litiasis de ácido úrico una vez que precipitan los cristales de ácido úrico no ha sido dilucidado adecuadamente. Aunque algunos investigadores han sugerido que la adhesión de cristales de ácido úrico a las células epiteliales renales (40) e inhibidores como los glucosaminoglicanos pueden jugar un papel en la formación de litiasis de ácido úrico si bien es cierto que la importancia y mecanismo de todos estos procesos está aún por esclarecer (41).

Los tres principales determinantes de la formación de litiasis de ácido úrico son: pH bajo, bajo volumen urinario y la hiperuricosuria (el mecanismo patogénico más importante es el pH urinario bajo ya que la mayoría de los pacientes con litiasis de ácido úrico tienen una excreción normal de ácido úrico pero presentan invariablemente niveles bajos de pH urinario). Las litiasis de ácido úrico pueden producirse como resultado de trastornos congénitos, adquiridos e idiopáticos. Los trastornos congénitos asociados con litiasis de ácido úrico implican al transportador de urato o al metabolismo del ácido úrico. Las causas adquiridas tales como: diarrea crónica, depleción de volumen, trastornos mieloproliferativos, elevada ingesta de proteína animal y drogas uricosúricas pueden afectar a cualquiera de los tres mecanismos principales implicados en la formación de litiasis de ácido úrico.

Los pacientes con diátesis gotosa o pH urinario bajo esencial muestra de forma recurrente una excreción fraccional de urato disminuida (42). Los pacientes con diátesis gotosa difieren de los pacientes con litiasis cálcica hiperuricosúrica, en que los formadores de litiasis

úrica presentan con frecuencia valores normales de ácido úrico y orina ácida, mientras que los formadores de litiasis cálcica hiperuricosúrica tienen hiperuricosuria y pH urinario normal.

Los pacientes con hiperuricosuria frecuentemente presentan niveles elevados de sodio y calcio urinario que permiten incrementar la saturación urinaria de urato sódico y oxalato cálcico (43). La mayoría de los pacientes con litiasis de ácido úrico presentan normalmente en todo caso niveles normales de ácido úrico y pH urinario bajo.

#### Patogénesis del pH urinario bajo:

Aunque la patogénesis del pH urinario bajo en litiasis úricas idiopáticas se desconoce se considera que se trata de una patología multifactorial. Sakhaee et al. (44) observaron que los individuos normouricosúricos con litiasis de ácido úrico eran más proclives a padecer diabetes mellitus o presentar intolerancia a la glucosa comparados con individuos normales o aquellos con litiasis mixta o sólo de oxalato cálcico. Además, cuando un grupo de formadores de litiasis úricas normouricosúricos se controlaba con dieta metabólica, descendía el pH urinario comparado con voluntarios sanos u otros formadores de litiasis.

Investigaciones posteriores revelaron que los formadores de litiasis de ácido úrico excretaban menos ácido a la orina en forma de amonio y menos citrato para mantener el equilibrio ácido base. Esta aparente disfunción en la excreción de amonio ha sido paulatinamente relacionada con los estados de resistencia a la insulina. En defensa de esta tesis, Pak et al (8) detectaron una prevalencia superior de litiasis de ácido úrico y pH urinario bajo entre pacientes con diabetes no insulino dependiente (34%) que aquellos pacientes diabéticos sin litiasis. Daudon et al (45) analizaron 2464 cálculos y también encontraron que las litiasis de ácido úrico suponían un 36% de los pacientes litiásicos entre 272 pacientes con diabetes mellitus tipo II pero sólo un 11% entre los 2192 pacientes sin diabetes tipo II. Los pacientes con litiasis de ácido úrico parecen compartir varias de las características centrales del síndrome metabólico (una condición definida por la resistencia a la insulina y enfermedad cardiovascular aterosclerótica de alto riesgo) incluyendo la hipertrigliceridemia, hiperglucemia, obesidad e hipertensión (44).

La asociación entre resistencia a la insulina y bajo pH urinario fue posteriormente corroborada por la demostración de una fuerte relación inversa entre peso corporal ( factor íntimamente relacionado la resistencia periférica a la insulina) y el pH urinario aún después de ajustar con el sulfato urinario ( marcador de ingesta de proteínas) (42).

El mecanismo por el cual la resistencia a la insulina conduce a una disminución de pH urinario no ha sido completamente elucidado. Sin embargo, in vitro se ha demostrado que la insulina promueve la amoniogénesis renal a través del sustrato glutamina (46) y también estimula el transportador  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  (NHE3) en el túbulo proximal, que es responsable del transporte urinario de amonio (47). La alteración en la excreción y/o producción de amonio como resultado de la resistencia a la insulina podría dejar iones libres de  $\text{H}^+$  sin tamponar, produciendo una reducción del pH urinario.

Por otro lado, los ácidos grasos libres que se encuentran a altas concentraciones en sangre en pacientes con resistencia a la insulina podrían competir con el alfa-ketoglutarato, el producto final del metabolismo de la glutamina, para entrar en el ciclo de Krebs y con ello reducir la producción normal de amonio que se produce con la desaminación de la glutamina (48). Otro mecanismo potencial para la formación de litiasis de ácido úrico es la pérdida de la variación diurna del pH urinario. En la mayoría de individuos hay una variación diurna entre el pH urinario y sérico, con alcalinización de la orina detectada por la mañana y tras las comidas (49). Después de una comida, la secreción de ácido gástrico a la luz del estómago permite la excreción básica compensatoria por las células parietales a la sangre, que resulta en una alcalinización transitoria de la sangre y la orina. En refuerzo de esta hipótesis están los hallazgos que demuestran que la vagotomía previene la alcalinización postprandial de la orina (50) y la administración de antiácidos está asociada con un incremento del pH urinario (51). Bilobrov et al (52) compararon individuos normales y formadores de litiasis y encontraron escasas variaciones en el pH urinario de los primeros pero un pH persistentemente bajo entre los segundos.

Murayama (53) también encontró valores de pH consistentemente bajos (menor de 6) en formadores de litiasis úricas evaluados con dietas aleatorias y metabólicas sin apreciar la marea alcalina matutina y postprandial.

Por el contrario, los formadores de litiasis cálcicas mantienen la variación diurna del pH urinario. La alcalinización transitoria de la orina puede ser suficiente para proteger a los individuos normales de la formación de litiasis de ácido úrico. La causa subyacente de la ausencia de marea alcalina en pacientes con litiasis de ácido úrico se desconoce, pero debe tratarse de un defecto a nivel renal más que gástrico. El pH urinario bajo también puede ser producido por una producción endógena incrementada de ácido o por la dieta.

Cuando formadores de litiasis úrica y sujetos normales se someten a una dieta estricta baja en ácido, la excreción neta de ácidos fue mayor en el grupo litiásico comparado con el segundo, implicando una mayor producción endógena de éstos (2). Más aún, cuando se controla

el sulfato urinario, la excreción neta de ácidos fue mayor en los pacientes litíasicos y en los no litíasicos con diabetes mellitus tipo II comparado con los controles normales. Estos estudios sugirieron que el incremento de la excreción neta de ácidos en pacientes litíasicos refleja no sólo la influencia de la dieta sino también la producción endógena de éstos, probablemente como resultado de la obesidad y/o resistencia a la insulina.

La lipotoxicidad, un proceso por el cual la grasa se redistribuye en tejidos no adiposos como el corazón, hígado, músculo esquelético y células pancreáticas  $\beta$  produciendo un daño tisular, se ha visto implicado en una alterada sensibilidad a la insulina, disfunción cardíaca y esteatosis hepática y se ha postulado recientemente su papel en la patogenia de la enfermedad renal crónica (54). La implicación de la lipotoxicidad como agente patogénico en la alteración de la excreción de amonio o el incremento de la síntesis endógena de ácidos permitiendo un pH urinario bajo en pacientes con litiasis úrica se desconoce (55)

El contenido de la dieta juega también un papel importante en la acidez de la orina. Breslau et al (56) evaluaron 15 sujetos normales aleatorizados a 3 dietas diferentes de 12 días en las cuales los sujetos se asignaban a: proteínas vegetales, vegetales y de huevo o proteínas animales, con incremento de sulfato en las 3 dietas. A medida que aumentaba el contenido de ácido, la excreción urinaria de calcio se incrementaba desde los 103mg/día en la dieta vegetariana a 150mg/día en la dieta proteica animal (P menor de 0,02). La dieta rica en proteínas animales se asoció con la mayor excreción de ácido úrico no disociado y la menor excreción de citrato debido a la reducción de pH urinario. Los estudios de cristalización urinaria revelaron que la dieta rica en proteínas animales confiere un riesgo mayor de litiasis de ácido úrico, pero no de oxalato o fosfato cálcico.

#### Hiperuricosuria:

Se define como eliminación de ácido úrico urinario menor de 600 mg/día. La hiperuricosuria predispone a la formación de litiasis de oxalato cálcico o ácido úrico produciendo supersaturación de la orina con respecto al urato monosódico. Los pacientes con gota y niveles de ácido úrico menores de 600 mg/día tienen porcentajes significativamente inferiores de litiasis que aquellos con niveles superiores a 1000 mg/día (57).

#### Volumen urinario bajo:

Todas las condiciones que contribuyen a un volumen urinario bajo incrementan el riesgo de supersaturación de ácido úrico. Borghi (58) detectó elevados niveles de ácido úrico en trabajadores expuestos a altas temperaturas en comparación con otros trabajos realizados a

temperatura normal. Se han detectado altas tasas de litiasis de ácido úrico en poblaciones que habitan territorios más cálidos, como Israel (59).

### **1.1.3.-Epidemiología de la litiasis urinaria**

La prevalencia a lo largo de la vida de la litiasis urinaria oscila entre un 1%-15%. La epidemiología de la litiasis urinaria difiere en virtud del área geográfica en términos de prevalencia e incidencia, edad y distribución de sexos, composición de litiasis y su localización. Estas diferencias han sido explicadas en términos de raza, dieta y factores climáticos. Más allá, podemos decir que determinadas condiciones socioeconómicas han generado cambios en la prevalencia, incidencia y distribución por sexos, edad, tipo de litiasis y su composición. En los Estados Unidos, la prevalencia se ha estimado en torno a in 10-15% (60).

Empleando datos derivados de la base de datos de la encuesta del Servicio nacional de salud y nutrición de Estados Unidos (NHANES II y III), Stamatelou et al (61) establecieron una prevalencia de litiasis renal en torno al 5,2% entre 1988 y 1994, lo que representaba un incremento desde el periodo 1976-1980 con una prevalencia del 3,8%. Este hallazgo de una prevalencia en crecimiento ha sido corroborada por otros autores (60)(62)

En una base de datos única derivada de una serie de encuestas nacionales promovidas por la sociedad de investigación en urolitiasis en cooperación con la asociación japonesa de urología, la incidencia de un primer episodio de litiasis en la población japonesa ha sido recogida durante un periodo de 40 años (63). La encuesta publicada en 2008 que estimaba la incidencia de un primer episodio en 2005 y la prevalencia con datos de encuestas previas en 1965,1975, 1985 y 1995. Los autores encontraron un incremento tras ajustar por la edad de la incidencia de los primeros episodios desde los 54,2/100000 en 1965 a los 114,3/100000 en 2005. Aunque la incidencia se incrementó en todos los grupos etarios en ambos sexos, la edad a la que se produce el pico de incidencia ha descendido en hombres de 20-49 años en 1965 a 30-69 años en 2005 y en mujeres de 20-29 años en 1965 a 50-79 años en 2005.

Romero V. et al (64) publicó en 2010 una revisión detallada recopilando la prevalencia e incidencia de la nefrolitiasis en 20 países distintos. Los datos que recopilan series temporales diferentes de prevalencia e incidencia se disponen para 7 países (datos de incidencia para 4 países; datos de prevalencia para 5 países). Éstos incluyen 5 países europeos (Italia, Alemania, Escocia, España y Suecia), Japón y los Estados Unidos.

#### Prevalencia:

En los Estados Unidos, la prevalencia global de litiasis se ha doblado desde el periodo 1964-1972 y parece haberse estabilizado desde la década de 1980 (61)(65)(66). Otros países con aumentos documentados de la prevalencia son Alemania, España e Italia (67)(68)(69)(70). Solo Escocia ha tenido un ligero descenso en la prevalencia desde un 3,83% en 1977 a un 3,5% en 1987 (71).

Aquellos países o regiones con datos de prevalencia de un año incluyen: Islandia, Buenos Aires, Argentina, Grecia, Tailandia, Seul, Korea, Islas Baleares, España, Taiwán, China y el este de Tennessee (67)(72)(73)(74)(75)(76)(77)(78)(79)(80).

En países que publicaron datos de prevalencia en la década de los 80 y 90 la prevalencia global estimada fue del 3,25% y 5,64% respectivamente (66)(67)(68)(69)(70)(71). La mayor prevalencia registrada de todos los estudios publicados fue obtenida de los trabajadores del uranio en Tennessee (18,5%) y en adultos del noreste de Tailandia (16,9%) (76)(80).

#### Incidencia:

En los Estados Unidos, la incidencia global se incrementó en el periodo 1971-1978 (65)(81). En el año 2000, una incidencia de 1116/100000 se publicó para trabajadores con edades entre 18-64 años (82)

En Japón, la incidencia de nefrolitiasis se ha doblado en los últimos 40 años tanto en hombres como en mujeres. Estos incrementos han sido más pronunciados en los últimos 10-20 años, con ratios más pronunciadas en la década de los 90 para los hombres e incrementos más graduales para las mujeres desde la década de los 80 (63)(83)(84)

#### Sexo y Edad:

Irán, Japón y los Estados Unidos presentan datos publicados de incidencia de litiasis por grupos de edad (63)(85). Estos datos por grupos de edad muestran la dependencia de la incidencia a medida que aumenta la primera. La edad pico de incidencia fue similar en estos tres países, entre los 40-49 años, a excepción de las mujeres japonesas para las cuales este pico sucede entre los 50-59 años. La incidencia actual para hombres fue de 40-49 años tanto en Estados Unidos como en Japón y algo inferior en Irán. La prevalencia de litiasis aumenta también con la edad en Alemania, Islandia, Irán, Italia, Grecia, Turquía y los Estados Unidos, aunque hay un abrupto descenso en la prevalencia en la población de Milán mayor de 60 años (61)(68)(70)(72)(73)(85).

En Korea, la prevalencia disminuye con la edad, pero aumenta en mujeres y el pico de incidencia es en el intervalo 60-69 años (77). En los Estados Unidos, un estudio realizado en el período 1976-1980 mostró que la prevalencia decrecía en mujeres a partir de los 59 y en hombres mayores de 69 años pero desde 1991 la prevalencia se incrementaba con la edad en todos los subgrupos etarios (61).

Los hombres por lo general forman más litiasis que las mujeres. Los ratios varían entre 2.5:1 en Japón a 1.15:1 en Irán (85)(86). Sin embargo, algunas ratios se invierten en otros países. Este hallazgo ha sido descrito para los rangos 14-24 años en Alemania, 21-30 en Milán, 60-79 en Korea, 20-29 en los Estados Unidos y tres grupos de edad en Grecia (menores de 20, 30-39, 50-59) (61)(62)(70)(77). Aunque las mujeres mostraron en estos estudios una prevalencia superior a los hombres, la diferencia entre ellos fue mínima.

#### Raza:

Sólo Estados Unidos dispone de datos comparando la enfermedad litiásica entre diferentes razas dentro del país (61). La prevalencia e incidencia fue superior para blancos, seguido de hispanicos, afroamericanos y asiáticos. A destacar el hecho de que las ratios de enfermedad litiásica se han duplicado en la población afroamericana para el subgrupo 60-74 años cuando se comparan los períodos 1980-1988 con el período 1988-1994. Los hombres blancos presentan la incidencia más alta mientras que las mujeres asiáticas la más baja. Dentro de la misma raza, los hombres continúan teniendo más enfermedad litiásica que las mujeres.

#### Obesidad:

En la última parte del siglo XX la prevalencia e incidencia de las nefrolitiasis han venido incrementándose en los países occidentales probablemente debido entre otros factores al desarrollo y mejora de las técnicas diagnósticas y cambios nutricionales y ambientales (62). La epidemia de la obesidad puede ser una de las causas de este aumento de la enfermedad litiásica. Aquellos pacientes con adiposidad central y mayores ratios cintura-cadera son los que presentan mayor riesgo (87)

Eric N. Taylor et al (88) publican en 2005 un estudio prospectivo documentando 4827 casos incidentes de enfermedad litiásica durante 46 años de seguimiento en tres cohortes: the Health Professionals Follow-up Study (N: 45988 hombres entre los 40-75 años), el Nurse's Health Study I (N: 93758 mujeres entre los 34-59 años) y el Nurse's Health Study II (N: 101877 mujeres entre los 27-44 años). Después de ajustar por edad y factores dietéticos, ingesta

de líquidos y tiazidas los investigadores el riesgo relativo de enfermedad litiásica para cuatro categorías de tamaño corporal.

#### Peso:

Los aumentos de peso se asociaron con un incremento en el riesgo de la formación de litiasis en hombres y en mujeres tanto jóvenes como mayores. El riesgo relativo multivariable en hombres que pesan más de 100 kg comparado con aquellos que pesan menos de 68,2kg fue de 1,44 (95% CI, 1.11-1.86; P=0,02). En mujeres jóvenes y mayores para la misma comparación entre pesos, el riesgo relativo multivariable fue de 1,89 (95% CI, 1.52-2.36; P<0.001) y 1.92 (95% CI, 1.59-2.31; P<0.001) respectivamente.

#### *Cambios de peso:*

La ganancia de peso desde la temprana edad adulta (21 años para el varón y 18 años para la mujer) se asoció con un incremento en la incidencia de la formación de litiasis tanto en hombres como en mujeres. El riesgo relativo multivariable en aquellos hombres que ganaron más de 15.9kg desde la temprana edad adulta comparado con aquellos cuyo peso no cambió fue de 1.39 (95%CI, 1.14-1.70; P= 0,001). El correspondiente riesgo relativo para mujeres mayores y jóvenes fue de 1,70 (95% CI, 1.40-2.05; P<0,001) y 1.82 (95% CI, 1.50-2.21; P<0,001) respectivamente.

La pérdida de peso no se asoció a una disminución del riesgo de formación de litiasis. Sin embargo, sólo el 7% de los participantes en el estudio perdieron peso durante el mismo.

#### *Índice de Masa Corporal (IMC):*

Éste índice se ha asociado positivamente con el riesgo de formación de litiasis tanto en hombres como en mujeres. El riesgo relativo multivariable en hombres con IMC igual o mayor de 30 comparado con aquellos que tienen un IMC entre 21 y 22.9 fue de 1.33 (95% CI, 1.08-1.63; P<0,001). En mujeres mayores y jóvenes el correspondiente riesgo relativo fue de 1.90 (95% CI, 1.61-2.25; P<0,001) y 2.09 (95% CI, 1.77-2.48; P<0,001) respectivamente. El riesgo relativo multivariable en mujeres mayores y jóvenes con un IMC a partir de 35 frente a aquellas con un IMC entre 21 y 22,9 fue de 2.27 (95% CI, 1.85-2.81) y de 2.28 (95% CI, 1.87-2.79) respectivamente.

Para aquellos hombres con IMC (21-22.9) la incidencia anual de litiasis renal fue de 278/10000 hombres. El riesgo poblacional de desarrollar una litiasis incidente asociada con un IMC mayor de 23 fue de 31/100000 hombres al año. Para mujeres mayores y jóvenes la incidencia anual de

litiasis renal fue de 84/100000 y de 131/100000 respectivamente. El riesgo poblacional atribuible de desarrollar una litiasis incidente con un IMC mayor de 23 fue 28/10000 y 47/10000 mujeres al año respectivamente.

#### *Perímetro abdominal:*

El perímetro abdominal se ha asociado positivamente con el riesgo de litiasis incidente tanto en hombres como en mujeres aun ajustando por la altura. Como media, los hombres un valor mayor de perímetro abdominal que las mujeres. El riesgo relativo multivariable para hombres con un perímetro abdominal mayor de 109.2cm comparado con hombres con un perímetro abdominal menor de 86.4cm fue de 1.48 (95% CI, 1.13-1.93; P= 0,002). El riesgo relativo multivariable para mujeres mayores y jóvenes con un perímetro abdominal mayor de 101.6cm comparado con mujeres con un perímetro abdominal menor de 78,7cm fue de 1.71 (95% CI, 1.40-2.10; P<0,001) y 1.94 (95% CI, 1.49-2.52; P<0,001), respectivamente.

## **1.2.-Síndrome metabólico y litiasis urinaria**

### **1.2.1.-Síndrome metabólico**

El concepto de síndrome metabólico ha existido desde al menos 80 años, fue descrito por primera vez en 1920 por Kylin, un médico sueco, como la concatenación de hipertensión, hiperglucemia y gota (89). Después, en 1947, Vaghe prestó atención a la obesidad de tren superior (obesidad androgénica) como el fenotipo de obesidad que característicamente se relacionaba con las anomalías metabólicas asociadas a la diabetes mellitus tipo II y la enfermedad cardiovascular (90).

En la actualidad, el síndrome metabólico hace referencia a la concurrencia de varios factores de riesgo cardiovascular que incluyen la resistencia a la insulina, obesidad, dislipemia e hipertensión (disfunción endotelial). Todas estas condiciones están interrelacionadas y comparten mediadores, mecanismos y señalizaciones. De todos ellos, los dos primeros son esenciales para la determinación del síndrome metabólico.

En pacientes con síndrome metabólico, la pérdida de peso puede mejorar varios de estos factores al mismo tiempo por lo que cierto grado de adiposidad parece ser necesaria en la expresión de la fisiopatología del síndrome. Por otro lado, hay pacientes obesos que no manifiestan ningún otro de los componentes del síndrome metabólico por lo que ambas condiciones; obesidad y resistencia a la insulina son necesarias para la expresión del fenotipo de

síndrome metabólico. La dislipemia deriva tanto de la resistencia a la insulina como de la adiposidad visceral y puede ser incorporada a la definición incluyendo criterios separados para los niveles elevados de triglicéridos y bajos de HDL. La disfunción endotelial también deriva de la resistencia a la insulina, adipocinas y ácidos grasos libres (AGL) que son movilizados desde el tejido adiposo. La disfunción endotelial es incorporada a la definición estableciendo un criterio de tensión arterial elevada. Tanto la disfunción endotelial como la dislipemia contribuyen al desarrollo de aterosclerosis y enfermedad cardiovascular. Estas cuatro características centrales supondrían la definición más sintética del síndrome metabólico no pudiendo prescindir de ninguna de ellas si queremos seguir refiriéndonos a esta entidad como tal.

Pese a que otros trastornos pueden estar íntimamente ligados a los anteriores, tales como; inflamación sistémica, hipercoagulabilidad o microalbuminuria no son procesos que de forma independiente sean elementos constitutivos del síndrome metabólico.

Una definición adecuada del síndrome metabólico debería permitirnos identificar a un subgrupo de pacientes con una fisiopatología compartida con elevado riesgo de enfermedad cardiovascular y diabetes mellitus tipo II. En el estudio DECODE con varones y mujeres europeos (91), aquellos no diabéticos con síndrome metabólico tenían un riesgo incrementado de mortalidad para todas las causas y en concreto para las de origen cardiovascular. Las ratios para mortalidad por todas las causas en aquellos con síndrome metabólico frente a los que no fue de 1.44 y 2.26 en hombres y 1.38 y 2.78 para las mujeres tras ajustar por edad, colesterol sérico y tabaco. En otros dos estudios prospectivos europeos (92)(93) la presencia de síndrome metabólico predice la enfermedad cardiovascular así como la mortalidad por infarto agudo de miocardio.

Estos hallazgos son congruentes con el hecho de que los componentes fundamentales del síndrome metabólico son conocidos factores de riesgo cardiovascular. En estos dos estudios, así como en el Verona Diabetes Complications Study(94) las odds ratios de riesgo de enfermedad cardiovascular oscilan entre 2 y 5.

Sin embargo, el síndrome metabólico no debería considerarse exclusivamente una entidad capaz de identificar pacientes con elevado riesgo de enfermedad cardiovascular y diabetes mellitus tipo II ya que existen otros factores de riesgo que son debidamente puestos en valor en otros sistemas de clasificación de la enfermedad cardiovascular (95). Por ejemplo, ninguna de las definiciones de síndrome metabólico toma en consideración la historia familiar de diabetes mellitus, que es un potente factor de riesgo para desarrollar esta enfermedad.

Por todo lo anterior, la determinación del síndrome metabólico resulta ser un método no óptimo para determinar el riesgo de desarrollo de diabetes mellitus. De modo análogo, las definiciones de síndrome metabólico no tienen en consideración: edad, sexo, tabaco, lipoproteínas de baja densidad (LDL) o niveles totales de colesterol, todos ellos conocidos factores de riesgo cardiovascular. En resumen, la determinación de síndrome metabólico no puede ni debe sustituir al sistema de puntuación de riesgo cardiovascular de Framingham.

Cuando se considera la fisiopatología, es importante tener en cuenta que aquellos pacientes con factores aislados que no permiten hablar de síndrome metabólico no están a riesgo por este motivo de padecer enfermedad cardiovascular o diabetes mellitus.

Por ejemplo, un paciente con hipertensión o hiperlipemia aislada tiene un riesgo de enfermedad cardiovascular inferior a aquel que presenta todas las otras características o algunas de ellas de forma aditiva. Las personas con obesidad aislada aun presentando riesgo de diabetes mellitus tipo II, este riesgo es inferior a aquellos que presentan el síndrome metabólico.

### **Definiciones:**

A pesar de que el concepto en sí de síndrome metabólico fue aceptado, aun cuando persisten controversias acerca de las causas, no fue hasta 1998 que se desarrolló una iniciativa para desarrollar una definición con aceptación internacional. En un esfuerzo por suscitar acuerdo en la definición de la entidad y proporcionar una herramienta útil para médicos e investigadores se realizó una propuesta desde la Organización Mundial de la Salud (OMS).

Posteriormente, el National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III (NCEP: ATP III) y el grupo europeo de estudio de la resistencia a la insulina formularon definiciones también. Todas ellas coinciden en los componentes esenciales: intolerancia a la glucosa, obesidad, hipertensión y dislipemia.

Organización Mundial de la Salud (OMS): La OMS desarrolló la definición por primera vez en 1998 (96). Debido a que se consideró a la resistencia a la insulina como un elemento central en la fisiopatología del síndrome se trata de un criterio absoluto en esta definición. Ésta puede definirse como alteración de la glucosa rápida: por debajo de 100mg/dl o alteración de la tolerancia a la glucosa: niveles por debajo de 140mg/dl tras 120 minutos de haber ingerido 75gr de glucosa. También se puede establecer la entidad mediante la determinación del índice de resistencia a la insulina HOMA-IR, que es proporcional al producto de la insulina rápida y los niveles séricos de glucosa rápida.

Al criterio de resistencia a la insulina deben añadirse otros dos. Éstos incluyen: obesidad, dislipemia, hipertensión y microalbuminuria. La definición de la OMS fue la primera en aglutinar todos los factores esenciales que se han mencionado con anterioridad.

European Group of the Study of Insulin Resistance (EGIR): En 1999 este grupo europeo propuso una modificación de la definición de la OMS (97). Tanto la OMS como la EGIR conceden un papel central en la fisiopatología del síndrome metabólico a la resistencia a la insulina. En este caso la resistencia a la insulina se define como un nivel sérico de insulina rápida por encima del percentil 75. El uso exclusivo de un nivel sérico elevado de insulina rápida como reflejo de la resistencia a la insulina simplifica la definición, pero también alude al hecho de que los pacientes con diabetes mellitus tipo II no pueden ser diagnosticados de síndrome metabólico ya que la insulina rápida únicamente no puede reflejar la resistencia a la insulina en determinados pacientes.

De modo similar la definición de la OMS, la definición de EGIR requiere dos criterios adicionales que deben ser seleccionados de entre los siguientes: obesidad, hipertensión y dislipemia. El criterio de obesidad se expresa como perímetro abdominal mientras que la OMS emplea el Índice de Masa Corporal (IMC) y la ratio cintura-cadera. La microalbuminuria se eliminó como criterio diagnóstico.

El National Cholesterol Education Program (NCEP) Adult Treatment Panel III (ATP III) en 2001 ideó una definición para el síndrome metabólico (98), que fue actualizada por la Asociación Americana del corazón y el Instituto nacional del corazón y el pulmón en 2005 (99). De acuerdo con la definición de NCEP ATP III, el síndrome metabólico se diagnostica al estar presente al menos tres de estos cinco criterios: perímetro abdominal mayor de 40 pulgadas (hombre) o 35 pulgadas (mujeres), presión arterial mayor de 130/85 mmHg, niveles de triglicéridos por encima de 150mg/dl, niveles de lipoproteínas de alta densidad (HDL) en sangre inferior a 40mg/dl (hombre) o 50mg/dl (mujer) y glucosa rápida en sangre superior a 100mg/dl. La definición de NCEP ATP III es una de las más empleadas en la actualidad. Incluye las características centrales del síndrome metabólico: hiperglucemia/resistencia a la insulina, obesidad visceral, dislipemia e hipertensión.

Esta definición no precisa ningún criterio en concreto por lo que la definición no establece una hipótesis fisiopatológica de entrada, es de fácil aplicación en la clínica, estadística e investigación. Con todo esto se teoriza la posibilidad de poder diagnosticar a más pacientes y con ello poder reducir su riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo II y enfermedad cardiovascular.

La International Diabetes Foundation (IDF): La IDF en 2005 publicó un nuevo criterio para el síndrome metabólico (100). Aunque incluye los mismos criterios generales como en las otras definiciones, precisa que la obesidad y no la resistencia a la insulina esté presente. El criterio de obesidad se obtiene de varios puntos de corte poblacionales estableciendo así que su distribución está influenciada por la geografía y el origen étnico. También reconoce que la relación entre estos valores y el riesgo de diabetes mellitus tipo II y enfermedad cardiovascular difiere entre diversas poblaciones. Por ejemplo, la población del sudeste asiático tiene un riesgo mayor de DM tipo II y ECV con perímetros abdominales inferiores que en los países occidentales. Aunque la obesidad visceral es reconocida como un importante factor, esta definición ha sido criticada por el énfasis en este aspecto en detrimento de la resistencia a la insulina como agente fisiopatológico(101).

### **Epidemiología del síndrome metabólico:**

Durante las dos últimas décadas, hemos asistido a un incremento a nivel mundial del número de casos de síndrome metabólico. Este incremento se asocia con la epidemia global de obesidad y diabetes mellitus (102). Es difícil comparar la prevalencia del síndrome metabólico para diferentes poblaciones a pesar de los esfuerzos por acordar una definición común. Cameron et al (103) publicaron una detallada revisión sobre la prevalencia del síndrome metabólico empleando los criterios de la OMS, NCEP-ATP III y EGIR.

A pesar de las diferencias en el diseño de los estudios y otras variables, se pueden realizar determinadas inferencias. Por ejemplo, para los mismos grupos de edad, se encuentra una amplia variación entre ambos sexos. En aquellos estudios que incluyeron personas entre 20-25 años y mayores, las prevalencias varían en poblaciones urbanas desde un 8% (India) al 24% (EE. UU.) en hombres, y del 7% (Francia) al 43% (Irán) en mujeres.

Un ejemplo interesante del efecto del origen étnico en el síndrome metabólico es la comparación de la prevalencia del síndrome metabólico en EEUU con una menor prevalencia entre los hispánicos comparado con los de origen mexicano, y entre afroamericanos comparado con blancos no hispánicos y los de origen mexicano (104)

Un dato muy consistente en este aspecto es la dependencia de la prevalencia del síndrome metabólico con el aumento de la edad. Este aspecto es muy claro en Irán, en donde la prevalencia es inferior al 10% para hombres y mujeres entre los 20-29 años y crece hasta el 38%

y 67%, respectivamente entre los 60-69 años (105). De modo similar, en la población francesa, la prevalencia crece desde un 5,6% entre los 30-39 años a un 17,5% entre los 60-64 años (105).

La prevalencia de síndrome metabólico en los Estados Unidos a través de la national health and nutrition examination survey (NHANES III) aumentaba desde un 7% entre los 20-29 años hasta el 44% y 42% entre los 60-69 años y en los de al menos 70 años respectivamente (104).

Hasta hace no mucho tiempo, la DM tipo II y el síndrome metabólico eran consideradas enfermedades de adultos. Sin embargo, con el incremento de la obesidad en gente joven, se pone en evidencia que la enfermedad puede empezar a diferentes edades en todos los grupos étnicos y que tanto la primera como la segunda pueden ser evidentes en la adolescencia (106)(107). Sin embargo, no es fácil estimar la prevalencia debido a la ausencia de consenso en la definición de la entidad en la edad infantil y en la adolescencia. En EEUU, Weiss et al (107) publicaron una prevalencia que incrementaba con el aumento de la obesidad y aumentaba hasta un 50% en los adolescentes más obesos. Cada incremento de una unidad en el IMC se asociaba con un incremento del riesgo de síndrome metabólico en pacientes con sobrepeso y en los obesos (odds ratio 1.55), tal y como ocurre con cada unidad de aumento del índice HOMA (odds ratio 1.122).

La prevalencia del síndrome metabólico se incrementa de forma significativa con niveles mayores de resistencia a la insulina tras ajustar por grupos étnicos y obesidad. Las concentraciones de proteína C reactiva (PCR) incrementaban y las de adiponectina disminuían a medida que aumentaba la obesidad del sujeto. Los investigadores concluyeron que la prevalencia del síndrome metabólico es alta en niños y adolescentes obesos y que su incremento aumentaba a medida que lo hace la obesidad. En estos sujetos jóvenes se encuentran incrementados biomarcadores del riesgo cardiovascular asociado.

En Taiwán, un estudio de cribado sobre 3 millones de estudiantes (6-18 años) (108) evidenció que los sujetos con DM tipo II tenían un IMC, tensión arterial y colesterol mayores que aquellos con niveles normales de glucosa rápida y que se podía hablar de síndrome metabólico entre ellos.

Se obtuvieron resultados similares en niños de Hong Kong. Finalmente, los datos procedentes del grupo 12-19 años en el estudio NHANES III, con los criterios NCEP:ATP III modificados para adolescentes, arrojaron una prevalencia de síndrome metabólico entre los adolescentes en torno al 4,2% (109).

## Características centrales

Han existido a lo largo del tiempo diversas definiciones de síndrome metabólico, varias enfermedades inflamatorias y de origen autoinmune articular fundamentalmente se relacionan con ella por ello en los diferentes esfuerzos clasificatorios se ha dado preponderancia a unos u otros procesos.

Sin embargo, con el paso del tiempo se ha establecido el consenso de incorporar a la definición aquellos procesos constituyentes sin los cuales la entidad en su conjunto quedaría desnaturalizada y el concepto no fuese útil para definir una entidad que subyace a otros múltiples procesos que si bien se relacionan con ella puede hacerlo también con otras enfermedades. Estos elementos esenciales sobre los que se asienta el consenso para establecer la definición de síndrome metabólico son: resistencia a la insulina, obesidad, dislipemia y disfunción endotelial.

Tal y como se ha comentado se prescinde de otras alteraciones que en el caso que nos ocupa presenta una gran relevancia ya que se trata del pH urinario bajo, un fenómeno relacionado con la resistencia a la insulina y la litiasis de ácido úrico tal y como se explica posteriormente en el texto.

### Resistencia a la insulina:

La insulina se produce en el páncreas en respuesta a la hiperglucemia y estimula un uso diferenciado de la glucosa en varios tejidos. Los tejidos que más remueven glucosa desde la circulación son el músculo esquelético, hígado y el tejido adiposo. En el músculo esquelético y el tejido adiposo, la insulina estimula la recaptación de glucosa mediante la translocación del transportador GLUT4 en la superficie celular.

En el músculo esquelético y en el hígado, la insulina estimula la síntesis de glucógeno a partir de la glucosa e inhibe la glucogenólisis. En el hígado, la insulina también disminuye la gluconeogénesis hepática, previniendo un influjo de glucosa al torrente sanguíneo. En el tejido adiposo, la insulina inhibe la lipólisis y estimula la recaptación de glucosa. El efecto neto de todos estos cambios es el incremento de la recaptación de glucosa, reducción de los niveles séricos de glucosa y un incremento de la conversión de glucosa en glucógeno o grasa (110). En la resistencia a la insulina, el tejido adiposo, músculo y células hepáticas no responden adecuadamente a la insulina y los niveles séricos de glucosa permanecen elevados, dando lugar a la patología. Todo ello se ve exacerbado por una desregulación de los mecanismos de regulación endógena.

La disponibilidad de glucosa mediada por insulina es muy variable entre diferentes poblaciones. Algunos de estos condicionantes son la adiposidad y el ejercicio físico, y algunos tienen un origen genético. La resistencia a la insulina se produce cuando hay un descenso en la respuesta de los tejidos periféricos (músculo esquelético, grasa e hígado) a la acción de la insulina. La resistencia a la insulina es un predictor potente de la DM tipo II, y la hiperglucemia es un marcador indirecto de la resistencia a la insulina.

La señalización fisiológica de la insulina sucede cuando ésta se une al receptor, un ligando activado tirosina quinasa. La unión de la insulina produce la fosforilación de la tirosina y la activación de dos vías paralelas: La fosfoinositósido 3-quinasa (PI3K) y la vía proteína mitógena activada quinasa (MAP). La fosforilación de la tirosina a través del receptor de la insulina produce la activación de la vía PI3K, permitiendo la activación de la proteína quinasa 3 dependiente de 3-fosfoinositósido (PDK1) y la quinasa Akt. La vía PI3K-Akt es responsable de la mayoría de los efectos metabólicos de la insulina. En las células endoteliales, la Akt-quinasa fosforila y activa la óxido-nítrico sintasa endotelial. En el músculo esquelético y tejido adiposo, la Akt-Kinasa estimula la translocación del transportador de glucosa insulino-dependiente GLUT4 a la superficie celular, permitiendo incrementar la recaptación de glucosa.

De forma paralela, la fosforilación de la tirosina de la proteína Shc activa el factor GTP intercambiador Sos. Esto resulta en la activación de la vía MAP que incluye a Ras, Raf, MAP quinasa y una quinasa reguladora extracelular (ERK). La vía de la MAP quinasa regula la producción de endotelina 1 (ET-1) permitiendo la vasoconstricción; expresión de células vasculares de adhesión como la VCAM-1 y la E-selectina, permitiendo más interacción leucocito-endotelio; y crecimiento y mitogénesis de las células musculares vasculares.

En la resistencia a la insulina, la vía PI3K-Akt está afectada mientras que la vía MAP quinasa permanece indemne. Esto genera un cambio en el balance o equilibrio entre ambas vías. La inhibición de la vía PI3K implica la reducción de la producción del óxido nítrico endotelial (NO), resultando en disfunción endotelial, y una reducción en la translocación de GLUT4, reduciéndose la recaptación de glucosa en el músculo esquelético y la grasa. Por el contrario, la vía MAP-quinasa permanece inalterada, por lo que hay una producción continua de ET-1 y el resto de los efectos asignados a esta vía con anterioridad. En estas circunstancias, la resistencia a la insulina produce las anomalías vasculares con conducirán a las aterosclerosis.

La insulina incrementa el flujo sanguíneo local a través de la activación de la óxido nítrico sintasa permitiendo dos efectos diferenciados (111)(112). El reclutamiento capilar sucede en minutos, mientras que la dilatación de los vasos de resistencia de mayor tamaño aumenta entre

los 30 minutos y 2 horas. Ambos efectos contribuyen a la vasodilatación e incrementan la recaptación de glucosa. Estos efectos vasculares contribuyen al metabolismo de la glucosa a concentraciones fisiológicas de la insulina. La inhibición farmacológica de NO reduce la disponibilidad global de la glucosa en un 40%. Por ello, la señalización coordinada de la insulina afecta la disponibilidad periférica de la glucosa, tono vascular y flujo sanguíneo. Los mecanismos comunes que pueden contribuir a la resistencia a la insulina pueden, por tanto, afectar también a

La función vascular, incluyendo la hiperglucemia, productos de glucosilación avanzada, toxicidad por ácidos grasos libres, obesidad, dislipemia y otros estados proinflamatorios.

### Obesidad:

La obesidad se caracteriza por un incremento del almacenamiento de ácidos grasos en tejido adiposo expandido y está fuertemente asociado con el desarrollo de la resistencia a la insulina en tejidos periféricos tales como el músculo esquelético y el hígado. El tejido adiposo juega un papel crucial en la regulación de la homeostasis de todos los AGL. En periodos de abundancia de calorías los AGL se almacenan en forma de triglicéridos a través de la esterificación a glicerol y retornan a la circulación cuando se precisa más energía.

Mientras que el papel del tejido adiposo como recurso central de energía fue reconocido desde hace mucho tiempo, sólo hace unos 50 años que Kennedy et al (113) teorizaron acerca de la presencia de un mecanismo regulador lipostático circulante encargado de alterar el gasto energético y la ingesta. En las siguientes décadas los estudios que incluían ratones con obesidad genética y diabéticos confirmaron la presencia de tal factor circulante (114).

Mientras que estas mutaciones se daban en genes no relacionados en cromosomas separados ambos modelos se caracterizaban por hiperfagia, diabetes, infertilidad y actividad física reducida. Los experimentos explicaron la coincidencia de los síndromes sugiriendo la existencia de un factor humoral ausente en los ratones obesos genéticos y presente pero inefectivo en los diabéticos. Sin embargo, la identidad de este factor permaneció elusiva. En 1994, Zhang et al (115) empleando posicionamiento clonal en los ratones obesos genéticamente identificó y secuenció el gen de la obesidad y su producto proteico final, la leptina (de leptos, delgado). En la misma época que el descubrimiento de la leptina, Hotamisligil et al (116) identificaron que además de las proteínas envueltas en la regulación metabólica, el tejido

adiposo también secretaba factor de necrosis tumoral alfa (TNF alfa), que identificaron como un regulador negativo de la transducción de insulina.

Los estudios posteriores en déficit genético de TNF alfa confirmaron el papel de esta citoquina inflamatoria en el desarrollo de obesidad secundaria a resistencia a la insulina estableciendo desde entonces hasta nuestros días el paradigma de la obesidad como una condición de baja inflamación crónica (117). Recientemente se ha postulado la participación de los macrófagos adiposos en este proceso inflamatorio (118).

Todos estos descubrimientos abonaron la idea de que el tejido adiposo es un órgano endocrino dinámico con un papel crítico en la regulación metabólica tanto en sujetos sanos como enfermos que ha contribuido al descubrimiento posterior de muchas otras adipoquinas (proteínas derivadas de adipocitos) como la adiponectina, resistina, retinol unido a proteína 4 (RBP4) e interleukina-6 (IL-6).

Existe una correlación lineal positiva ( $r=0,8$ ) entre los niveles circulantes de leptina y la grasa corporal total, que puede ser explicada por la secreción mayor de ésta por adipocitos de mayor tamaño (119). Como media, los niveles de leptina secretados por gramo de tejido de adiposo son el doble en obesos comparado con sujetos delgados. Debido a que el tamaño celular de los adipocitos es 2-4 veces mayor en obesos, al expresarlo en términos de adipocitos, la secreción de leptina en obesos es hasta 7 veces mayor en personas obesas (120).

Los niveles séricos de leptina presentan un ritmo diurno alcanzando las concentraciones más elevadas entre las 23:00 y la 01:00h, tras lo cual los niveles plasmáticos de leptina decrecen hasta mediodía (121). El receptor de la leptina fue aislado por primera vez del plexo coroideo de ratón mediante expresión clonal y se trata de un miembro de la familia de receptores interleukina-6 de la clase I (122).

Éste receptor se encuentra en altas concentraciones (30-40%) en el cerebro y más específicamente en áreas que regulan la alimentación como los núcleos hipotalámicos arcuato, dorsomedial y ventromedial(122). Se ha identificado también en baja concentración (5-8% del total) en varios tejidos periféricos incluyendo; ovarios, testículo, placenta, médula adrenal, hígado, páncreas, pulmón, yeyuno, células mononucleares, condrocitos articulares, corazón y músculo esquelético (123)(124)(125)(126)(127).

### Dislipemia:

El factor central de la dislipemia aterogénica son los niveles elevados de triglicéridos (TG), bajos niveles de HDL y un incremento de las LDL. La resistencia a la insulina y la obesidad visceral están ambas asociadas con la dislipemia aterogénica(128). La resistencia a la insulina induce la formación de dislipemia aterogénica por diversos mecanismos.

En primer lugar, la insulina normalmente suprime la lipólisis en los adipocitos por lo que una alteración en la señalización de la insulina incrementa la lipólisis, resultando en un incremento de los AGL. En el hígado, los ácidos grasos libres (AGL) sirven como sustrato para la síntesis de TG. Los AGL también estabilizan la producción de apoB, la mayor lipoproteína de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), produciéndose unos niveles mayores de estos últimos. En segundo lugar, la insulina normalmente degrada la apolipoproteína B (apoB) a través de la vía PI3K, por lo que la resistencia a la insulina incrementa directamente la producción de VLDL. Por último, la insulina regula la actividad de la lipoproteína-lipasa.

Por todo ello, la hipertrigliceridemia en la resistencia a la insulina es el resultado tanto del incremento de la producción de VLDL y el descenso de su eliminación. Las VLDL se metaboliza a lipoproteínas de menor tamaño y LDL, ambas con capacidad de promover la formación de un ateroma. Los TG en VLDL se transfieren a HDL por la proteína transportadora de ésteres del colesterol (CETP) a cambio de ésteres de colesterol, produciéndose TG ricos en HDL y colesterol rico en VLDL. Los TG ricos en HDL son un mejor sustrato para la acción de la lipasa hepática, por lo que aclara de la circulación con eficacia, dejando menos HDL para su transporte desde el torrente sanguíneo.

### Disfunción endotelial:

Es la vía común final entre varios factores de riesgo cardiovascular y el desarrollo de aterosclerosis (129)(130)(131). Las células endoteliales conforman la superficie celular de los vasos y sirven soporte mecánico y funcional. El endotelio responde a estímulos fisiológicos y patológicos y produce sustancias vasoactivas, incluyendo el NO, prostaciclina y endotelinas.

La expresión endotelial de moléculas de adhesión gobierna la interacción con leucocitos circulantes y monocitos implicados en la inflamación, así como con plaquetas circulantes implicadas en la hemostasia y trombosis. El endotelio también modula la respuesta del tejido muscular vascular, el cual está directamente implicado en el desarrollo de las placas de

ateroesclerosis. La función endotelial normal protege contra estos procesos y su disfunción ocupa un lugar central en la patogénesis de la lesión aterosclerótica.

La disfunción endotelial sucede cuando fallan estos mecanismos protectores. Esto puede ser causado por un daño directo del endotelio como puede suceder en las arterias coronarias sometidas a angioplastia. También puede derivarse de una insuficiente respuesta, por ejemplo, ante un estrés oxidativo, hiperglucemia, productos de glucosilación avanzada, AGL, citoquinas inflamatorias y adipocinas. Una causa frecuente de disfunción endotelial suele ser la reducción de la biodisponibilidad del NO en la vasculatura.

Existen varios mecanismos implicados en la disfunción endotelial (132). El más importante consiste en la reducción de la fosforilación de la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS) en el loci S1177 (133)(134) y la rápida reacción de NO con el superóxido para formar el anión peroxinitrito(135). Además, la dimetilarginina (ADMA) puede competir con la arginina para reducir la producción de NO endotelial. La eNOS precisa cofactores enzimáticos que incluyen la adenina dinucleótido (FAD), flavínmononucleótido (FMN) y la tetrahidrobiopterina (BH4). En ausencia de BH4, el transporte de electrones a través de la eNOS puede conducir a un desacoplamiento, produciéndose la generación de superóxido mediante la eNOS. Éste superóxido reacciona con el NO de forma muy rápida para formar el anión peroxinitrito, que presenta varios efectos deletéreos.

La fosforilación de la eNOS parece jugar un papel crucial de regulación enzimática. Se produce un flujo de electrones aumentado a través de los dominios reductasa y se reduce la disociación de la calmodulina. Como resultado, eNOS se vuelve más activa y produce más NO a expensas del calcio intracelular. La fosforilación de eNOS está disminuida en la diabetes mellitus, hipercolesterolemia y la aterosclerosis. La señalización fisiológica de la insulina incrementa la fosforilación de la eNOS a través de la vía PI3K-Akt. Los estrógenos, estatinas y leptina incrementan la fosforilación de eNOS mediante la quinasa Akt. La adiponectina incrementa la fosforilación mediante la quinasa AMP.

El hecho de que diferentes vías de señalización participen en la fosforilación de la eNOS sugiere que éste es un paso clave que subyace en varios mecanismos de disfunción endotelial de diferentes causas. Por todo ello, se investigan líneas de actuación en esta vía para tratar la disfunción endotelial (136).

La resistencia a la insulina produce disfunción endotelial al disminuir la actividad de la quinasa Akt, disminuyendo la fosforilación de la eNOS y su actividad. Debido a que la fosforilación de eNOS se requiere para la acción hemodinámica de la insulina, el descenso en el

flujo sanguíneo al músculo esquelético crea un círculo vicioso en donde la disfunción endotelial empeora la resistencia a la insulina.

La adiposidad visceral produce disfunción endotelial a través del efecto de la resistina, IL-6 y el TNF alfa. Por el contrario, la adiponectina, que estimula la fosforilación de eNOS, está disminuida en el síndrome metabólico. En la grasa visceral, la resistencia a la leptina también incrementa la producción de radicales libres. Los AGL contribuyen a la disfunción endotelial por una combinación de descenso de la vía PI3K-Akt e incremento de radicales libres de oxígeno.

### **1.2.2.-Relación síndrome metabólico-litiasis de ácido úrico**

Las litiasis de ácido úrico constituyen una minoría de todos los casos de nefrolitiasis, pero se relacionan de manera más clara con el síndrome metabólico. Aquellos pacientes formadores de litiasis con DM tipo II presentan litiasis de ácido úrico de forma más prevalente que aquellos pacientes que no son diabéticos(137)(138)(139).

Se ha descrito una prevalencia mayor de litiasis de ácido úrico entre pacientes formadores de litiasis obesos (140)(141). También se ha subrayado que tanto un mayor IMC como la DM tipo II son factores de riesgo independientes para formar litiasis de ácido úrico. Una orina ácida es el mecanismo patogénico común que subyace a todos los casos de litiasis de ácido úrico. Un pH urinario de 24h inferior a 5.5 se identifica en la inmensa mayoría de estos pacientes, de los cuales muchos presentan niveles urinarios normales de ácido úrico (142)(143).

Entre las condiciones que contribuyen a la acidificación de la orina están: la diarrea crónica y la generación endógena de ácido (144).

Sin embargo, la inmensa mayoría de los pacientes con litiasis de ácido úrico carecen de estas características y son clasificados como nefrolitiasis de ácido úrico idiopática, llamada anteriormente diátesis gotosa. Factores dietéticos tales como la ingesta de proteína animal podrían acidificar la orina. Sin embargo, los factores dietéticos exclusivamente no son capaces de explicar la acidificación de la orina en estos pacientes tal y como los estudios de excreción de ácido a dietas fijas bajas en ácido han demostrado (142). Los mecanismos fisiopatogénicos implicados en este aumento de la excreción de ácido parecen estar fundamentalmente vinculados a la obesidad y la resistencia a la insulina.

### Obesidad:

Los niveles séricos elevados de ácido úrico en pacientes obesos parecen relacionarse con un aumento de su producción, descenso de excreción renal o ambos(145). Aunque no se dispuso de información nutricional ( los niveles aumentados de ingesta de purinas pueden incrementar la producción de ácido úrico), los datos de cerca de 6000 individuos con historial de litiasis renal sugiere que la excreción urinaria de ácido úrico es mayor en pacientes a medida que aumenta el peso (146), cambios similares se han apreciado en mujeres.

Un estudio con cerca de 500 individuos con nefrolitiasis mostró una asociación positiva entre IMC y la excreción urinaria de ácido úrico. En este estudio, los hombres con un IMC mayor de 30 excretaban un 19% más de ácido úrico al día que aquello con un IMC menor de 25 (con resultados similares en mujeres) (147).

Maalouf et al (148) demostraron una fuerte asociación entre IMC y pH urinario de 24 horas en 4883 pacientes con nefrolitiasis. Los pacientes se dividieron en sextiles crecientes de peso corporal y el pH urinario se ajustó para creatinina urinaria y edad. Concluyeron que el pH urinario presentaba una fuerte e inversa relación con el peso corporal. En el análisis de covariables, la creatinina urinaria y la edad demostraron ser significativos en este aspecto.

Con el propósito de controlar los efectos de la edad y la creatinina urinaria sobre el pH, los análisis de datos se repitieron ajustando para estas covariables encontrando que la relación inversa entre pH urinario y peso corporal persistía.

### Resistencia a la insulina:

La DM tipo II es un factor de riesgo para desarrollar nefrolitiasis en general y se ha asociado con las litiasis de ácido úrico en particular. La DM tipo II se asocia con un incremento de la prevalencia de litiasis de ácido úrico tal y como se ha puesto de manifiesto en estudio recientes (149)(138).

Cameron M.A et al (150) comparó en un estudio transversal tres grupos de individuos para identificar las características metabólicas que presentaban sujetos con DM tipo II a riesgo de desarrollar litiasis de ácido úrico. Pacientes con DM tipo II no formadores de litiasis (n=24), pacientes no diabéticos con litiasis de ácido úrico (n=8) y voluntarios sanos (n=59).

Se obtuvo de los pacientes una muestra de sangre y orina de 24h. Los parámetros urinarios incluyeron: volumen, pH, creatinina, ácido úrico, citrato, sulfato, amonio, acidez

titulable y bicarbonato. En sangre se analizó: electrolitos, creatinina, ácido úrico, glucosa e insulina midiéndose también el peso corporal y la talla en esa recogida de sangre.

Una de las conclusiones más relevantes de este estudio es la persistencia de orina ácida en pacientes con DM tipo II y formadores de litiasis de ácido úrico frente a los voluntarios sanos tras controlar por el peso corporal. Este hallazgo sugiere que otros factores más allá de la obesidad concurren en la acidificación de la orina de estos enfermos.

#### pH urinario bajo:

Maalouf et al (151) evaluaron a un total de 148 adultos libres de litiasis renal en un estudio transversal ambulatorio en el que se recogieron: altura, peso, tensión arterial, analítica de sangre y orina de 24h. Se evaluaron los siguientes parámetros de síndrome metabólico: tensión arterial, IMC, triglicéridos, glucosa y HDL. El grado de resistencia a la insulina se estableció con el índice HOMA.

Fueron excluidos del estudio aquellos con condiciones bien conocidas de alteración de pH urinario tales como: enfermedad renal crónica (aclaramiento de creatinina < 70ml/min), acidosis tubular renal, diarrea crónica, litiasis renal, hiperparatiroidismo primario o infección del tracto urinario y sólo podían participar aquellos que hubiesen suspendido durante una semana toda la medicación susceptible de modificar el pH urinario. Los individuos con DM tipo II pudieron participar siempre y cuando no estuvieran tomando insulina ni tiazolidinedonas.

Los pacientes con síndrome metabólico tenían niveles significativamente bajos de pH urinario frente a los que no cumplían criterios de síndrome metabólico. El pH urinario medio ajustado por edad, sexo, aclaramiento de creatinina y sulfato urinario de 24h decrecía de forma correlativa a medida que se agregaban más características del síndrome metabólico. Se evidenció una asociación entre el pH urinario y todos y cada uno de los parámetros del síndrome metabólico. Tras ajustar por edad, sexo, aclaramiento de creatinina, sulfato urinario e IMC resistió la asociación inversa entre pH urinario de 24h y la resistencia a la insulina.

La relación entre DM tipo II y pH urinario bajo en pacientes no formadores de litiasis tras ajustar por peso corporal sugiere una disfunción renal primaria en estos pacientes en el contexto de la resistencia a la insulina, característica común de obesidad, DM tipo II y el síndrome metabólico. Otras tantas alteraciones renales en la homeostasis renal han sido identificadas y asociadas con el síndrome metabólico y sus aspectos fundamentales (152)(153)(154).

Tanto la retención de sodio como de ácido úrico están vinculadas a la resistencia a la insulina (155)(156) mientras que el estado renal hiperdinámico se adscribe a la obesidad (157). Se ha relacionado recientemente el síndrome metabólico con la enfermedad renal crónica: aquellos pacientes con cada vez más factores de síndrome metabólico tienen una incidencia y prevalencia mayor de enfermedad renal crónica (158)(159).

Algunos autores postulan que la resistencia a la insulina puede manifestarse en el riñón como un defecto en la producción de amonio y de excreción ácida (160). El tampón más importante de la orina es el amonio, otros tampones, incluyendo el fosfato y varios aniones orgánicos se engloban bajo la denominación de acidez titulable. Datos recientes en humanos han confirmado que la resistencia a la insulina se asocia con un pH urinario bajo y que la excreción urinaria de amonio en individuos normales se incrementa con la hiperinsulinemia (161).

La producción y excreción renal de amonio están reguladas por el equilibrio ácido-base. La insulina influencia estos dos procesos (162)(163), y los mecanismos de equilibrio ácido-base pueden verse alterados en un estado de resistencia a la insulina (161). Sin embargo, a pesar de un descenso de la ratio  $\text{NH}_4^+/\text{NAE}$  y una respuesta menor amoniogénica a la ingesta de ácido demostrada en estudios controlados (164), lo cierto es que la respuesta amoniogénica a la ingesta oral de ácido puede ser muy variable en los pacientes con DM tipo II (165)

### **1.2.3.-Relación síndrome metabólico-litiasis cálcica**

En las litiasis cálcicas la resistencia a la insulina y la obesidad no presentan un papel directo en la patogenia de la litiasis sin embargo la hiperinsulinemia si se ha relacionado con un incremento en la excreción fraccional de calcio urinario por mecanismos desconocidos por lo que ambos parámetros aparecen en muchos de los pacientes con hiperinsulinemia si bien no con una relación directa en ausencia de hiperinsulinemia. El otro factor relacionado con la litiasis cálcica es la hipertensión.

#### Hipertensión:

Varios estudios han sugerido que la nefrolitiasis y la hipertensión están vinculadas tanto en los humanos como en los animales (166)(167)(168). En humanos, la concurrencia de nefrolitiasis aumenta significativamente el riesgo de hipertensión (169); estudios metabólicos

han mostrado que pacientes con hipertensión primaria tiene un riesgo mayor de formación de litiasis renal (170)(171).

Factores predisponentes tales como el sexo femenino o exceso de peso suelen ser características comunes. Factores dietéticos como el consumo excesivo de sal y las proteínas de origen animal parecen jugar un papel (172).

También se ha propuesto que la relación en hipertensión y nefrolitiasis se produce en el contexto de la concentraciones urinarias anormales de determinados solutos litogénicos: calcio, ácido úrico y oxalato (173)(174).

Taylor (175) estudió la excreción urinaria en 24 horas de: calcio, citrato, oxalato, ácido úrico, sodio, magnesio, potasio, fósforo, creatinina y pH en una muestra de individuos con y sin nefrolitiasis en el Nurse's Health Study I (NHS I) (mujeres mayores; N= 1,284), Nurse's Health Study II (NHS II) (mujeres jóvenes; N=952) y el Health Professionals Follow-up Study (hombres; N= 788). En participantes con y sin litiasis, el citrato fue el único factor urinario consistentemente relacionado con la hipertensión. Comparado con aquellos en el cuartil inferior de excreción urinaria de citrato, las odds ratios multivariantes de la hipertensión prevalente en el cuartil superior fue de 0,37 (95% IC, 0,24 a 0,55; P<0,001) para mujeres mayores, 0,54 (95% IC, 0,32 a 0,92; P <0,03) para mujeres jóvenes, y 0,27 (95% CI, 0,16 a 0,45; P <0,001) para hombres. Los niveles urinarios de calcio no se relacionaron consistentemente con la hipertensión en este estudio.

Este autor también encontró en un estudio similar una relación significativa entre IMC y la excreción urinaria de calcio en un subgrupo de la muestra (sólo en hombres y mujeres jóvenes litiasicas) con o sin nefrolitiasis en el Health Professionals Follow-Up Study, NHS I y NHS II.

Losito (176) encontró en una cohorte retrospectiva que incluía a 234 pacientes (136 hombres) que aquellos con hipertensión presentaban una excreción urinaria de citrato más baja, un pH urinario inferior y una excreción mayor de ácidos titulables, amonio y sulfato. Esta asociación comparada con normotensos, prevalecía tras ajustar por edad e IMC.

#### Insulina:

La hiperinsulinemia se asocia también con la obesidad y tiene un efecto significativo sobre la composición de la orina. Hace más de 30 años, varios trabajos demostraron que la ingestión de carbohidratos incrementaban transitoriamente la excreción urinaria de calcio

(177). Estudios en animales mostraron que esta hipercalciuria inducida por carbohidratos podía ser inhibida realizando un bloqueo farmacológico de la secreción pancreática de insulina (178). Experimentos en humanos estableciendo una hiperinsulinemia euglicémica demostraron que la insulina por un mecanismo aún desconocido, incrementa la excreción fraccional renal de calcio (179)(180)(181). Otros estudios apuntan a una absorción intestinal de calcio aumentada por la insulina (182).

Estudios de 3 grandes grupos de individuos con nefrolitiasis demostraron que el peso elevado se asocia con una disminución del pH urinario (183)(184). Aunque un pH urinario bajo se asocia generalmente con litiasis de ácido úrico, una disfunción en la excreción de ácido puede conducir a hipocitraturia, un factor de riesgo de litiasis cálcica. Cupisti (185) demostró en una cohorte de 61 pacientes con litiasis cálcica no diabéticos una relación inversa significativa entre la resistencia a la insulina (HOMA-IR) y los niveles urinarios de citrato, sin embargo estos resultados no se correlacionaron en el estudio con el pH urinario.

### **1.3.-Osteoporosis masculina y litiasis urinaria**

#### **1.3.1.-Dimorfismo sexual en el crecimiento y desarrollo óseo**

La osteoporosis en el varón está estrictamente relacionada con la edad avanzada, su comienzo se produce a una edad mayor que en las mujeres (186). La medición de la densidad mineral ósea se considera la herramienta más importante para diagnosticar la osteoporosis masculina (osteoporosis cuando el t-score es inferior a 2,5 desviaciones estándar (DS) y osteoporosis severa cuando se producen fracturas osteoporóticas) (187).

Los valores de referencia normales de densidad mineral ósea están basados en los estudios en mujeres (186), basados en la premisa de que dichas cifras puedan ser extrapolables al varón (188)(189). Como consecuencia la relación entre densidad mineral ósea (DMO) y el riesgo de fractura en el varón es aún controvertida.

En la práctica clínica, los clínicos tienen pobres herramientas para el manejo de la osteoporosis masculina en el sentido de que la DMO solo supone un marcado subrogado para inferir el riesgo de fractura, no se tiene en cuenta la calidad del hueso ni su resistencia a la fractura y, por último, el conocimiento de la fisiopatología del hueso está aún incompleta en el varón. Al contrario de lo que sucede en el tratamiento de la mujer, la osteoporosis en el varón

suele pasarse por alto, y se precisan muchos esfuerzos por parte de los clínicos e investigadores en este punto (186).

El tratamiento de la osteoporosis masculina está basado en los resultados obtenidos en primer término en las mujeres posmenopáusicas. Esta realidad supone la persistencia de incertidumbres en el manejo para los hombres puesto que no es posible inferir de estos estudios el beneficio en el varón, las dosis empleadas para cada caso. Varios ensayos clínicos se han centrado en mujeres sin tan siquiera aplicarlo en varones por lo que se desconoce si en ellos pudiera ser beneficioso (ranelato de estroncio). Por esta razón el arsenal terapéutico disponible para los hombres es más reducido que en el caso de las mujeres y existen diferencias en la aprobación de varios medicamentos para el varón según el área geográfica. Todas estas circunstancias reflejan la infraestimación del impacto real de la osteoporosis masculina (186).

Se desconoce aún la verdadera prevalencia, fisiopatología y consecuencias derivadas de las fracturas (morbilidad y mortalidad) de la osteoporosis masculina. La concurrencia en el varón de ausencia de osteoporosis y fractura se suele presentar a una edad tardía, generalmente nunca por debajo de los 70 años (189). Por lo general, las fracturas suelen suponer severas consecuencias: una fractura vertebral o de fémur proximal en un varón anciano es un evento que suele dejar secuelas importantes por la dificultad de recuperar el estado previo.

En consecuencia, la tasa de mortalidad, a los 5 años de un evento, es significativamente superior en el hombre que en la mujer (relación 3:2) (190). La preservación del contenido mineral óseo es más prolongada en el varón que en la mujer. Se sabe desde hace tiempo que los mismos descensos en la DMO repercuten de forma diferente según el sexo y asocian un riesgo menor de fractura en el varón como consecuencia de una mayor resistencia a la fractura en el hueso masculino (189)(191)(192).

Este importante aspecto de la historia natural de la enfermedad responde a un dimorfismo sexual en la estructura ósea y la rigidez (191)(193). Más aún, las diferencias sexuales en la historia natural del metabolismo óseo y la pérdida ósea explican la discrepancia existente entre los dos sexos a la exposición a los esteroides sexuales (193). Los resultados señalan una diferencia en la microestructura ósea y la calidad del hueso (191)(193). Obviamente, en la edad adulta el contenido óseo mineral es el resultado de la masa ósea basal al final de la pubertad (pico óseo) y la subsecuente resorción ósea.

A pesar de los resultados en ocasiones conflictivos (194) parece claro que existe una diferencia sexual en el tamaño óseo debido a una mayor anchura ósea en el hombre probablemente debido a una concentración superior de andrógenos en los hombres con la

pubertad y durante la edad adulta también (191)(193). Por ello, los hombres desarrollan una mayor masa ósea durante la pubertad que las mujeres. Los cambios relacionados con la edad se refieren a un deterioro progresivo de la masa ósea. Este deterioro consiste en una pérdida de DMO con la edad en el hueso cortical y esponjoso (195). Estos cambios son sexualmente dimórficos particularmente en el hueso esponjoso (rápida pérdida de hueso tras la menopausia solo en la mujer). En los hombres la pérdida ósea ocurre más tarde (186) y este fenómeno se incrementa de forma progresiva con la edad, particularmente en el hueso esponjoso después de los 70 años (186)(195).

Los niveles séricos de la fracción activa de la testosterona decrecen progresivamente en el varón con la edad en un proceso fisiológico de hipogonadismo de origen testicular mientras que el defecto de esteroides sexuales en la mujer postmenopáusicas es más abrupto.

La osteoporosis ligada a la edad es un proceso estrictamente vinculado a la disfunción progresiva del eje sexual endocrino en el varón (195). La reducción continuada en los andrógenos circulantes, así como los cambios de la fracción activa de la testosterona están estrechamente ligados a la pérdida de hueso (189). Por tanto, el descenso de la DMO depende del hipogonadismo fisiológico del varón y las concentraciones de la fracción activa de andrógenos (196)(197)(198)(199)(200)(201)(202). Recientemente un número cada vez mayor de publicaciones apuntan al papel que desempeñaría la deficiencia de estrógenos en la patogénesis de la osteoporosis masculina (186). El papel del déficit de estrógenos ha sido desarrollado en los últimos 10 años (199)(203)(204).

En el varón humano, los estrógenos, en particular su fracción biodisponible, decrece con la edad (197), a la vez que los hacen los niveles de testosterona (201)(205)(206). Actualmente, la deficiencia de estrógenos (severa o parcial) debiera considerarse uno de los mecanismos implicados en la pérdida de hueso en el varón (195) así como uno de los determinantes mayores en la patogénesis de la osteoporosis ligada a la edad en el varón (186)(207)(204)

### **1.3.2.-Densidad mineral ósea, nefrolitiasis y riesgo de fractura**

Las nefrolitiasis cálcicas tienen un origen multifactorial que abarcan; alteraciones en el metabolismo fosfocálcico, déficit de los inhibidores, factores anatómicos, etc. Algunos estudios han publicado una relación existente entre la pérdida de DMO, hipercalciuria idiopática y litiasis renal tanto en adultos como en niños.

Muchos de los estudios iniciales que midieron la DMO en pacientes con hipercalcemia idiopática (IH) sugirieron que el contenido mineral óseo es menor que en aquellos sujetos considerados normales. Sin embargo, la mayoría de estos estudios no definió claramente el mecanismo subyacente que justificase estos elevados niveles de calcio en orina.

En un estudio de Fuss et al (208), se demostró una reducción del contenido mineral óseo del radio distal en 94 pacientes con IH sometidos a una dieta baja en calcio mediante técnicas en medición de fotones. Este estudio presenta la limitación de haber incluido sujetos con hipercalcemia en los que los niveles de paratohormona (PTH) pudieran estar elevados. Otro estudio de Casez et al (209) demostró inicialmente una reducción media del Z-score de 0,55 en la columna mediante densitometría en 94 pacientes litiasicos jóvenes pero en un estudio subsecuente encontró una DMO vertebral normal en un segundo grupo con 99 pacientes (210). Barkin et al (211) usando análisis de activación de neutrones, demostró una reducción de la DMO en un 5% en 109 pacientes con litiasis recurrente.

Este resultado está avalado por el hecho de que los análisis de activación de neutrones se consideran el método más sensible para la detección del contenido mineral óseo. Por ello, estos estudios ponen en evidencia la pérdida de masa ósea en pacientes con HI a pesar de que en este grupo puedan incluirse pacientes con moderado hiperparatiroidismo.

Penido et al (210) estudió un grupo de 88 niños con hipercalcemia idiopática y una edad media de 9,4 años en el momento del diagnóstico. Utilizó como controles 29 niños y adolescentes (edad media 9,7 años) sin hipercalcemia. La DMO de la columna lumbar, cuello femoral y el cuerpo entero fue significativamente inferior para aquellos con HI. El Z-score se redujo significativamente en la columna lumbar en 31 pacientes (35%). 63 de los pacientes con HI (72%) demostraron una ratio calcio/creatinina elevada, lo que apuntaba a que la hipercalcemia rápida podría ser el resultado de un incremento del remodelado óseo. El examen de los biomarcadores de remodelado óseo demostró un incremento de la excreción urinaria de N-telopéptido y de la osteocalcina sérica en los pacientes con HI. Estos hallazgos más adelante soportaron la hipótesis de un descenso de masa ósea en estos niños con HI y que este descenso de la DMO se debía a un incremento del remodelado óseo.

A pesar de estos hallazgos en ocasiones contradictorios, parece haber un consenso en torno a la participación de una hipercalcemia rápida y otra absorptiva en la pérdida de DMO. Varios estudios han demostrado que la DMO decrece significativamente en la columna y de forma moderada en otros sitios ricos en cortical (212)(213)(214)(215) en sujetos formadores de

litiasis con HI. Estos hallazgos parecen ser ciertos aun incluso cuando se subdivide a los pacientes entre hipercalciuria tipo I o hipercalciuria rápida.

Las causas de esta aparente diferencia en la remodelación ósea entre sujetos hipercalciúricos y aquellos que no lo siguen sin aclararse. La evidencia disponible parece apuntar como mecanismos potenciales aspectos genéticos (216), metabólicos (214) y nutricionales (217).

Una insuficiente DMO es un hallazgo frecuente en aquellos pacientes con litiasis cálcica, sobre todo en aquellos con hipercalciuria rápida (215). Sin embargo, los mecanismos fisiopatológicos subyacentes se desconocen. Se han postulado una serie de factores implicados en la fisiopatogenia citados previamente.

#### Factores ambientales:

La ingesta elevada de sal y de proteínas contribuye a incrementar la prevalencia de la enfermedad renal (218) y ósea (219). El consumo elevado de ambas incrementa la excreción urinaria de calcio a través de varios mecanismos, incluyendo el descenso de la reabsorción tubular renal de calcio, hiperfiltración, descenso de pH urinario y un incremento de la excreción urinaria de prostaglandinas (220).

Un mecanismo fisiopatogénico compartido es el desarrollo de una discreta acidosis metabólica, la cual es capaz de inhibir la síntesis de proteínas osteoblásticas de matriz y la actividad de la fosfatasa alcalina mientras estimula la producción de prostaglandina E2 (221). Este incremento produce un aumento en la expresión del receptor nuclear RANKL, que estimula la osteoclastogénesis. Los estudios in vitro ponen de manifiesto que una baja concentración de bicarbonato disminuye la expresión de la proteína osteoblástica de matriz extracelular, incluyendo; colágeno tipo I (221), la proteína de matriz gla(222) y el incremento de la expresión de la cicloxigenasa II (COX-2) y RANKL.

#### Factores genéticos:

Algunos estudios han sugerido un papel importante de determinados genes en la patogenia de pérdida ósea entre pacientes litásicos. Las mutaciones o polimorfismos en el gen ADCY10 se han vinculado a la pérdida ósea vertebral en pacientes con hipercalciuria absorbiva(223). Una modesta asociación fue demostrada posteriormente entre ADCY10 y la DMO vertebral en mujeres premenopáusicas caucásicas (224). Otros estudio desarrollados con

una gran muestra de sujetos de Islandia y Holanda asocia variaciones secuenciales del gen CLDN14 con la nefrolitiasis y la reducción de DMO en la cadera (216). Algunos trastornos genéticos heterogéneos que se manifiestan en la infancia y en edad adulta temprana se han asociados con hipercalciuria, nefrocalcinosis, nefrolitiasis y enfermedad ósea raquíctica como la enfermedad de Dent (mutación de transportador cloro/protón CLC-5) y el síndrome de Lowe (mutación en la fosfatidilinositol-4,4-bifosfato-5-fosfatasa OCRL1) (225). El papel de estos genes en la enfermedad ósea se desconoce actualmente.

#### Hormonas y citoquinas locales:

Los mecanismos responsable de una disfunción en la formación ósea en pacientes litiásicos hipercalciúricos incluyen la elevación sérica de la 1,25-dihidroxitamina D, que suceden entre el 40-60% de este tipo de pacientes mientras que el resto de pacientes presenta niveles séricos normales (226).

Los receptores para Vitamina D en los monocitos en sangre están incrementados (227). La acción de la vitamina D sobre los órganos diana; hueso, riñón e intestino puede amplificarse con el incremento de la actividad de su receptor. A dosis elevadas, la vitamina D incrementa la resorción ósea y disminuye la síntesis de colágeno óseo (228).

Los niveles bajos de factor de crecimiento B, implicados en la formación y mineralización ósea (229) se han encontrado en pacientes litiásicos con hipercalciuria(230). La expresión del factor de crecimiento B fue menor en áreas adyacentes a la superficie osteoide en pacientes con nefrolitiasis. Este factor se correlaciona positivamente con los índices de formación ósea: volumen osteoide, superficie osteoblástica, número de trabéculas, superficie de mineralización y negativamente con los parámetros de resorción ósea, como la separación trabecular. El incremento de la resorción ósea en los pacientes con HI se atribuyó inicialmente a una producción incrementada de linfocinas resorptivas de hueso (231)(232).

En general, los pacientes con litiasis cálcica recurrente tienden a mantener una ingesta oral de calcio reducida que aunque no permite reducir de forma significativa la calcemia si es suficiente para producir un incremento en la resorción ósea y un balance negativo del calcio óseo, un fenómeno observado en pacientes con litiasis recurrente con y sin hipercalciuria (233)(234).

Sin embargo, la pérdida de DMO es más evidente entre aquellos pacientes con litiasis cálcica e hipercalciuria (235)(236) debido a la posibilidad de una ingesta reducida de calcio que

se puede sumar para producir un aumento de la resorción ósea y una alteración en la reabsorción tubular de calcio, aunque este factor es menos común.

Es importante diferenciar entre pacientes litiásicos con episodio único, episodios esporádicos, litiasis establecida, etc. En los pacientes con litiasis recurrente, se evidencia una pérdida progresiva de DMO que puede objetivarse mediante la medición de DMO, contenido mineral óseo y área ósea (237).

El descenso de la DMO y el incremento de la resorción ósea suceden de forma preponderante en pacientes con severa actividad litogénica, con un círculo vicioso de hipercalciuria, incremento del balance negativo de calcio óseo y la formación de litiasis renal. Arrabal Polo et al. determinó en un estudio transversal con 152 pacientes litiásicos con una DMO reducida (grupo A: 66 pacientes con T-score <-1SD en la cadera, grupo B: 86 pacientes con T-score <-1SD en el cuello femoral) una relación entre tamaño, número, recurrencia de litiasis y aumento del marcador de resorción ósea B-crosslap con la excreción urinaria de calcio de 24h (238). Obviamente, la presencia de determinados factores de riesgo, como en el caso de las mujeres postmenopáusicas, incrementa la incidencia de pérdida de DMO en pacientes litiásicos por mecanismos hormonales conocidos (239)

Las fracturas óseas asociadas a la osteoporosis resultan de fuerzas mecánicas que en condiciones normales no producirían una fractura, conocidos como traumas de baja energía (240). La Organización Mundial de la Salud (OMS) la ha cuantificado como una fuerza equivalente a una caída o menor. La reducción de la DMO es un factor de riesgo para este tipo de fracturas. Otros factores de riesgo menores incluyen los glucocorticoides orales o sistémicos, edad, sexo, fracturas previas o historia familiar de osteoporosis.

Debido al incremento de pérdida de DMO tras la menopausia en las mujeres, la pérdida de DMO vinculada a la edad en ambos sexos, la prevalencia de la osteoporosis se incrementa marcadamente con la edad, del 2% a los 50 años hasta el 25% a los 80 años en mujeres. En la medida en que aumenta la longevidad de la población también lo hace la incidencia de osteoporosis y las fracturas.

Las fracturas osteoporóticas suceden con más frecuencia en la columna, cadera y radio distal. También pueden producirse en el húmero, pelvis, costillas y otros huesos. Este tipo de fracturas pueden asociar intenso dolor y discapacidad, produciéndose una sustancial pérdida de calidad de vida, así como esperanza de vida, en el caso de la cadera y las vértebras.

Las fracturas de cadera suelen requerir hospitalización, siendo fatales en el 20% de los casos, discapacidad permanente en el 50% habiendo tan solo un 30% de recuperación completa (241). Las estimaciones sugieren que, en la Unión Europea, la incidencia de las fracturas de cadera crecerá de 70000 al año en 2006 a 91500 en 2015 y 101000 en 2020.

Hay un gran número de terapias y tratamientos disponibles para prevenir las fracturas en pacientes de riesgo, o para prevenir nuevos episodios. Sin embargo, no existen criterios consensuados para identificar a aquellos pacientes que se beneficiarían de un tratamiento preventivo. Existen diversas tablas de riesgo disponibles para predecir la incidencia de fractura en un período de tiempo, y esto puede emplearse a la hora de tomar decisiones terapéuticas.

#### Riesgo de fractura en pacientes litiásicos:

Empleando la tecnología disponible para la medición de DMO en los últimos 25 años, se ha detectado una reducción de DMO entre pacientes litiásicos con o sin hipercalcemia. Los resultados sin embargo no son del todo consistentes a la hora de identificar las áreas óseas implicadas. Estos datos inconsistentes pueden deberse a la heterogeneidad o reducido tamaño de las muestras en estos estudios.

En un estudio, Jaeger et al comparó la DMO de 110 hombres con litiasis cálcica (con/sin hipercalcemia) con controles sanos en diferentes localizaciones óseas (columna lumbar, fémur, tibial distal) (242). Aunque encontraron una tendencia a una menor DMO entre los pacientes litiásicos con independencia de la hipercalcemia, la DMO fue significativamente inferior solo en la tibia distal. Sin embargo, ninguno de los controles tuvo fractura previa, lo que puede inducir a pensar que presentaban una DMO inicial más elevada de lo normal.

Por otro lado, Heilberg et al. encontró una DMO significativamente inferior en la columna lumbar de 13 varones litiásicos con hipercalcemia rápida comparado con los controles (243). No se encontró evidencia de efecto en 29 mujeres.

La heterogeneidad de los resultados entre diferentes estudios puede deberse a factores confusores o modificadores del efecto inadvertidos que pudieran incidir más en una población que en otra. El consumo de calcio podría ser uno de esos factores. Existe evidencia sobre la relación existente entre el calcio de la dieta y la DMO en pacientes con litiasis renal. Fuss y otros encontraron que 60 pacientes varones con litiasis renal que mantuvieron una dieta baja en calcio presentaban una DMO en el radio distal inferior a otros 63 varones sin dieta restringida (244).

Trinchieri et al (245) recopilaron diarios dietéticos de 3 días sobre 48 varones con historia de nefrolitiasis. Casi la mitad de ellos presentaban una DMO inferior sobre todo en el fémur y la columna lumbar, siendo estos los que presentaban una dieta baja en calcio. Por tanto, la ingesta oral de calcio puede relacionarse con una DMO descendida en algunos estudios pero no todos arrojan resultados en esa dirección.

La DMO disminuida es un aspecto esencial ya que es el principal factor de riesgo de la fractura osteoporótica (246)(247). Debido a la baja frecuencia de ambos fenómenos simultáneamente (litiasis renal y fractura) en la población general, se precisan estudios más amplios para conocer su relación real. Melton et al (248) empleando el proyecto epidemiológico Rochester, determinó el riesgo de fractura de 624 pacientes con litiasis renal entre 1950-1974 en Estados Unidos. El riesgo de fractura vertebral era superior en aquellos con litiasis renal, con una ratio de morbilidad de 7.0 entre los hombres y de 2,4 en mujeres. No se encontró evidencia de incremento en el riesgo de fractura en el húmero proximal, pelvis o fémur proximal.

En un segundo estudio transversal, Sowers (249) estudió la relación entre DMO o fractura y litiasis renal en una grupo de 1309 mujeres, 44 de las cuales tenía antecedentes de litiasis renal sin haberse encontrado relación entre estas dos variables.

#### Agentes antiresortivos:

Los bifosfonatos se han convertido en el tratamiento más efectivo de la osteoporosis. En las ratas con hipercalciuria genética, el tratamiento con alendronato disminuyó la excreción urinaria de calcio y se creó un balance positivo de calcio (250). En dos ensayos clínicos con pacientes litiásicos e HI el tratamiento con alendronato durante un año supuso un incremento de la DMO (251)(252).

En 2012 Arrabal Polo et al (253) demostraron un descenso significativo en los marcadores de resorción ósea, calciuria y un incremento significativo de la DMO en un grupo de 75 pacientes litiásicos seguidos durante 3 años.

Sin embargo, los datos histomorfométricos sugieren que los sujetos litiásicos con hipercalciuria presentan un descenso en la formación ósea por lo que los bifosfonatos no parecerían el tratamiento más adecuado en tanto en cuanto es capaz de inhibir el metabolismo óseo. Esta reflexión alude a los estudios que han puesto de manifiesto la concurrencia de fracturas subtrocantéreas y diafisarias atípicas en mujeres postmenopáusicas tratadas de forma

crónica con bifosfonatos (254). Sin embargo, estas fracturas atípicas no se han descrito para el tratamiento con bifosfonatos en los pacientes con litiasis renal.

### 1.3.3.-Marcadores minerales de remodelado óseo

El estudio del metabolismo mineral óseo comprende la medición sérica de calcio y fósforo, así como la determinación de los niveles plasmáticos de vitamina D y PTH. Pueden existir alteraciones polimórficas en los genes que codifican la producción de vitamina D en pacientes litiásicos con alteración del metabolismo mineral óseo (255) pero no son frecuentes y no están asociados usualmente con variaciones en los niveles de calciuria.

A pesar del papel fundamental de la PTH en los pacientes litiásicos con pérdida de DMO en el hiperparatiroidismo primario, más allá de esta enfermedad no parece desempeñar ninguna función en el desarrollo de la pérdida de DMO tal y como se ha puesto de manifiesto en diversos estudios recientes (256).

Existen una multitud de marcadores bioquímicos urinarios que se pueden emplear en el estudio metabólico de pacientes con litiasis renal, sin embargo, sólo unos pocos han mostrado su eficacia a la hora de evaluar a pacientes litiásicos con pérdida de DMO.

#### Hipercalciuria:

En 2002 Tasca et al.(257) estudiaron la relación entre las variaciones en la DMO con la nefrolitiasis cálcica y la hipercalciuria. 70 pacientes con nefrolitiasis cálcica y HI entre los 19-64 años fueron sometidos a análisis densitométrico de la columna lumbar y fémur. Tras una dieta baja en calcio, los sujetos fueron clasificados en dos grupos: Hipercalciuria rápida (39 pacientes) e hipercalciuria absortiva (31 pacientes). Solo en los pacientes del primer grupo la DMO lumbar fue inferior que en los controles ( $P < 0,001$ ). De igual manera, solo en este grupo se apreciaron niveles más elevados de fosfatasa alcalina e hidroxiprolina urinaria que en el grupo control ( $P < 0,005$  y  $P < 0,015$  respectivamente). Los niveles de pH sanguíneo eran inferiores, aunque dentro de la normalidad en los pacientes con hipercalciuria frente a los controles ( $P < 0,01$ ). Se detectó una correlación negativa entre la hidroxiprolina urinaria y DMO lumbar y femoral en pacientes con hipercalciuria rápida ( $P < 0,001$  y  $< 0,005$  respectivamente), y el pH sanguíneo se correlacionó positivamente con la DMO lumbar.

Caudarella (258) no pudo demostrar influencia alguna de la hipercalciuria en el hueso para 196 pacientes con litiasis cálcica idiopática; 102 varones y 94 mujeres. Todos los sujetos se

sometieron a un estudio metabólico calculando también su DMO. Arrabal Polo et al (259) demostró en un estudio caso-control con 135 pacientes una relación positiva estadísticamente significativa entre calciuria y el cociente B-crosslaps/osteocalcina ( $R=0,303;P=0,001$ ) en un subgrupo de pacientes con litiasis recurrente (2 o más episodios de litiasis en un año).

#### **Cociente calcio/creatinina:**

De modo más específico, se refiere a la calciuria rápida, empleando este marcador. Ha demostrado ser uno de los marcadores urinarios más fiables en pacientes con litiasis y pérdida de DMO y de forma gradual se está consolidando su uso de forma independiente en este tipo de pacientes.

Letavernier (260) analizó retrospectivamente los determinantes del descenso de DMO en 65 pacientes con litiasis renal e HI. La evaluación clínica y biológica incluía la medición de la DMO, marcadores de remodelado óseo y análisis del metabolismo cálcico con requerimientos dietéticos. Todas las muestras urinarias, así como la ingesta oral de calcio se produjeron al menos 3 meses después de la litotricia o cirugía. Un análisis de orina de 24 horas bajo dieta se obtuvo de forma basal y tras 2 días sin dieta se realiza otra ingesta oral de calcio en el centro del estudio. Se extrajo análisis de sangre y orina previo y a los 90 minutos de la ingesta oral de 1 gr de carbonato cálcico. Aquellos pacientes con osteopenia ( $n=23$ , 35% del total) presentaron niveles superiores de calciuria rápida que aquellos con DMO normal ( $n=42$ ) (calcio/creatinina de 0,32 frente a 0,24mmol/mmol;  $P= 0,006$ ). El análisis completo reveló una asociación negativa entre hipercalciuria rápida y DMO ( $P=0,003$ ) independientemente de factores de confusión tales como el IMC o el consumo de tabaco. El cociente calcio/creatinina en torno a 0,25mmol/mmol se asoció con un incremento de 3,8 del riesgo de pérdida de DMO.

En el 2012 Arrabal Polo (261) estudió 180 pacientes con litiasis renal y su relación con el cociente calcio/creatinina en orina empleando densitometría ósea (T-score) y los valores de B-crosslaps (ng/ml). Observaron una correlación lineal positiva entre el cociente y el B-crosslaps ( $R=0,534$ ,  $P<0,0001$ ) así como otra de carácter negativo entre el cociente y el T-score en cadera ( $R=-0,237$ ,  $P=0,002$ ), cuello femoral ( $R=-0,217$ ,  $P=0,009$ ) y la columna lumbar ( $R=0,292$ ,  $P=0,001$ ). Sugirieron la validez del cociente calcio/creatinina urinario como marcador de resorción ósea en estos pacientes. Sin embargo, diferentes estudios (262)(263) han determinado bajos niveles de sensibilidad y especificidad de este marcador.

### **Hipocitraturia y cociente calcio/creatinina:**

Los niveles bajos de citrato urinario juegan un papel importante en la formación de litiasis pero también se ha evidenciado que el cociente calcio/creatinina es más elevado en pacientes con litiasis recurrente que en aquellos con episodio único (264). Por otro lado, se sabe que el citrato es un potente agente alcalinizante que reduce la acidosis metabólica, una de las causas de la pérdida de DMO (265).

Arrabal Polo et al. (266) llevo a cabo un estudio transversal en 2012 con 115 pacientes divididos en 2 grupos (Grupo A: 56 pacientes entre 25-60 años con litiasis renal; Grupo B: 59 pacientes entre 25-60 años con litiasis renal y severa litogénesis). Se definió severa litogénesis como: litiasis unilateral > 2cm (diámetro máximo), o > 1 litiasis unilateral sincrónica con un diámetro total >2cm o litiasis bilateral sincrónica con diámetro >2cm o litiasis recurrente severa (2 episodios en un año o 3 en 3 años independientemente del tamaño). El grupo control estaba formado por pacientes sin litiasis ni otras alteraciones urológicas que predispusieran a ellas. Los criterios de exclusión fueron: enfermedad ósea congénita, enfermedad renal congénita, hiperparatiroidismo, enfermedad inflamatoria intestinal, acidosis tubular renal, uso de bifosfonatos, terapia hormonal sustitutiva, uso de tiazidas, citrato potásico, corticoides, tratamiento con calcio o vitamina D.

Llevaron a cabo análisis de sangre y orina, así como la DMO del fémur y columna lumbar de todos los pacientes. El estudio en plasma incluía: calcio, fósforo, fosfatasa alcalina, PTH, osteocalcina, Bcrosslaps, Bcrosslaps/osteocalcina y 1,25-OH vitamina D. El análisis de orina de 24 horas medía: diuresis total, aclaramiento de creatinina, calcio, fósforo, ácido úrico, oxalato, citrato, cociente calcio/citrato, cociente oxalato/creatinina, cociente oxalato/calcio. La densidad mineral ósea e obtuvo mediante emisión dual de rayos X. En el grupo B: el cociente calcio/citrato expresaba una relación lineal positiva y significativa con el B-crosslaps ( $r=0,154$ ,  $P=0,04$ ) y los niveles urinarios de citrato tenían una relación lineal positiva con el T-score para la DMO de la cadera ( $r=0,217$ ,  $P=0,006$ ) y la DMO de la columna lumbar ( $r=0,205$ ,  $P=0,009$ ). El descenso en la excreción urinaria de citrato se asoció a la disminución de la DMO. Los análisis de regresión lineal logística que se realizaron indicaron que los únicos factores relacionados de forma independiente con cambios en el T-score fueron el B-crosslaps y el citrato urinario tras ajustar para la calciuria, PTH, cociente calcio/citrato. El autor concluye enfatizando el papel del citrato urinario ya que estos pacientes no se presentarán exclusivamente con hipocitraturia e incremento del cociente calcio/citrato, sino que también manifestarán un descenso de la DMO.

#### 1.3.4.-Marcadores proteínicos de remodelado óseo

La medición de la DMO mediante emisión de energía dual de rayos X constituye el dato más fidedigno para el diagnóstico de osteoporosis (267). Sin embargo, aproximadamente el 50% de las mujeres con fractura osteoporótica presentan niveles de DMO por encima de los niveles diagnósticos establecidos por la OMS (268).

Se hace necesario incorporar otros elementos diagnósticos con los que elaborar cuadros o tablas de riesgo que reflejen mejor el riesgo de fractura de estos pacientes. Los marcadores moleculares del metabolismo óseo son nuevas herramientas que permiten dar información dinámica sobre la formación o destrucción ósea. La mayor disponibilidad de técnicas de análisis de estos marcadores ha permitido su incorporación junto con la medición de la DMO en el diagnóstico y sobre todo seguimiento de estos pacientes que en muchos casos están siendo tratados con medicación antiresortiva que precisa monitorización.

##### Unidad de remodelado óseo:

El hueso es una estructura metabólicamente activa que se renueva a lo largo de toda la vida. Después de llegar la masa ósea a un punto crítico de desarrollo se inicia un proceso continuado de renovación que abarca formación y destrucción ósea continua en el seno de una unidad multicelular de hueso llamada: unidad de remodelado óseo. Varias biomoléculas alcanzan la circulación durante el proceso de formación y destrucción ósea, son los llamados marcadores de remodelado óseo, BTM's por sus siglas en inglés (bone turnover markers) (269).

Bajo condiciones óptimas, la resorción ósea se completa en unos 10 días mientras que la formación ósea puede durar hasta 3 meses. Más del 20% del esqueleto es reemplazado por este proceso en un año(270). Los biomarcadores actualmente disponibles del remodelado óseo incluyen péptidos enzimáticos y no enzimáticos derivados de compartimentos celulares y no celulares del hueso. Los biomarcadores de remodelado óseo se agrupan en dos categorías dependiendo de la fase metabólica en la que intervengan: marcadores de resorción y formación ósea respectivamente.

### Marcadores de formación ósea:

Son productos de la activación osteoblástica expresados durante diferentes fases de su desarrollo y se considera que reflejan diferentes aspectos de la función osteoblástica y la formación de hueso. Todos los marcadores de formación ósea se miden en suero o en plasma.

- Propéptido procolágeno N-terminal tipo I (PINP) y propéptido procolágeno C-terminal tipo I (PICP): Son péptidos derivados de osteoblastos proliferativos y fibroblastos procedentes de la piel, tendón, dentina y cartílago (271). Se prefiere emplear PINP como marcador clínico ya que PCIP se aclara mediante el receptor de la manosa, que a su vez está mediado por la acción de la hormona tiroidea y la hormona de crecimiento, lo que complica la interpretación de sus valores sanguíneos en pacientes con alteraciones hipofisarias o tiroideas. PINP existe en suero en forma trimérica o monomérica, ambas son detectables y su suma se conoce como PINP total (272).
- Fosfatasa alcalina sérica (total y ósea) ALP: es una enzima tetramérica presente en la membrana plasmática de los osteoblastos. Juega un papel fundamental en la formación del osteoide y en la mineralización mediante degradación enzimática del inhibidor de la mineralización a un pH alcalino (273). ALP fue el primer BTM empleado en la clínica y en los estudios de investigación. Se han identificado múltiples isoformas en hígado, intestino, placenta y hueso. A pesar de la estabilidad térmica de la isoforma hepática, la ósea es termolábil.
- Osteocalcina (OC): Se trata de una proteína de unión de hidroxiapatita sintetizada exclusivamente en los osteoblastos, odontoblastos y condrocitos hipertróficos. Constituye aproximadamente el 15% de toda la matriz ósea no colagénica(274). La función mineral de OC precisa de la carboxilación gamma de tres residuos de glutamato de la OC. La OC descarboxilada presenta en algunos estudios una correlación negativa con la fractura de cadera en mujeres añosas (275). Se trata de un marcador tardío de actividad osteoblástica pero como inconveniente cabe resaltar su baja vida media, inestabilidad estructural y la influencia de la vitamina K, función renal y ritmo circadiano. La OC ha mostrado ser un marcador eficaz en la osteoporosis secundaria a esteroides(276).

### **Marcadores de resorción ósea:**

Estos marcadores que se forman durante la fase de resorción ósea del remodelado del hueso incluyen productos de la actividad de los osteoclastos.

- Colágeno telopéptido carboxiterminal (CTX-Beta crosslap): Se trata de productos de degradación del colágeno tipo I del hueso generados por la actividad de la enzima catepsina K. La CTX nativa existe en dos formas: alfa y beta. Estas formas isoméricas a su vez dan lugar a las formas D y L. La isomerización espontánea de la isoforma alfa sucede con el paso del tiempo de la proteína. Por tanto, la alteración del cociente alfa/Beta sucede con la formación de hueso nuevo tal y como sucede en condiciones fisiológicas y patológicas como la enfermedad de Paget o el tratamiento con PTH (277). El mayor problema el empleo de CTX1 como biomarcador son sus variaciones con el ritmo circadiano, con un pico en la segunda mitad de la noche y su valor basal por la tarde.

Un estudio realizado por Hannon y Eastell(278) mostró que los picos de CTX se evidenciaban en torno a las 5:00 pm y el valor basal en torno a las 14:00 horas. Otros estudios han evaluado la variación de los niveles de CTX en función de la ingesta, habiéndose descrito variaciones de hasta un 20% postprandial comparado con el estado basal. Por lo tanto, para corregir esta variabilidad preanalítica se recomienda recoger las muestras de sangre por la mañana (279).

- Telopéptido C-terminal (CTX-MMP): Es una variante de CTX que se origina de la reacción del colágeno tipo I mediada por metaloproteasas a pH neutro. No se usa normalmente como biomarcador de resorción ósea (280).
- Telopéptidos de colágeno tipo I amino terminal (NTX): NTX se forma a partir de la reacción con la catepsina K durante la resorción ósea. Se mide en sangre empleando anticuerpos monoclonales contra los epítomos N-terminal. Pueden medirse tanto en sangre como en orina. Su medición está alterada en el fallo hepático y renal. El NTX urinario exhibe menos variación circadiana y postprandial que el CTX. Sin embargo la recogida de orina de 24 horas es más compleja (281)

- Colágeno piridinolina y Deoxipiridinolina (PYD) y (DPD): Estos compuestos se originan durante la maduración extracelular del colágeno fibrilar. Durante la resorción ósea, estas sustancias se vierten al torrente sanguíneo cuando el colágeno tipo I maduro se proteolisa para asegurar su estabilidad mecánica. Puesto que su medición no está influenciada por la degradación de nuevas moléculas de colágenos sintetizadas, sus niveles reflejan fielmente la degradación del colágeno maduro. Por otra parte, estos marcadores pueden medirse en orina y son independientes de la dieta y exhiben una alta especificidad por el hueso. El PYD se distribuye por el cartílago, hueso, ligamentos y vasos. El DPD se encuentra casi exclusivamente en el hueso y la dentina. Estos parámetros pueden medirse en orina de 24 horas y en muestras simples de orina por lo que reúnen mejores características que otros para medir la resorción ósea (282)
- Fosfatasa ácida resistente al tartrato (TRAP): Se expresa fundamentalmente en el exterior del osteoclasto y cataliza la degradación del colágeno tipo I en varios fragmentos durante la resorción ósea. Se usa fundamentalmente en investigaciones y se incrementa típicamente en situaciones de aumento de la resorción ósea tales como la enfermedad de Paget, metástasis ósea, mieloma múltiple y tras ooforectomía (283).
- Catepsina K: Es una enzima osteoclástica presente en su superficie, es un biomarcador fiable de resorción ósea (283). Debido al hecho de que se expresa y secreta por los osteoclastos durante la resorción ósea, la catepsina K y específicamente su forma circulante, puede ser un biomarcador útil y específico de la actividad osteoclástica (284).
- Receptor activador de ligando factor nuclear Kappa-B (RANKL): Se trata de osteoclastos marcados que reflejan el microambiente óseo. Se sintetizan en los osteoblastos y se activan mediante los linfocitos T y B y se une a RANK expresado en los osteoclastos y sus precursores estimulando su diferenciación y actividad. Estos nuevos biomarcadores se emplean en las investigaciones para monitorizar la respuesta de tratamientos de la osteoporosis y otros trastornos óseos.
- Osteoprotegerina (OPG): Son sintetizados por osteoblastos y actúan como un señuelo del receptor para RANKL. Previenen la osteoclastogénesis uniéndose a RANK y de ese modo reducen la resorción ósea. Se emplean en trabajos de investigación y requieren más resultados en la clínica para su posterior implantación.

Los biomarcadores de remodelado óseo más estudiados en pacientes con litiasis cálcica son la fosfatasa alcalina y la osteocalcina como marcadores de formación ósea y la hidroxiprolina y el B-crosslap como marcadores de resorción, aunque otros estén aún en estudio. Los niveles plasmáticos de estos marcadores también se han estudiado en animales (285).

En 2011 Arrabal Polo et al. realizan un estudio de casos control para estudiar la relación entre la pérdida de DMO, litiasis renal cálcica y biomarcadores de remodelado óseo. Se reclutó un grupo control de 135 pacientes de una clínica urológica entre 2007 y 2009 habiéndose clasificado en 3 grupos distintos (O: 45 pacientes entre 25-60 años sin litiasis, A: 45 pacientes entre 25-60 años con una litiasis renal entre 5-20 mm, B: 45 pacientes entre 25-60 años con litiasis cálcica recidivante entre 5-20 mm). Se consideró litiasis recidivante a 2 o más episodios de litiasis en un año. Los criterios de exclusión fueron: patología ósea congénita, patología congénita renal, hiperparatiroidismo, enfermedad inflamatoria intestinal, acidosis tubular renal, tratamiento con bifosfonatos, tratamiento hormonal sustitutivo, tratamiento con tiazidas, citrato potásico, corticoides, calcio y vitamina D.

Se recogió en cada uno de ellos: peso, altura, IMC y tensión arterial, así como análisis de sangre, orina y densitometría ósea del fémur y columna lumbar. Cuando se comparan los resultados del T-score de los tres grupos se identifica una mayor pérdida de DMO en el grupo de litiasis recidivante.

El valor medio de T-score femoral fue de -0,2 (O), -0,5 (A) y -1,2 (B) ( $P=0,001$ ) mientras que el valor lumbar del T-score: -0,6 (O), -0,6 (A) y -1,3 (B) ( $P=0,05$ ). Aplicando el coeficiente de correlación de Pearson describieron una correlación negativa estadísticamente significativa entre B-crosslap y el T-score femoral ( $R=-0,251$ ;  $P=0,009$ ) y el T-score lumbar ( $R=-0,324$ ;  $P=0,001$ ); por eso, cuanto mayor es la concentración de B-crosslap, menor es el T-score y mayor la pérdida de DMO, como puede observarse en la figura 1.

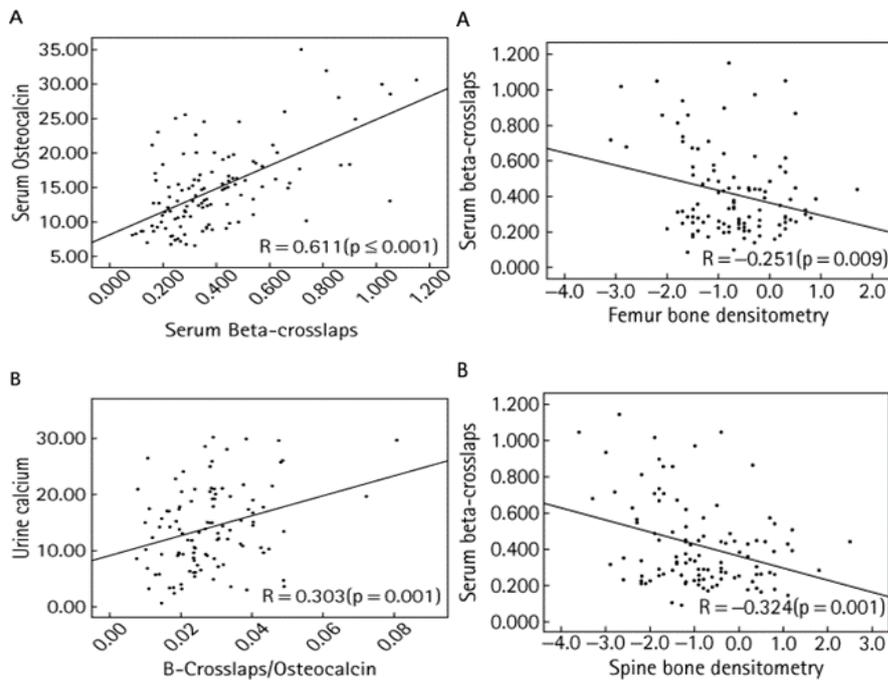


Figura.- 1

Encontraron una relación positiva estadísticamente significativa entre B-crosslap y osteocalcina ( $R=0,611$ ;  $P<0,001$ ) así como entre calciuria y el cociente B-crosslap/osteocalcina ( $R=0,303$ ;  $P=0,001$ ). Se identificó una relación negativa estadísticamente significativa entre osteocalcina, el T-score femoral ( $R=-0,405$ ;  $P<0,01$ ) y el T-score lumbar ( $R=-0,279$ ;  $P=0,008$ ) (286)

García-Nieto et al. (287) también demostró una reducción de la DMO y un aumento de la osteocalcina entre niños con HI.

## 1.4.-Relación hipogonadismo-litiasis urinaria

### 1.4.1.-Fisiología del eje sexual endocrino en el varón

El hipotálamo, la hipófisis y los testículos forman un sistema integrado responsable de la adecuada secreción de hormonas masculinas y la espermatogénesis. Los componentes endocrinos del sistema reproductivo masculino se regulan mediante un mecanismo de feedback (inhibición central mediante sus productos periféricos). Los testículos requieren la estimulación por parte de las gonadotropinas (GnRH): hormona luteotrofa (LH) y la hormona foliculoestimulante (FSH).

Su efecto sobre la línea germinal es mediado por andrógenos y el receptor de la FSH que están presentes en las células de Leydig y Sertoli respectivamente. Mientras que la FSH actúa directamente sobre el epitelio germinal, la LH estimula la secreción de testosterona a través de las células de Leydig. La testosterona estimula la espermatogénesis y la virilización e inhibe la secreción de las GnRH, otras sustancias como la noradrenalina y leptina estimulan su secreción mientras que la prolactina, dopamina, serotonina y el ácido gamma amino-butírico (GABA) la inhiben (288).

La FSH estimula la célula de Sertoli para desarrollar la espermatogénesis y secreta la inhibina B, que regula negativamente la secreción de FSH. El ritmo de secreción pulsátil de las GnRH es el principal regulador de la pubertad y la producción de GnRH comienza pronto durante la etapa fetal. Como resultado los niveles de GnRH se modifican drásticamente a lo largo de la vida del varón. Los niños presentan lo que se conoce como periodo ventana durante los primeros seis meses de vida durante los cuales la función gonadal puede ser detectada clínicamente en respuesta a la estimulación con gonadotropinas. Tras ese período, los niveles de GnRH se vuelven indetectables hasta la pubertad (289).

### **Hipogonadismo masculino**

El hipogonadismo masculino puede ser resultado de una disfunción testicular o hipotalámica. El hipogonadismo hipergonadotrópico también se conoce como hipogonadismo primario y es el más frecuente en el varón adulto. El estudio de varones ancianos de Massachusetts (MMAS) publicó una incidencia cruda de 12.3/1000 individuos al año, permitiendo calcular una prevalencia estimada en 481.000 nuevos casos de hipogonadismo de inicio tardío (LOH) en varones norteamericanos entre los 40-69 años (290).

Los síntomas de este desorden incluyen: disminución de la libido, disfunción eréctil, debilidad muscular, aumento de la adiposidad, deterioro cognitivo y descenso de la vitalidad. El hipogonadismo primario se caracteriza por una baja producción de testosterona y elevados niveles de GnRH (291). El síndrome de Klinefelter es la manifestación congénita más frecuente de hipogonadismo primario y afecta aproximadamente a uno de cada 500 hombres.

Las formas adquiridas de hipogonadismo hipergonadotrópico incluyen el paso del tiempo, afectando al 4,1% de los varones entre 40-49 para pasar a un 9,3% en aquellos entre los 60-70 años así como la exposición a agentes gonadotóxicos tales como la quimioterapia y radioterapia que lesionan directamente las células de Leydig y de Sertoli (292).

A diferencia del hipogonadismo primario, el hipogonadismo hipogonadotrópico (HH) es una consecuencia de una disfunción hipotalámica adquirida o congénita (291). En el HH, la secreción de GnRH está ausente o es inadecuada (293). La prevalencia de HH se ha estimado en torno a 1:10,000-1:86,000 individuos (294). El HH puede ser congénito o adquirido. La forma congénita se subdivide en dos dependiendo de la conservación del olfato: HH anósmico (síndrome de Kallmann) y la forma congénita normósmica. La incidencia del HH congénito es aproximadamente 1-10:100,000 nacimientos con alrededor de 2/3 y 1/3 para el síndrome de Kallman y el HH idiopático respectivamente (295).

### **Hipogonadismo de inicio tardío en el varón**

Está bien establecido el papel que desempeña la testosterona en la fisiología de varios órganos y tejidos en los que se localiza el receptor de andrógenos tales como la piel, músculo, hígado, hueso, médula ósea, cerebro y órganos sexuales. Sin embargo, como resultado del envejecimiento, la concentración de testosterona decrece gradualmente en torno a un 1,6% anual especialmente después de los 40 años.

Por este motivo, el mantenimiento de los niveles de testosterona en los varones ancianos ha cobrado especial atención ya que los niveles bajos de testosterona se han asociado con un incremento de la mortalidad en los varones veteranos (296).

La hipoandrogenemia frecuentemente antecede a la obesidad en varones adultos indicando que los niveles de andrógenos pueden ser los precursores de la resistencia a la insulina, el síndrome metabólico y finalmente la diabetes mellitus tipo II en algunos hombres. Un estudio prospectivo de 11 años de duración reveló que los niveles bajos de testosterona de forma independiente predicen el desarrollo de síndrome metabólico, diabetes mellitus tipo II y contribuyen a su patogénesis (297). Un reciente análisis retrospectivo de los datos procedente del estudio de Massachusetts Male Aging Study database encontró que los síntomas clínicos, signos y evidencia bioquímica de déficit de andrógenos predijeron un riesgo incrementado de padecer síndrome metabólico tras un periodo de seguimiento de 15 años. El análisis también reveló que los niveles descendidos de ambas globulinas transportadoras de hormonas sexuales (SHBG) y la testosterona total se asociaron con un riesgo incrementado de desarrollar esta condición. Los autores sugieren que el déficit de andrógenos puede ser un signo de alarma de riesgo cardiovascular y una oportunidad de intervención precoz en varones no obesos (298).

Desde este punto de vista, el concepto de LOH se ha convertido en un aspecto central en los últimos años. Se ha definido por la Sociedad Internacional de Andrología (ISA), la Sociedad Internacional para el estudio del varón anciano (ISSAM) y la Asociación europea de Urología (EAU) como un síndrome clínico y bioquímico asociado a la edad avanzada y caracterizado por síntomas típicos y un déficit de los niveles séricos de testosterona.

El estudio europeo sobre el varón anciano con 2966 varones de edad media y avanzada encontraron una proporción de LOH (niveles séricos de testosterona total <3,2ng/ml, niveles de testosterona libre <64pg/ml y al menos 3 síntomas sexuales) en el 2,1% de varones entre 40-79 años (299). Los síntomas de LOH son fácilmente reconocibles: pérdida de libido y de función eréctil (sobre todo nocturnas), deterioro cognitivo y desorientación espacial, fatiga, depresión, descenso de la masa corporal, pérdida de pelo y alteraciones cutáneas y descenso de la densidad mineral ósea (300)(301)(302)(303)(304).

Se considera que la alteración en el balance anabolismo-catabolismo en favor del catabolismo es un factor clave en la aceleración del envejecimiento del varón (305). Este desorden se manifiesta sobretodo en 3 ejes endocrinos: gonadal, adrenal y somatotrópico con un descenso de la testosterona, sulfato dehidroepiandrosterona (DHEA-S) y el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-1) respectivamente (306). La disfunción anabólica puede facilitar el descenso de la masa muscular, incremento del tejido adiposo, resistencia a la insulina y varias condiciones médicas que afectan a la mortalidad.

Maggio et al (307), en el estudio CHIANTI a 6 años, sugirió que el descenso hormonal de estos 3 ejes en personas mayores tras ajustar por una serie de factores de confusión ( edad, IMC, tabaco, alcohol, ingesta de calorías, actividad física, diabetes, hipertensión, enfermedad arterial periférica, enfermedad coronaria e infarto) predicen de forma independiente un incremento de la mortalidad a 6 años. Sin embargo, estos ejes endocrinos analizados individualmente no incrementan de forma significativa la mortalidad.

#### **1.4.2.-Relación hipogonadismo-síndrome metabólico**

Se ha descrito recientemente que algunos hombres con síndrome metabólico presentan también niveles bajos de testosterona en comparación con otros hombres de similares características. Varios estudios relacionan los niveles bajos de testosterona con la prevalencia del síndrome metabólico. Kupelain V. et al (308) reclutó 1885 varones de diversa etnia entre 30-37 años con datos completos de: testosterona total, testosterona libre y SHBG en el estudio

transversal BACH. La ratio de síndrome metabólico incrementaba un punto con cada descenso de una desviación estándar en los niveles hormonales. La asociación entre hormonas sexuales y síndrome metabólico fue estadísticamente significativa entre diferentes grupos étnicos y persistió tras ajustar por edad, tabaco, alcohol y actividad física.

Aunque la magnitud de esta asociación fue mayor entre varones blancos, las diferencias raciales no fueron estadísticamente significativas. Las mayores asociaciones fueron observadas con el perímetro abdominal y la dislipemia y asociaciones más modestas con la diabetes y la elevación de azúcar.

Alrededor de una 10% de los varones entre 40-60 años y un 25% entre 60-80 años presentan niveles plasmáticos de testosterona por debajo del límite inferior según las guías internacionales (309)(310). Gapstur S.M et al (311) demostró en el estudio CARDIA (Coronary Artery Risk Development in Young Adults Study) que el descenso en la testosterona sérica y el incremento en las concentraciones de SHBG comienza durante la tercera década de la vida.

La hipoandrogenemia, desarrollada a lo largo del tiempo en el varón conocida como hipogonadismo de inicio tardío es el resultado de una progresiva disfunción testicular (hipogonadismo hipergonadotrópico o hipogonadismo primario) y representan la causa más frecuente de hipogonadismo en el varón adulto.

El síndrome metabólico ha sido previamente definido como la concurrencia de varios factores de riesgo cardiovascular conocidos; resistencia a la insulina, dislipemia aterogénica, obesidad e hipertensión. De todas estas características centrales tanto la resistencia a la insulina como la obesidad parecen ser requisitos fundamentales para que se produzca el síndrome metabólico.

#### Testosterona-obesidad:

En varones, varios estudios transversales sugieren una asociación inversa entre peso, IMC, perímetro abdominal y niveles circulantes de testosterona (total, libre, biodisponible) (312)(313). Estos hallazgos no explican la relación causa-efecto entre obesidad y hormonas sexuales. En el síndrome de Klinefelter (la forma más frecuente de hipogonadismo hipergonadotrópico congénito) B. Anders (314) no encontró diferencias dramáticas en los parámetros de grasa libre entre pacientes tratados y no tratados con testosterona.

Abate et al. (315) ha sugerido una relación causa-efecto recíproca para describir la relación entre obesidad y hormonas sexuales. La baja disponibilidad de testosterona reduce la lipólisis del tejido abdominal (316) y a su vez, se ha puesto de manifiesto en adultos humanos, la administración de testosterona produce reducción de la adiposidad central (317).

Basaria-Braga M. et al (318) encontró en un estudio transversal con 58 pacientes que la obesidad abdominal era uno de los principales determinantes de una alta prevalencia de síndrome metabólico en pacientes con cáncer de próstata tratados con deprivación androgénica (50%) comparado con grupos control eugonadales: varones con cáncer de próstata no metastásico con tratamiento local y elevación reciente de PSA. Sin embargo, en presencia de obesidad el efecto en el perímetro abdominal puede ser causado por inhibición central o periférica de la producción de testosterona. Varios estudios han determinado niveles normales de GnRH en hombres obesos (319)(320) con tendencia a la reducción de la LH en la obesidad severa.

Se ha propuesto que la reducción en los niveles plasmáticos de testosterona total se debe a una reducción de la capacidad de unión de la SHBG. La obesidad abdominal se asocia con un incremento de los niveles de insulina en sangre (321) capaces in vitro e in vivo de inhibir la síntesis hepática de SHBG (322)(323). Los niveles circulantes de SHBG son inversamente proporcionales a los niveles de insulina (324) y directamente proporcionales a la sensibilidad de la insulina (325). Los niveles bajos de SHBG podrían por tanto reducir la secreción global de testosterona como resultado de un mecanismo de autorregulación del eje hipotalámico-hipofisario-gonadal.

Sin embargo, Isidori A.M et al. (326) demostró que los niveles circulantes de leptina y el tejido adiposo eran inversamente proporcionales a los niveles de testosterona total y libre y que esta correlación no se perdía tras ajustar por niveles de SHBG, LH y/o estradiol. Este autor concluye que la leptina era el mejor marcador hormonal de la hipoandrogenemia en obesos al inhibir la acción de la célula de Leydig (327).

Por último, también es posible que en los individuos obesos la aromatización periférica de la testosterona en el tejido adiposo contribuya a descender los niveles plasmáticos de testosterona (328).

#### Testosterona-resistencia a la insulina:

La resistencia a la insulina predispone a la aparición de síndrome metabólico y DM tipo II y representa un factor de riesgo cardiovascular independientemente de estas condiciones tal

y como se ha explicado previamente. Sin embargo, la asociación entre resistencia a la insulina y enfermedad cardiovascular puede verse distorsionada por el papel que desempeña el equilibrio de las hormonas sexuales.

La castración de ratas macho se asocia a la resistencia a la insulina, la cual puede revertirse con tratamiento hormonal sustitutivo (329). En los hombres, los niveles bajos de testosterona se relacionan con la resistencia a la insulina (330)(331), el desarrollo de síndrome metabólico y DM tipo II (332)(333)(334) así como con un incremento global de la mortalidad cardiovascular (335)(336).

La adiposidad central se ha reconocido como predictor de niveles bajos de testosterona (337), sin embargo Yeap BB et al. (338) demostró en un estudio transversal con 2470 varones no diabéticos mayores de 70 años que los niveles bajos de testosterona se asociaban a la resistencia a la insulina con independencia de la obesidad. La relación entre testosterona y resistencia a la insulina podría considerarse también de modo bidireccional ya que bajo determinadas condiciones experimentales el incremento de la resistencia a la insulina se asocia con el descenso de la secreción de la testosterona en las células de Leydig (339).

Por lo tanto, los varones con DM tipo II frecuentemente presentan niveles bajos de testosterona (340) y en varones con hipogonadismo y DM tipo II, el tratamiento con testosterona reduce la resistencia a la insulina y mejora el control glucémico en ausencia de cambios de la composición corporal (341).

En los varones con Síndrome de Klinefelter existe un riesgo aumentado tanto de DM tipo I y tipo II con una hazard ratio de 2,21 y 3,71 respectivamente (342). Presentan una reducción media global de la supervivencia de 2,1 años con la diabetes como principal responsable de su mortalidad específica (HR: 1,6) (342). En una cohorte de 71 varones con síndrome de Klinefelter, el 44% presentaban características centrales del síndrome metabólico frente a un 10% en el grupo control (343). Tras controlar por los niveles de testosterona total, la obesidad central resultó ser un determinante claro de la resistencia a la insulina en el síndrome de Klinefelter (344).

El tratamiento con deprivación androgénica se asocia a un incremento de la resistencia a la insulina, independientemente de la edad y el IMC (345). La relación entre deprivación androgénica y resistencia a la insulina parece presentarse como un efecto acumulativo en el que en primer lugar se produce una hiperinsulinemia por pérdida de la sensibilidad a su acción y posteriormente una hiperglucemia que puede conllevar síndrome metabólico y la aparición de DM tipo II (346). Por tanto, la resistencia a la insulina posterior a la hiperinsulinemia sería un

mecanismo de compensación disfuncional para mantener los niveles de glucosa normal (347). Se cree que los cambios corporales secundarios a la deprivación androgénica proceden también de la resistencia a la insulina.

En un pequeño estudio con supresión de secreción insulínica por diazóxido y empeoramiento de la tolerancia a la glucosa se objetivó una disminución de la testosterona total en sujetos obesos pero no en aquellos con peso normal (348). Empleando otro método de hipogonadismo inducido mediante antagonistas de GnRH seguido de estimulación de eje con dosis fisiológicas de GnRH y LH en varones con tolerancia normal a la glucosa, diabetes mellitus y con un IMC entre 24-46 se demostró que la resistencia a la insulina se relacionaba con un descenso en la secreción de testosterona por las células de Leydig (339). No se halló correlación entre la sensibilidad a la insulina y la secreción endógena de LH o la respuesta de LH a la GnRH exógena, sugiriendo que el problema de la resistencia a la insulina en el eje sexual endocrino masculino se produce a nivel periférico en el testículo.

#### Testosterona-tensión arterial:

Los datos acerca de la correlación entre testosterona y tensión arterial son conflictivos. Algunos investigadores han determinado una relación inversa entre ambos parámetros en estudios transversales (349) pero no todos describen tal relación (350)(351). En un estudio longitudinal con 66 varones durante 13 años no se encontró relación entre testosterona y tensión arterial (352). Ningún estudio ha determinado relación directa entre ambas magnitudes ni en un sentido ni en otro, de tal modo que niveles altos de testosterona tampoco se han relacionado con la hipertensión arterial.

Svartberg (353) describió en un estudio transversal con 1548 varones entre 25-84 años una relación inversa entre la testosterona total y el peso del ventrículo izquierdo. Estas asociaciones fueron independientes de la edad, pero se disiparon al ajustar por IMC y perímetro abdominal, sugiriendo que el elemento clave de esta supuesta relación es la distribución de la grasa corporal.

Se ha sugerido una vinculación genética entre ambos parámetros por un estudio que muestra que los hombres con historia familiar de hipertensión tienen niveles inferiores de testosterona (354). Aquellos ratones que no presentan los genes codificadores del receptor del péptido natriurético A se caracterizan por presentar hipertensión arterial y niveles bajos de testosterona (355). La testosterona puede ejercer un efecto antihipertensivo sobre la vasculatura induciendo relajación endotelial tal y como se ha demostrado en estudios sobre

aorta de rata y conejo (356)(357), también se ha postulado su efecto beneficioso sobre la isquemia miocárdica (358) y el flujo coronario en varones con cardiopatía hipertensiva.

Todas estas observaciones sugieren un papel directo de la testosterona en la regulación de la resistencia vascular y la presión arterial. En un estudio reciente de pacientes con cáncer de próstata, el hipogonadismo farmacológicamente inducido se asoció con un incremento de la presión arterial central (359).

#### Testosterona-dislipemia:

Corona G. et al (360) estudió una serie consecutiva de 1647 varones (edad media 52,4) con disfunción sexual. Se estudiaron varios parámetros hormonales y bioquímicos. En todos los cuartiles de edad estudiados, los niveles bajos de testosterona se asociaron con un perímetro abdominal mayor, niveles elevados de triglicéridos y con un incremento del síndrome metabólico. Varios estudios proponen también una correlación positiva entre testosterona y los niveles de HDL (361)(362)(363).

### **1.4.3.-Relación hipogonadismo-osteoporosis masculina**

El hipogonadismo se asocia con pérdida de DMO tanto en hombres como en mujeres. Es el cambio fisiológico más notable y responsable del descenso de la DMO en las mujeres postmenopáusicas. La menopausia prematura y los fármacos que inducen hipogonadismo, tales como los inhibidores de la aromatasa y análogos de la GnRH se asocian con un descenso de la DMO y un riesgo incrementado de fractura ósea. El hipogonadismo es la causa más común de osteoporosis en ambos sexos y está presente en más del 20% de los varones con fractura vertebral sintomática y en el 50% de los ancianos con fractura de cadera (364).

Los andrógenos presentan una acción dual en el esqueleto; un efecto directo a través de la activación del receptor androgénico (RA) y un efecto indirecto tras la aromatización periférica a estrógenos y la subsiguiente activación del receptor estrogénico alfa (RE alfa). En los varones, los testículos disponen aproximadamente de un 15% de los estrógenos circulantes y el 85% restante deriva de la aromatización periférica tisular de los precursores androgénicos circulantes. Ambos regulan la resorción ósea en el varón de forma independiente. Los andrógenos también regulan la formación ósea en el varón tal y como se desprende de un estudio con jóvenes transgénero en los que el tratamiento con testosterona incrementó los niveles de marcadores de formación ósea y la DMO de la cadera sin cambios significativos en los

niveles de estradiol, sugiriendo que este efecto de la testosterona era independiente de su aromatización a estrógenos (365).

La testosterona y la 5 alfa- dihidrotestosterona (DHT) regulan la expresión de ciertos genes en los osteoblastos e inhiben la actividad resorptiva osteoclástica humana y murina in vitro (366). Las hormonas sexuales influyen en la secreción de una gran variedad de citoquinas y factores de crecimiento como la interleuquina 1 (IL-1), interleuquina 6 (IL-6) y el factor de necrosis tumoral (TNF) alfa que contribuyen al efecto de los andrógenos en la remodelación ósea (367).

#### Andrógenos y receptor androgénico:

Andrógeno es un concepto que engloba a la testosterona y sus precursores, los metabolitos C19 del colesterol. El andrógeno gonadal predominante en el varón es la testosterona, el 95% de la cual se secreta en el testículo. El restante 5% se produce en las glándulas suprarrenales por la conversión de la dihidroepiandrosterona(368). La testosterona es fijada por la globulina sexual SHBG y la albúmina. Los efectos de la testosterona en el cuerpo están mediados por su conversión local a 5-alfa dihidrotestosterona en los tejidos periféricos, los cuales presentan una afinidad mayor por el RA.

La síntesis de andrógenos está controlada por la secreción pulsátil de GnRH que a su vez estimula la secreción de LH que estimula a la célula de Leydig testicular para producir testosterona, que lleva a cabo importantes funciones anabólicas y androgénicas tanto en hombres como en mujeres (369). Por ejemplo, el crecimiento óseo y su mantenimiento están significativamente influenciados por la testosterona. Estudios previos han demostrado que la administración de testosterona incrementa el desarrollo epifisario en ratas con independencia de la hormona del crecimiento y el factor de crecimiento similar a la insulina (370)(371).

La testosterona se metaboliza mediante el citocromo P450 en el 17-B-estradiol. El proceso de aromatización es también importante para el hueso (372). Se han publicado series de casos indicando que los varones con mutaciones en el receptor estrogénico o en la aromatasa padecen formas más graves de osteoporosis (373) sugiriendo así que al menos en parte la acción de la testosterona en el hueso se debe a su conversión en estradiol (374).

Las hormonas sexuales esteroideas actúan a nivel celular uniéndose a miembros de la superfamilia de receptores nucleares hormonales. Los andrógenos se unen al RA, mientras que los estrógenos lo hacen al RE alfa o RE beta. El RA se expresa en la médula ósea y en la placa de crecimiento (375)(376). En un estudio, el RA se expresaba en los condrocitos proliferativos e

hipertróficos de ratas sexualmente maduras y sólo en los condrocitos hipertróficos de ratas seniles (377).

Las ratas masculinas presentan una expresión mayor de RA en la placa de crecimiento y hueso metafisario en comparación con las hembras (377). Esto sugiere que la acción directa de los andrógenos en los condrocitos y en las células formadoras de hueso está a su vez implicada en las diferencias óseas de género. Sin embargo, no hay diferencias sexuales en la expresión del receptor en la placa de crecimiento de condrocitos (378)(379). Los RE alfa y Beta se expresan en la placa de crecimiento humana. Esto sugiere que los andrógenos posiblemente afecten al desarrollo puberal o el cierre epifisario indirectamente mediante la aromatización a estrógenos (380)(381).

#### El efecto de la testosterona en la célula ósea:

La integridad de nuestro sistema esquelético se mantiene mediante un intrincado proceso llamado remodelación que está mediado por 3 tipos celulares: osteoblastos (formación ósea), osteoclastos (resorción ósea) y osteocitos. Estos tipos celulares son sensibles a diversas vías de señalización mediante hormonas, citoquinas, minerales y componentes de la dieta. Algunos de estos tipos celulares expresan RA y RE y son por tanto sensibles a estímulo hormonal. Cualquier alteración en este sistema dinámico produce una disfunción en el remodelado óseo. En el caso de la osteoporosis, el proceso de resorción supera al de formación, con pérdida neta de hueso (382)(383).

- Osteoblastos: Se encargan de la producción de las proteínas de matriz así como de la mineralización ósea (384). Los osteoblastos se desarrollan de células madre pluripotenciales del mesénquima bajo una serie de factores de transcripción específicos (385). El osteoblasto maduro se encarga de la mineralización de la matriz mientras que las formas inmaduras regulan la formación de osteoclastos (386)(387).

El RA ha sido identificado en osteoblastos fetales humanos cultivados mediante técnicas de inmunoanálisis (388) así como su RNA m y proteínas de expresión. Casi todos los estudios han demostrado que los andrógenos regulan la expresión del RA en los osteoblastos (389).

Tanto las células estromales (precursores de osteoblastos), megacariocitos como las células endoteliales de la médula ósea expresan el RA (376)(375). Diversos estudios sostienen que tanto la testosterona como la DHT estimulan la proliferación de precursores osteoblásticos en distintas especies (390).

Los andrógenos además pueden ser capaces de suprimir la apoptosis de los osteoblastos (391), estimular la producción de interleuquina 1 beta y potenciar el efecto mitogénico del factor de crecimiento en osteoblastos cultivados (392). Investigaciones posteriores demuestran que los andrógenos estimulan e inhiben la expresión de marcadores osteoblásticos tales como la osteocalcina, colágeno alfa tipo I y la fosfatasa alcalina, así como la mineralización de matriz ósea extracelular, como pueden observar en la figura 2.

- Osteoclastos: Estos tipos celulares se originan de progenitores hematopoyéticos en la médula ósea. La diferenciación osteoclástica implica un contacto entre células estromales de la estirpe osteoblástica en el microambiente de la médula ósea y estimulación por el receptor activador del factor nuclear k-b (RANKL) que produce la unión de RANK a los osteoclastos (393).

El efecto de RANKL sobre los osteoclastos están regulados por la osteoprotegerina (OPG), un receptor de RANKL, también secretado por los precursores de osteoblastos (394). La proliferación de osteoclastos tras orquiectomía se explicaría debido al déficit de andrógenos. La orquiectomía producirá la proliferación de precursores osteoblásticos que secretarán RANKL que a su vez estimulará la proliferación de osteoclastos y su activación, resultando en pérdida de masa ósea (395).

Los estudio in vitro muestran que la DHT interactúa con el RA de los osteoclastos e inhibe la resorción ósea en osteoclastos humanos y murinos (396). En otros estudios sobre cultivos celulares se evidenció que lo andrógenos regulaban la formación de osteoclastos mediante la vía RANKL y que también inhibían la secreción proteica y de RNA mensajero de OPG de los osteoblastos (396)

- Osteocitos: Durante la formación ósea, una parte de los osteoblastos se separa del resto y se incluye en el osteoide mineralizado transformándose en osteocitos (397). Los osteocitos se encuentran alojados en lagunas dentro del hueso mineralizado y representan alrededor del 90-95% del total de células óseas (398). Los osteocitos presentan una dendrita de gran tamaño que interactúa con otros osteocitos en el interior del hueso mineralizado así como con los osteoblastos en la superficie del hueso (399).

Los osteocitos modulan el remodelado óseo respondiendo a estímulos mecánicos para prevenir la acumulación de micro trauma óseo (400)(401).

Los estudios in vitro sugieren que el RA-alfa o el RE-beta transducen señales mecánicas en osteocitos y osteoblastos con independencia de los estrógenos (402). Se puso en evidencia que el estradiol previene la apoptosis de osteocitos y desarrolla la producción de factor de crecimiento alfa que inhibe la resorción ósea osteoclástica (403). Por lo tanto, los estrógenos procedentes de la conversión de la testosterona en los varones podrían contribuir al efecto anabólico de los osteocitos.

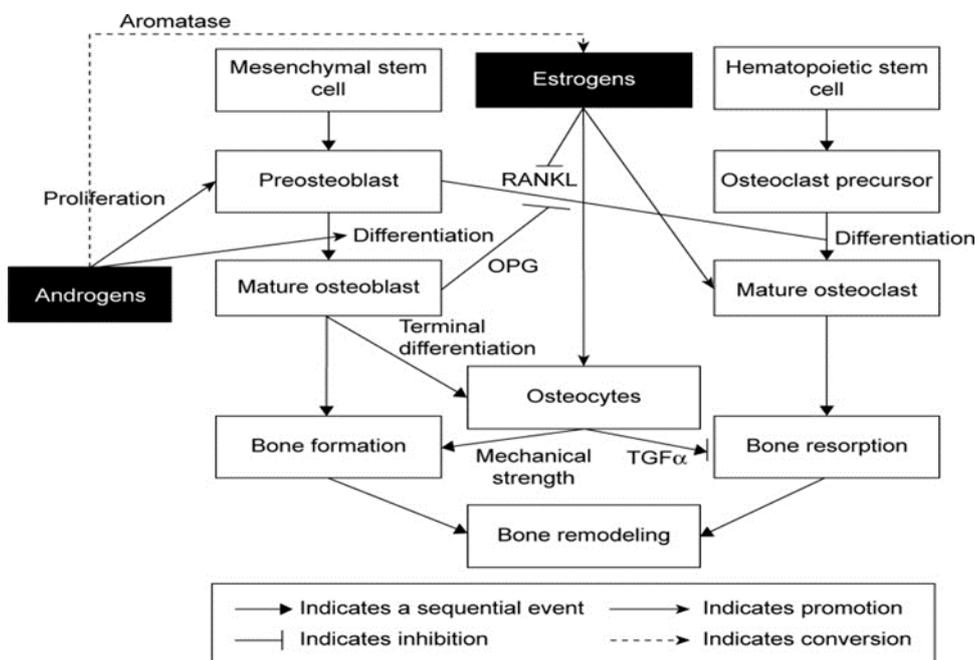


Figura.- 2

Relación entre hipogonadismo y DMO o riesgo de fractura:

El efecto de la testosterona sobre la salud ósea humana puede expresarse o medirse en términos de DMO y riesgo de fractura. Por otro lado, los marcadores de formación/resorción ósea permiten cuantificar también este proceso dinámico. Varios estudios prospectivos han demostrado que el riesgo de fractura se incrementa a medida que desciende la DMO (404). La cohorte de Framingham estableció que la DMO radial y femoral descendían de forma significativa con la edad en ambos sexos (n=1154, edad: 68-98 años) (405).

La asociación entre testosterona, estrógenos y DMO-fractura en varones ancianos ha sido ampliamente demostrada en diversos estudios. La cohorte estadounidense del estudio

“Osteoporotic Fractures in Men Study” examinó la asociación entre el riesgo de fractura ósea no vertebral y la testosterona, estradiol y SHBG en varones ancianos (n=5,995, edad >65 años, seguimiento= 4,7 años). Cada hormona se asoció con riesgo de fractura pero la combinación de todas ellas predecía mejor el riesgo de fractura (406).

En otro estudio de cohortes chino (n=1,448 con varones >65 años, seguimiento= 4 años) se evidenció una relación entre estradiol, DMO y riesgo de fractura (407). De modo análogo al estudio americano, la combinación del cuartil inferior de testosterona y estradiol y el cuartil superior de SHBG era la que permitía predecir mejor fracturas incidentes (407). La importancia relativa de andrógenos y estrógenos en la salud ósea permanece aún sobre debate. En el Dubbo Osteoporosis Epidemiology Study (n=609, seguimiento= 5,8 años) se encontró una asociación estadísticamente significativa entre testosterona, estrógenos y la fractura ósea en los varones ancianos. Tras ajustar por factores de confusión, sólo la relación entre testosterona sérica y fractura permaneció estable (408).

La cohorte sueca de Osteoporotic Fractures in Men Study (n= 2,639 seguimiento= 3,3 años) encontró una relación estadísticamente significativa con el estradiol libre pero no con la testosterona libre (n= 2,639, seguimiento= 3,3 años) (409). Al parecer, la relación entre SHBG y hueso es dependiente de la edad en el varón (406). Sin embargo, en varones más jóvenes, la relación entre masa ósea pico y SHBG fue positiva (410). Se postuló que los niveles más elevados de SHBG en varones jóvenes es reflejo de unos niveles de testosterona más elevados. Sin embargo, un nivel mayor de SHBG no se acompaña con los de testosterona en varones ancianos debido a una desregulación del mecanismo de feedback. Por ello, el descenso de la testosterona biodisponible produce deterioro óseo.

Los resultados de concentración de testosterona fueron menos consistentes que los de estradiol en relación con la pérdida ósea y el riesgo de fractura en varones, exceptuando para aquellos niveles especialmente bajos de testosterona (hipogonadismo) sobre todo tras castración química o quirúrgica. Este tipo de pacientes presentaba un incremento del recambio óseo, pérdida de hueso y riesgo de fractura incrementado (411).

Se han llevado a cabo estudios experimentales en humanos para proporcionar evidencia directa sobre la importancia de la salud ósea. En uno de esos estudios experimentales, varones jóvenes entre 20-44 años se dividieron en tres grupos. El primer grupo recibió sólo un análogo de GnRH para suprimir la producción endógena de hormonas sexuales, mientras que el segundo grupo recibió un análogo de GnRH más testosterona y el tercer grupo, un análogo de GnRH más un inhibidor de la aromatasa para prevenir la conversión de testosterona a estrógenos. Los

resultados muestran que los marcadores de resorción ósea estaban incrementados en los grupos 1 y 3, indicando la importancia de los estrógenos en la supresión de la resorción ósea(412)

Otro estudio mostró un aumento significativo de los marcadores de resorción ósea en ausencia de ambas hormonas. Aunque los estrógenos previenen el incremento de marcadores de resorción ósea, este no parece ser el papel también de la testosterona. Los marcadores de formación ósea y la osteocalcina sérica decrecen en ausencia de ambas hormonas y sus niveles vuelven a la normalidad con la reposición tanto de estrógenos como de testosterona. Este estudio postula que los estrógenos juegan un papel importante en la regulación de la resorción ósea (413).

Por otro lado, un estudio demostró en varones ancianos con hipogonadismo que tras la administración durante 12 semanas de un inhibidor de la aromatasa se habían aumentado los niveles de testosterona y disminuido los de estrógenos pero no tuvo impacto en los marcadores de formación ósea y la DMO (414). Sin embargo, la administración del inhibidor de la aromatasa prolongada hasta 12 meses si se relacionó con un descenso de la DMO (415).

Tracz MJ et al. (416) publicó en 2006 una revisión sistemática y metaanálisis acerca de las variaciones de la DMO en varones tratados con testosterona. Un total de 8 ensayos clínicos randomizados (n=365) fueron incluidos: 7 de ellos con grupo paralelo, de entre 3-36 meses de duración (solo 2 de más de 12 meses) con una edad media entre 36-75 años. El metaanálisis mostró un pequeño incremento significativo de la DMO lumbar en aquellos que tomaban testosterona en oposición al grupo placebo, sin embargo, esta asociación se demostró no significativa en el caso de la DMO femoral.

### **1.5.-Relación entre terapia de deprivación androgénica y litiasis urinaria**

la terapia con deprivación androgénica (TDA) ha sido el pilar fundamental del tratamiento del cáncer de próstata avanzado desde que fue inicialmente descrito por Huggings y Hodges en 1941 (417). Sin embargo, no se trata de un tratamiento inocuo. La supresión de los niveles fisiológicos de testosterona se ha asociado con varios efectos adversos frecuentemente citados como síndrome de la deprivación androgénica. Esta condición se caracteriza por cambios metabólicos tales como: dislipemia, resistencia a la insulina y aumento de la grasa corporal. La obesidad y la hiperlipemia son factores de riesgo de enfermedad coronaria arterial por lo que de forma indirecta la TDA puede suponer un incremento de la morbi/mortalidad cardiovascular.

La TDA ha aumentado sus indicaciones hacia tumores de próstata locales o localmente avanzado según las circunstancias de cada paciente sobre todo tras demostrarse su beneficio como tratamiento neoadyuvante de la radioterapia primaria y de rescate (418). Aunque múltiples estudios ponen de manifiesto el beneficio en la supervivencia de la TDA en tumores localmente avanzados y en el tratamiento de las adenopatías su uso se extiende a indicaciones a largo plazo sin haberse determinado para periodos tan prolongados los posibles riesgos o beneficios en estudios al respecto(419)(420)(421)

### **1.5.1.-Efectos secundarios generales de la TDA**

El empleo generalizado de la TDA en pacientes con cáncer de próstata y la ampliación de sus indicaciones ha conllevado un renovado interés por los efectos secundarios a largo plazo de este tratamiento, en el medio plazo estos se vinculan con el síndrome metabólico y un proceso de desmineralización ósea a partir de 12 meses e incluso antes con un incremento del riesgo de fractura ósea incrementado a 5 años y de forma subsidiaria o en dependencia con procesos concomitantes del paciente con un incremento de la mortalidad cardiovascular sin haberse podido establecer una relación directa e independiente de otros procesos.

En el corto plazo son conocidos los efectos secundarios que se explican a continuación: pérdida de calidad de vida, estado anímico y función cognitiva, enrojecimiento y disfunción sexual.

#### Calidad de vida:

Dado el creciente número de varones diagnosticados de cáncer de próstata con mayor esperanza de vida independientemente del tratamiento se hace cada vez más importante considerar el impacto global de las terapias en la calidad de vida. Existen una serie de cuestionarios validados y ampliamente empleados en la clínica que recogen síntomas y problemas específicamente relacionados con la enfermedad tales como el EORTC QLQ-C30 o el EORTC QLQ-PR25 (422). Generalmente incluyen preguntas acerca de la morbilidad, comida, micción y movimiento intestinal, depresión, ansiedad, dolor y función sexual. Aunque no siempre son útiles en la consulta sirven para que el clínico pueda considerar el estado de salud del paciente desde un punto de vista más global.

#### Estado anímico y función cognitiva:

En el estudio retrospectivo observacional Surveillance, Epidemiology and End Results (SEER), se compararon 50613 varones ancianos tratados con TDA al menos durante 5 años tras el diagnóstico con varones sin cáncer de próstata (423). La incidencia de al menos uno de estos tres: depresión, disfunción cognitiva o constitucional fue mayor entre pacientes con cáncer de próstata (31.3 vs 23.7%, respectivamente,  $P=0,001$ ). Sin embargo, tras ajustar por la edad, comorbilidad y características del tumor se reducía significativamente el riesgo o desaparecía.

En un estudio de función cognitiva en pacientes con TDA (424), tras 12 meses de tratamiento, hubo una reducción de la capacidad de atención, memoria de trabajo y función espacial frente a grupo control. Un revisión de 9 estudios ( la cohorte más larga de 57 varones con TDA y 51 controles) encontró que entre el 47-69% de los varones con TDA experimentaban un descenso en al menos un dominio cognitivo, sobre todo habilidades espacio-visuales y funciones ejecutivas (425). La evaluación de parámetros cognitivos y anímicos en 20 sujetos tratados con TDA al inicio, 3 y 9 meses de tratamiento y posterior revisión tras 3 meses sin TDA mostró un descenso significativo en el razonamiento espacial, habilidades espaciales y memoria de trabajo durante el tratamiento, más evidente al cabo de 3 meses. La mayoría de los efectos anímicos (ansiedad, irritabilidad, fatiga y depresión) ocurrieron durante el tratamiento. La mayoría de estos efectos se recuperaron tras dejar el tratamiento (426).

#### Enrojecimiento:

Afecta a un 50% aproximadamente de los pacientes con TDA(427). Son resultado de una abrupta retirada de hormonas sexuales de la circulación que disminuye el umbral térmico del área preóptica hipotalámica causando una termorregulación periférica inapropiada. Existen una serie de desencadenantes tales como la temperatura ambiente, estrés, ansiedad y ciertos alimentos.

Se describe como una desagradable sensación de calor o sudoración que puede asociarse a palpitaciones, angustia y trastornos del sueño, por lo que se trata de un motivo importante de cese de la TDA. El enrojecimiento puede ir disminuyendo con el paso del tiempo o permanecer durante todo el tratamiento (428). Cuando se trata de un problema que excede las recomendaciones de carácter general al respecto se pueden usar inhibidores de la recaptación de serotonina, clonidina, gabapentina o terapias hormonales como el acetato de ciproterona o medroxiprogesterona (429). Todas estas terapias presentan una eficacia variable y no están exentas de efectos secundarios por lo que usualmente se pautan durante periodos cortos de tiempo (4 semanas) y se reevalúan(430).

### Función sexual:

La disfunción sexual es casi universal en pacientes con TDA para el cáncer de próstata (431). La retirada de los andrógenos resulta en una disrupción tanto de la libido como de la función eréctil. En este último caso se produce un descenso de la respuesta tisular a vasodilatadores como el óxido nítrico reduciéndose así el flujo sanguíneo y la distensibilidad tisular (432). Es importante discutir con los pacientes el elevado riesgo de disfunción sexual asociado a varias terapias del cáncer de próstata incluyendo la TDA, en estos casos el tratamiento de elección son los inhibidores de la fosfodiesterasa 5.

Sin embargo, debe recordarse que la eficacia de este tratamiento disminuye considerablemente ante la presencia de bajos niveles de andrógenos en sangre. Aquellos pacientes con cardiopatía isquémica deberían ser advertidos de los efectos secundarios de los inhibidores de la fosfodiesterasa 5. Su uso está contraindicado en pacientes que toman nitratos (433), como segunda línea pueden ofertarse inyecciones intracavernosas de análogos de las prostaglandinas, dispositivos de vacío y prótesis de pene.

### **1.5.2.-Síndrome metabólico y TDA**

Aquellos pacientes que están en tratamiento con TDA suponen un excelente modelo para estudiar los efectos secundarios del hipogonadismo (debido a que se alcanzan de forma clara y sostenida niveles de castración). Hay 7 estudios relevantes que investigan la asociación entre TDA y diferentes características centrales del síndrome metabólico (SM), se expondrán divididas en función de la duración del seguimiento y la calidad de la evidencia científica obtenida:

- Al menos 12 meses de seguimiento:

El único estudio prospectivo, longitudinal en esta categoría se publicó en 2014 por Harrington J.M et al. (434). Reclutaron 55 pacientes que comenzaban con radioterapia con intención curativa o braquiterapia. Se compararon aquellos que se trataban con TDA (n=24) frente a los que solo recibían radioterapia (n=31). Se analizaron variables demográficas (edad, estatus socioeconómico, educación, raza) e información clínica diversa (Gleason, estadio tumoral al diagnóstico, medicación, comorbilidad, peso, altura, peso, perímetro abdominal, glucosa, insulina, lípidos). Aquellos pacientes en tratamiento para la HTA y DM tipo II se consideraron positivos para el respectivo componente del SM y aquellos en tratamiento con niacina o fibratos fueron

considerados como con elevados niveles de triglicéridos. Los criterios de inclusión eran: diagnóstico de cáncer de próstata y el tratamiento con radioterapia asociando o no TDA mientras que los criterios de exclusión se centraron en el consumo de corticoides. El seguimiento se llevó a cabo cada 3 meses durante un año.

No se hallaron diferencias entre los dos grupos de inicio para ninguna de las variables de estudio con la excepción del Gleason (el grupo con TDA presentaba un Gleason mayor de forma estadísticamente significativa  $p < 0,001$ ). El 58% de los pacientes ( $n=32$ ) cumplían los criterios de SM al inicio del estudio de acuerdo con los criterios de Alberti et al. (435). En el grupo de TDA se puso de manifiesto un incremento transitorio del perímetro abdominal a los 9 meses ( $p < 0,03$ ) así como cambios en la resistencia a la insulina durante todo el periodo, manifestando una tendencia lineal que no presentaba el otro grupo. Al año, la resistencia a la insulina medida con el índice HOMA se había incrementado un 39% (IC al 95%, 7-78,  $p < 0,05$ ) en el grupo con TDA. Ninguno de los otros parámetros medidos experimentó cambios en este grupo a lo largo del estudio.

Milena Braga-Basaria (436) publicó en 2006 un estudio transversal con 58 varones que incluían 20 pacientes con al menos 12 meses de TDA (grupo TDA), 18 varones con recidiva bioquímica tras tratamiento con intención curativa local (grupo no TDA) y otros 20 varones (grupo control). Todos los pacientes eran eugonadales de entrada, el SM se definió en función de los criterios del Adult Treatment Panel III (437). Los criterios de exclusión fueron: función renal o hepática alterada, corticoides en los últimos 3 meses, enfermedad tiroidea, antecedente de hipogonadismo o quimioterapia.

Los varones en el grupo TDA presentaban niveles mayores de IMC frente a los demás ( $p=0,001$ ), los niveles séricos de testosterona libre ( $p=0,0001$ ) y total ( $p=0,0001$ ) fueron significativamente inferiores en el grupo TDA y presentaban niveles superiores de glucemia frente a los otros dos grupos. Los pacientes de los grupos no TDA y control presentaban niveles equivalentes de testosterona. Más de la mitad de los varones del grupo TDA (55%) cumplían los criterios de SM frente a un 22% y 20% para los grupos no TDA y control respectivamente. Esta prevalencia fue significativamente superior en el grupo TDA frente a no TDA ( $p < 0,01$ ) y grupo control ( $p < 0,03$ ). El análisis de los componentes del SM reveló que el grupo TDA presentaba un incremento de la prevalencia de obesidad abdominal ( $p < 0,007$ ), hiperglucemia ( $p < 0,006$ ) e hipertrigliceridemia ( $p < 0,06$ ) frente a los otros dos grupos.

Shezad-Basaria (438) publicó en 2005 los resultados de un estudio transversal en el que se evaluó a 53 varones (18 con TDA al menos 12 meses por cáncer de próstata, 17 pacientes con tratamiento local de cáncer de próstata y 18 varones del grupo control). Los criterios de exclusión fueron: disfunción renal o hepática, uso de corticoides en los 3 últimos meses, enfermedad tiroidea, historia de hipogonadismo y quimioterapia previa. La edad media fue similar en todos los grupos ( $p=0,03$ ), los niveles séricos de testosterona total ( $p=0,0001$ ) y libre ( $p=0,0001$ ) fueron significativamente inferiores en el grupo TDA comparado con los demás grupos, así como un IMC significativamente superior ( $p=0,005$ ). Tras ajustar por edad e IMC, en el grupo TDA existían niveles significativamente superiores de glucosa (131,0mg/dl del grupo TDA frente a 103,0mg/dl en el grupo no TDA,  $p=0,01$  y 99,0mg/dl en el grupo control  $p=0,01$ ), insulina (45,0uU/ml en TDA frente a 24,0uU/ml de no TDA,  $p=0,05$  y 19,0uU/ml del grupo control con  $p=0,02$ ), leptina (25,0ng/ml en el grupo TDA frente a 12,0ng/ml en el grupo no TDA,  $p=0,01$  y 6,0ng/ml en el grupo control,  $p=0,01$ ) y el índice HOMAIR (17,0 para el grupo TDA frente a 6,0 en el grupo no TDA,  $p=0,01$  y 5,0 del grupo control,  $p=0,01$ ). Se identificó una correlación negativa estadísticamente significativa entre la testosterona total y libre frente a glucosa, insulina, leptina y el índice HOMAIR.

- Menos de 12 meses de seguimiento, estudios retrospectivos:

En 2001 J.C Smith et al. (439) publicó los resultados de un estudio prospectivo longitudinal con 22 pacientes con cáncer de próstata (edad media: 67 años) durante un periodo de 6 meses. El objetivo principal fue identificar y medir en el contexto del riesgo cardiovascular las siguientes variables: rigidez arterial, composición corporal, lípidos, glucosa, insulina, testosterona y estradiol a los meses 1,3 y 6. 21 de los pacientes comenzaron con acetato de ciproterona 300mg c/24h durante 2 semanas y posteriormente tomaban un análogo de LHRH (acetato de leuprorelina: 3,75mg) mensual. El otro paciente fue sometido a orquiectomía bilateral. Todos los pacientes recibieron ese tratamiento durante 3 meses y posteriormente se dividió a los pacientes en los grupos A y B. En el grupo A (14 pacientes), el tratamiento con análogo fue discontinuado. En el grupo B (8 pacientes) los pacientes continuaron con la TDA durante los 6 meses. Los pacientes con cáncer de próstata avanzado fueron excluidos, sin embargo, aquellos con obesidad, HTA, dislipemia o DM tipo II fueron incluidos por lo que existe la posibilidad del desarrollo de un hipogonadismo inducido responsable o con capacidad de influir en la composición corporal, lípidos, glucosa e insulina. A los 3 meses

el peso graso pasó de 20,2kg a 21,9kg ( $p=0,008$ ), la testosterona descendió de 14,5nmol/l a 1,2nmol/l ( $p=0,0001$ ). El estradiol pasó de 105pmol/l a 35 pmol/l ( $p=0,0001$ ). No hubo cambios en el perfil lipídico o de los niveles de glucosa durante el tratamiento.

Sin embargo, los niveles medios de insulina crecieron de 11,8 mU/l (5,6-49,1) a 15,1mU/l (7,3-83,2) al mes ( $p=0,021$ ) y de 19,3mU/l (0-85,0) a los 3 meses ( $p=0,020$ ). Se evidenció una correlación positiva entre los cambios en el tejido graso y los niveles de insulina tras 3 meses ( $r=0,56$ ;  $p=0,013$ ). El análisis por subgrupos reveló diferencias entre el grupo A y B; la concentración de testosterona (13,7nmol/l en grupo A frente a 1,3nmol/l del grupo B,  $p=0,001$ ).

Frances Dockery (440) publicó en 2003 los resultados de un estudio prospectivo longitudinal de 3 meses en el que se medía: rigidez arterial, insulina, colesterol total, HDL, IMC, glucosa, LDL y triglicéridos en los casos (16 varones con edad media de 71,9 años con PSA inicial medio de 89ng/ml) y en los controles (15 pacientes con edad media de 70 años de los cuales 7 no precisaban tratamiento y 8 fueron voluntarios sanos con PSA medio de 2,1ng/ml). Ninguno de los pacientes tomaba medicación vasoactiva ni presentaban DM tipo II, hiperlipemia, HTA o enfermedad cardiaca, pero al inicio del estudio si habían pacientes que cumplían parámetros del SM en los casos. Tras la supresión con testosterona, la insulina creció de 6,89mu/l a 11,34mu/l, el colesterol total se incrementó de 5,32mmol/l a 5,71mmol/l y el HDL se incrementó de 1,05mmol/l a 1,26mmol/l;  $p=0,005$ . No se detectaron diferencias significativas en el IMC, glucosa, LDL o niveles de triglicéridos.

- El papel de la insulina en la progresión a cáncer de próstata resistente a la castración:  
Durante décadas el tratamiento más común del cáncer de próstata metastásico ha sido la TDA, que suprime la producción testicular de testosterona. La mayoría de los pacientes responde inicialmente a la TDA; sin embargo, tras una media de 18-36 meses los pacientes recurren con nuevos incrementos del PSA teniendo niveles de testosterona en rango de castración. El hecho de que más de un 30% de este tipo de pacientes respondan a segundas maniobras hormonales implica o subraya el protagonismo del receptor androgénico (RA) y sus vías de señalización y activación (441).

Al menos tres mecanismos contribuyen a la reactivación del receptor androgénico en la progresión del cáncer de próstata: mutaciones del dominio ligando del RA, amplificación del gen del RA (442) y la sobreexpresión de las enzimas tumorales necesarias para sintetizar de novo sus propios andrógenos (443). Los efectos secundarios sistémicos asociados al síndrome metabólico (adiposidad central, hiperlipemia e hiperinsulinemia) en pacientes tratados con TDA se asocian con un peor pronóstico incluyendo rápida progresión a enfermedad avanzada y un aumento de la mortalidad por cáncer de próstata (444)(445). La hiperinsulinemia en estos pacientes se asocia con otras alteraciones como elevación del péptido-c, correlacionado con cáncer de próstata de alto grado y peor pronóstico independientemente del IMC (446)(447). La leptina y adiponectina, secretados por el tejido adiposo y moduladores conocidos de la sensibilidad a la insulina están también elevados durante la TDA (448)(449).

Hammarsten y B. Hogsted recogieron prospectivamente los niveles basales de insulina al momento del diagnóstico de cáncer de próstata y los compararon con varones fallecidos por cáncer de próstata durante los 5 años siguientes de seguimiento y pacientes que sobrevivieron en ese periodo. Se identificaron a la DM tipo II y la hiperinsulinemia como factores de riesgo estadísticamente significativos de cáncer de próstata letal pero solo la hiperinsulinemia se mantenía al ajustar por estadio y grado tumoral (factores de riesgo independientes de mal pronóstico) sugiriendo un papel central de este marcador en la progresión del cáncer de próstata asociada con disfunción metabólica (447).

La señalización de la insulina se lleva a cabo a través de dos isoformas de receptores: INSR-A y INSR-B (450) que proceden de una familia de receptores tipo tirosina quinasa que incluyen al receptor del factor de crecimiento similar a la insulina tipo I (IGF-1R). Muchos tipos tumorales presentan una sobreexpresión de IGF-1R, INSR y el híbrido INSR/IGF-1Rs que estimulan el incremento de la activación de vías mitogénicas, de síntesis proteica y supervivencia con el incremento de los ligandos insulínicos: IGF-1 o IGF-2.

Mientras que el rol de IGF-1 en el cáncer es conocido desde hace dos décadas, la presencia de INSR directamente en el tejido tumoral prostático ha sido descrito recientemente existiendo una correlación entre su concentración y el grado de Gleason y la resistencia a la castración (446) lo cual añade más argumentos a favor del papel central de la insulina y sus receptores en la progresión del cáncer de próstata avanzado.

El tejido tumoral prostático no se hace resistente a la insulina como si sucede en otros tejidos metabólicamente activos sujetos a la regulación de los niveles de insulina y glucosa por lo que la hiperinsulinemia a este nivel podría ser capaz de elevar de forma regular la señalización de la insulina en el tejido tumoral prostático (450) en paralelo a la elevación de sus ligandos.

Estudios recientes han identificado una desconocida vía de señalización que relaciona en las células prostáticas tisulares al RA y la vía de señalización PI3K, la vía más importante procedente del receptor INSR (451)(452). La vía de señalización PIK3 está involucrada en multitud de procesos tumorales (453) que incluyen el cáncer de próstata. Aproximadamente un 40% y un 70% de los tumores prostáticos primarios y metastásicos respectivamente presentan mutaciones en la vía de señalización de PIK3.

- Efectos secundarios cardiovasculares:

Existen datos discrepantes acerca de los efectos deletéreos cardiovasculares de la TDA debido fundamentalmente a la variabilidad de los estudios al respecto en el diseño, metodología (duración, criterios de exclusión, población de estudio, etc.) y por la dificultad de aislar los factores de confusión envueltos en la fisiopatología de la enfermedad cardiovascular y la mortalidad por cáncer de próstata en estos pacientes. Está generalmente aceptado el hecho de que los efectos secundarios cardiovasculares asociados a la TDA se relacionan con la enfermedad cardiovascular y la DM tipo II asociada al SM.

Sin embargo, también existen estudio que sugieren que la ausencia de testosterona es de por si un factor de riesgo cardiovascular independientemente de las características que acompañan y definen al SM.

En el estudio Rancho Bernardo, Laughlin (454) siguió a 794 varones durante una media de 11,8 años. Los individuos con testosterona total y libre en el cuartil inferior presentaban más posibilidades de morir que aquellos con niveles normales independientemente de la edad y otros factores de riesgo cardiovascular: esta asociación solo se atenuaba con interleukina 6, el factor de necrosis tumoral alfa y la proteína C reactiva.

Hak et al (455) demostró que los niveles bajos tanto de testosterona total como libre se asociaban con un riesgo mayor de aterosclerosis en varones ancianos. Esta asociación era independiente de la edad, IMC, colesterol total, HLD, DM tipo II, tabaco y alcohol.

Por eso, estos datos sugieren que la testosterona pudiera tener un efecto directo sobre la salud cardiovascular en ausencia de otros factores de riesgo más comunes. Estos hallazgos apoyan la idea del potencial terapéutico de la testosterona sin embargo Wu and Eckardstein(456) han revisado también esta relación entre testosterona y enfermedad cardiovascular y concluyen que no existe evidencia suficiente para recomendar el uso de la testosterona o dihidroepiandrosterona con fines terapéuticos ni profilácticos de la enfermedad cardiovascular.

- Riesgo de infarto agudo de miocardio o ICTUS:

Nancy L. Keating (457) objetivó en un estudio observacional con 37443 pacientes con cáncer de próstata local o localmente avanzado seguidos durante un año que aquellos que precisaban TDA en forma de bloqueo único, bloqueo completo u orquiectomía presentaban un riesgo aumentado de infarto agudo de miocardio (RR=1,28/RR=1,27/RR=2,11 respectivamente) y que este efecto era diferente según el tratamiento fuese continuo o intermitente.

Laurent. A et al (457) llevo a cabo un estudio de casos control a partir de una cohorte de 22310 individuos mayores de 40 años con nuevo diagnóstico de cáncer de próstata seguidos durante un año, en el transcurso de ese tiempo se clasificó como caso a todo paciente que presentara infarto agudo de miocardio o ICTUS reclutando 10 controles por cada caso equiparable en el resto de parámetros registrados. En comparación con los pacientes que no se trataron con TDA (no TDA) el grupo TDA (agonistas de LHRH RR:1,18; IC 95%, 1.00-1.39, antiandrógenos orales RR: 1.47; IC 95%, 1.08-2.01 y orquiectomía bilateral RR: 1.77; IC 95%, 1.25-2.39) presentaba un riesgo mayor de infarto agudo de miocardio e ICTUS.

- Mortalidad cardiovascular:

Roach M et al (458) publicó en 2008 los resultados del ensayo clínico fase III ROTG 8610 con 456 pacientes diagnosticados de cáncer de próstata (T2-T4) con el propósito de valorar el beneficio de la TDA neoadyuvante (4 meses). Se distribuyó aleatoriamente a los pacientes entre: grupo TDA+ Rt (radioterapia) 1º y grupo Rt1º con una media de seguimiento de 11,9 y 13,2 meses respectivamente. A los 10 años se produjo un porcentaje de eventos cardiacos fatales del 12,5% (IC al 95%, 8.0-17.0) y del 9.1% (IC del 95%, 5.3-13.0) respectivamente (p=0,32) sin haberse podido establecer por tanto una correlación estadísticamente significativa entre TDA y mortalidad cardiovascular.

Jasen A. Efstathion (459) publicó en 2009 los resultados del ensayo clínico fase III RTOG 85-31 con 945 pacientes diagnosticados de cáncer de próstata localmente avanzado con el objeto de comparar la mortalidad cardiovascular entre dos grupos randomizados: TDA+ Rt1º y Rt1º incluyendo una serie de covariables: edad, enfermedad cardiovascular prevalente, HTA, DM tipo II, IMC, Gleason y estadio.

Tras los estudios de regresión múltiple, en el brazo TDA+Rt1º no se encontró una asociación estadísticamente significativa con la mortalidad cardiovascular (HR: 0.73;IC al 95%, 0.47-1.15;P=0,16). Habida cuenta del peso de los factores de riesgo cardiovascular tradicionales tales como enfermedad cardiovascular prevalente y DM tipo II en la mortalidad cardiovascular se analizó un subgrupo de alto riesgo con varones mayores de 70 años con estas condiciones y no se evidenció un incremento de la mortalidad cardiovascular vinculable al tratamiento con TDA.

### **1.5.3.-Osteoporosis masculina y TDA**

La DMO es considerada el gold estándar para el diagnóstico y seguimiento de la osteoporosis y el riesgo de fractura en mujeres. El papel de la DMO en el varón está menos claro. La DMO se suele medir mediante absorciometría dual de rayos X (DEXA) pero también puede usarse la tomografía computarizada cuantitativa (QCT) de la columna lumbar, sobre todo con propósitos de investigación.

La DMO en la cadera y columna lumbar tras ajustar por la edad, es un buen predictor del riesgo de fractura. Aunque los criterios de DMO para el diagnóstico de la osteoporosis masculina es aún controvertido se acepta la definición basada en los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS), según la cual la osteoporosis existe cuando la DMO es >2.5 DS por debajo del pico de referencia.

Varios estudios longitudinales sugieren que existe una pérdida del 5-10% por década de DMO lumbar en varones ancianos con una aceleración del proceso a partir de los 75 años. La pérdida de DMO en el cuello femoral de varones ancianos es de aproximadamente un 0.7% anual. Varios factores participan en el incremento de la pérdida de DMO asociado a la edad tales como: inmovilidad, malnutrición, reducción de calcio en la dieta, déficit de vitamina D, incremento de citoquinas, reducción de los factores de crecimiento y actividad osteoblástica y el descenso progresivo de la producción gonadal de andrógenos (460).

Se ha podido constatar una aceleración de pérdida ósea en mujeres sometidas a ooforectomía bilateral en aquellos varones orquiectomizados(461) o en los que reciben TDA (462)(463). En los varones sometidos a castración quirúrgica se produce una pérdida anual de DMO lumbar del 4% (461)

- Variaciones en la DMO entre pacientes eugonadales, sometidos a deprivación androgénica y controles:

Se ha detectado en diversos estudios pérdidas significativas de DMO en pacientes con TDA. Varios estudios transversales reciente han puesto de manifiesto una diferencia de entre un 6.5-17.3% de la DMO entre pacientes con cáncer de próstata tratados con TDA frente a los que no fueron tratados con TDA (464)(465)(466)(467)(468).

En 2001 Stoch SA (466) comparó la DMO de 60 pacientes con cáncer de próstata (19 recibieron análogos de GnRH y 41 eugonadales) frente a la de 197 controles sanos de similar edad. Se detectó un descenso significativo de la DMO lumbar ((0.69 +/- 0.17 vs. 0.83 +/- 0.20 g/cm<sup>2</sup>); P < 0.01), de cadera(0.94 +/- 0.14 vs. 1.05 +/- 0.16 g/cm<sup>2</sup>); P < 0.05)y antebrazo (0.67 +/- 0.11 vs. 0.78 +/- 0.07 g/cm<sup>2</sup>); P < 0.01) de pacientes tratados con TD frente a eugonadales.

Wei JT et al (464) llevó a cabo en 1992 un estudio transversal con 32 varones que acababan de comenzar la TDA o que llevaban recibéndola durante más de un año. 5 de los 8 (63%) pacientes sin TDA y 21 de los 24 (88%) que la recibieron durante al menos un año cumplieron los criterios de osteopenia u osteoporosis en al menos una de las regiones esqueléticas estudiadas. Al estudiarse cada región en particular se evidenció un descenso significativo de la DMO lumbar en pacientes con TDA durante un año frente a los que iban a empezar el tratamiento (p<0,05). Los análisis de regresión lineal estimaron un plazo de 48 meses para desarrollar pérdidas de DMO lumbar diagnósticas de osteopenia u osteoporosis tras el inicio de la TDA.

- Impacto de la duración de la TDA:

La duración de la TDA afecta de forma significativa los valores de DMO. Kirali et al. por ejemplo, estimaron los efectos de la TDA sobre la DMO en un estudio transversal. Se estimaron mediante DEXA los valores de DMO espinales y de cadera en 36 pacientes con cáncer de próstata. La cohorte del año 0 (n=8) estaba compuesta por pacientes que aún no habían

comenzado con la TDA, estos se compararon con pacientes tratados con TDA y evaluados a los 2 años (n=6), 4 años (n=7), 6 años (n=5), 8 años (n=5) y 10 años (n=5) de tratamiento. Todos los valores de DMO se compararon con controles sanos de características por lo demás equiparables.

La DMO de la cadera fue significativamente inferior en pacientes tratados con TDA (valor medio de DMO: 0.935g/cm<sup>2</sup>). Los pacientes del año 0 presentaban valores similares de DMO lumbar y de cadera comparado con los controles sanos. A medida que aumentan los años se aprecia una tendencia de descenso de la DMO de la cadera (r=0.46, p=0,00008). Esta relación se hacía más evidente a ser comparada progresivamente con los valores de los controles sanos (r=0.55, P=0.0000005). La pérdida ósea se hacía evidente al cabo de 10 años. La pérdida de DMO era más dramática en pacientes sometidos a castración quirúrgica que aquellos que recibían TDA (p=0.08). Los pacientes con bloqueo androgénico intermitente tenían pérdidas de DMO similares a los pacientes con bloqueo continuo a 2 y 4 años pero no a partir de los 6 años (p=0.07) pese a presentarse en ambos casos niveles de testosterona en rango de castración (469), a pesar de ello no está claro el beneficio del bloqueo intermitente en términos de DMO.

- Consenso y variabilidad en la medición de la DMO

Varios estudios longitudinales en pacientes con cáncer de próstata tratados con TDA durante 12 meses recogieron descensos de la DMO lumbar de entre un 5.7-8.5% mediante el análisis QCT (quantitative computed tomography) (470)(471)(472) y de entre un 1.8-2.3% en el cuello femoral empleando el DEXA (473)(474)(475), en estos mismos estudios la pérdida de DMO espinal fue menor empleando el DEXA (2.0% a 4.6%) con una mayor pérdida en varones jóvenes debido a la ausencia de factores de confusión. Las diferencias entre ambos métodos pueden atribuirse a una mayor sensibilidad del QCT para determinar hueso esponjoso. La pérdida de DMO con la TDA durante 2 años se ha demostrado también en el antebrazo distal mediante DXA (9.4%) (476).

Aquellos varones con cáncer de próstata tratados con TDA son más ancianos y presentan mayor riesgo de manifestar problemas metabólicos de tipo óseo. En un reciente estudio retrospectivo con 125 varones con una media de edad de 77 años tratados con TDA, Bruder y Welch publicaron una prevalencia de osteoporosis y osteopenia lumbar del 27% y 51% respectivamente, de hecho hasta el 44% de estos sujetos presentaban déficit de vitamina D e hiperparatiroidismo secundario (477)

- Marcadores de remodelado óseo en pacientes con cáncer de próstata tratados con TDA:

En varones con hipogonadismo, los hallazgos histomorfométricos óseo clásicos incluyen la activación osteoclástica asociada con perforación trabecular y la resorción ósea endocortical(478). Los marcadores de remodelado óseo se elevan de forma clara en pacientes sometidos a orquiectomía o tratados con TDA por cáncer de próstata. En estudios recientes se han detectado elevaciones en torno al 150% y 200% en la excreción urinaria de hidroxiprolina y en las concentraciones de telopéptido respectivamente (479)(480)frente a sus valores basales.

- Riesgo de fractura en pacientes con cáncer de próstata tratados con TDA

Tras el inicio de la TDA se produce un incremento de la resorción ósea, lo cual conlleva una reducción de la masa ósea, así como cambios estructurales tales como la perforación trabecular (481) conllevando un incremento del riesgo de osteoporosis (482).

Shahinian et al (483) estudiaron a 50.613 varones incluidos en la base de datos de “Surveillance, Epidemiology and End Results program and Medicare” tras recibir el diagnóstico de cáncer de próstata en el periodo 1992-1997. La comparación se realizó entre varones con cáncer de próstata que habían recibido al menos una dosis de GnRH o que fueron sometidos a orquiectomía bilateral en los primeros 6 meses tras recibir el diagnóstico y aquellos que no recibieron ningún tipo de tratamiento desde el diagnóstico.

De todos aquellos varones que sobrevivieron al menos 5 años tras el diagnóstico, un 19.4% de aquellos que recibieron TDA presentaron una fractura frente a un 12.6% del grupo sin tratamiento ( $p < 0.001$ ). Tras ajustar por una serie de características del paciente y del tumor se puso de manifiesto una relación estadísticamente significativa entre el número de dosis de GnRH recibidas durante 12 meses tras el diagnóstico y el consecuente riesgo de fractura.

Shao et al.(484) confirmó estos resultados en otro estudio en el que se observó que si se producía una fractura, esta se asociaba con un incremento del 40% del riesgo relativo de mortalidad comparado con no fractura ( mortalidad del 6.27% a los 6 meses y del 9.87% a los 12 meses de la fractura).

## 2.- JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS

El cáncer de próstata es una de las neoplasias más frecuente en varones con una incidencia que va en aumento(485). La prostatectomía radical y/o la radioterapia constituyen el tratamiento de elección en tumores localizados. Sin embargo en hombres con tumor avanzado o agresivo el tratamiento de elección es el bloqueo androgénico sobre todo con agonistas de la hormona LH cuya indicación se ha ampliado rápidamente en los últimos 15 años a tumores menos agresivos y como tratamiento neoadyuvante de otras terapias para el cáncer de próstata (486).

El profundo hipogonadismo resultante es responsable de múltiples efectos adversos como el incremento del índice de masa corporal, descenso de masa muscular (423), osteoporosis (464, 465), riesgo de fractura (483), diabetes mellitus tipo II (454) y síndrome metabólico (434). En estos enfermos se ha descubierto un incremento del riesgo cardiovascular en aquellos con infarto agudo de miocardio o síndrome metabólico previo un aumento de la mortalidad por causa cardiovascular (458, 459). La pérdida de densidad mineral ósea y el aumento del riesgo de fractura deteriora drásticamente la calidad de vida de estos pacientes con incremento global de la mortalidad tras la primera fractura ósea (483, 484). En la población general tanto el síndrome metabólico como la osteoporosis se relaciona con la aparición de factores de riesgo litógeno y un aumento de la prevalencia de litiasis (140,176,177,239).

En nuestro centro y de forma preliminar al desarrollo de esta tesis doctoral realizamos un estudio retrospectivo de casos-controles con pacientes diagnosticados de cáncer de próstata (n=85) entre 2005 y 2010. El grupo de los casos estaba constituido por 41 sujetos con TDA y el grupo de los controles estaba formado por 40 sujetos en tratamiento con radioterapia primaria, braquiterapia o prostatectomía radical. Los criterios de exclusión fueron: litiasis urinaria previa, osteoporosis previa, diabetes mellitus previa, factores acidificantes de la orina (Acidosis tubular renal, hiperparatiroidismo primario, tratamiento alcalino), tratamiento previo con: calcio, vitamina D, corticoides, bifosfonatos, hidroclorotiazidas y ausencia de TAC como método de seguimiento de estos enfermos.

Se realizó un estudio estadístico descriptivo, comparación de medias mediante la prueba t-student y estudio de la proporción de litiasis entre grupos mediante aplicación del test chi-cuadrado y posterior cálculo del riesgo (OR) de aparición de litiasis con IC al 95%. Por último, se realizó un análisis multivariante para el estudio de la relación de las causas de litiasis renal analizadas en el estudio.

La edad media de los pacientes del grupo 1 fue  $73.6 \pm 9.2$  años frente a  $67.1 \pm 7.7$  en el grupo 2 ( $p=0.001$ ). La media de seguimiento por grupo fue similar (8.1 años). Los niveles medios de testosterona en el grupo 1 estuvieron por debajo de 50 ng/dl en todos los pacientes durante el seguimiento. En el grupo 1 se produjo nueva aparición de litiasis en 12 pacientes (29.3%) frente a 2 pacientes en el grupo 2 (4.5%);  $p=0.0001$ , con una OR de 8.69; IC al 95% (1.81-41.76). La media de aparición de litiasis tras la TDA fue de 4.4 años y la mediana 3.5 años. En 6 pacientes en los que apareció litiasis se realizó TDA intermitente y en los otros 6 pacientes continuada dentro del grupo 1, sin que existieran diferencias estadísticamente significativas. El tamaño medio de las litiasis fue de  $4.67 \pm 1.33$  mm, siendo la localización en 7 casos en cáliz inferior, 3 casos en cáliz medio y 2 casos en cáliz superior en el grupo 1, mientras que en los 2 pacientes en los que apareció litiasis del grupo 2, la localización fue cáliz inferior. En el estudio multivariante incluyendo la edad, la TDA y la intermitencia, únicamente la TDA se relacionó de forma independiente con la aparición de litiasis (487).

En la actualidad se están llevando a cabo múltiples investigaciones que estudian los efectos adversos de la falta de testosterona fuera de la esfera sexual en el varón en diferentes grupos de población, fundamentalmente pacientes con cáncer de próstata sometidos a deprivación androgénica (418,419) y el hipogonadismo hipergonadotrópico del varón anciano (290) sin embargo, en esta población con una importante comorbilidad asociada, el hipogonadismo es progresivo, lento y asociado a otros déficits hormonales por lo que es difícil distinguir el efecto neto de la falta de testosterona (306, 307).

En nuestra opinión el bloqueo androgénico supone un excelente modelo para investigar el nexo que relaciona síndrome metabólico, déficit de testosterona y litiasis úrica, así como el papel de la testosterona en el metabolismo óseo y su asociación con la litiasis cálcica. Lamentablemente en los estudios publicados que evalúan el desarrollo de síndrome metabólico y/o pérdida de DMO (434, 436, 438, 464, 465, 466) no se ha recogido la orina de estos enfermos, cuyo valor de pH y otros factores de riesgo litógeno (calciuria, cociente calcio/creatinina) podrían monitorizar el hipotético mecanismo causal que se cree conduce a la litiasis renal.

La monitorización de la orina de 24 horas en pacientes sometidos a bloqueo hormonal junto a los parámetros del síndrome metabólico y marcadores de resorción ósea contribuiría a dilucidar en una población más joven y con niveles hormonales claramente deprimidos el papel de la testosterona en la patogenia de litiasis urinaria, así como esclarecer los efectos secundarios a la TDA.

Por todo ello, se lleva a cabo esta investigación asumiendo la hipótesis de que la TDA en pacientes con cáncer de próstata produce en el plazo de un año el desarrollo de factores de riesgo litógeno derivados de la desmineralización ósea y/o síndrome metabólico.

### **3.-OBJETIVOS:**

#### **1. Principal:**

a) Detección de factores de riesgo litógeno medidos en sangre, orina fresca, de 24 horas y pruebas de imagen (TAC y DEXA) en pacientes con cáncer de próstata subsidiarios de recibir TDA de forma continua al cabo de un año.

b) Detección de nefrolitiasis medida con TAC al cabo de un año de TDA en esta misma población de estudio.

#### **2. Secundarios:**

a) Detección y cuantificación de parámetros diagnósticos de síndrome metabólico al cabo de un año de TDA.

b) Análisis de las características distintivas del subgrupo litiasis (si lo hubiese) al cabo de un año en comparación con el resto de los sujetos de estudio.

c) Registro y descripción de características basales de la población de estudio (edad, clasificación de cáncer de próstata).

#### **4.- COMITÉ DE ÉTICA Y CONSENTIMIENTO INFORMADO**

A los pacientes incluidos en el estudio de esta tesis doctoral se les entregó antes la información sobre los aspectos más relevantes del mismo, incluyendo objetivos, propósito, riesgos y beneficios de su realización. La información aportada fue también comunicada verbalmente, quedando recogida su aceptación en el consentimiento informado diseñado a tal efecto.

La realización del trabajo de investigación no conlleva riesgo físico, salvo el derivado de las exploraciones complementarias incluidas en el estudio: extracciones sanguíneas, DEXA y TAC. Se les explicó a los pacientes las características de estas pruebas, su empleo habitual en la práctica clínica diaria, así como sus posibles complicaciones y beneficios.

Los resultados obtenidos de esta investigación pueden contribuir a esclarecer el papel de la testosterona en la patogenia de la litiasis urinaria, así como incrementar nuestro conocimiento sobre los efectos adversos de la TDA cuyo uso está cada vez más extendido en pacientes con cáncer de próstata.

## **5.- METODOLOGÍA**

### **5.1.-Diseño del estudio**

Estudio longitudinal, prospectivo y experimental del tipo antes-después (intervención: TDA) con el objeto de identificar y cuantificar las variaciones de una serie de factores de riesgo litógeno en la población de estudio entre su determinación previa a la intervención (basal) y al cabo de un año.

### **5.2.-Ámbito del estudio**

Esta tesis doctoral se ha realizado con pacientes diagnosticados de cáncer de próstata del Servicio de Urología del Hospital Universitario Clínico San Cecilio durante el periodo octubre 2015-octubre 2016.

### **5.3.-Sujetos de estudio**

Varones con diagnóstico anatomopatológico de adenocarcinoma de próstata con indicación de TDA de forma continua durante un año en la provincia de Granada:

- Indicación de TDA:
  - a) Tratamiento primario de cáncer de próstata de riesgo intermedio y alto (Clasificación de Amico) como neoadyuvante de la radioterapia primaria.
  - b) Detección de metástasis viscerales o adenopatías en rango patológico (criterios RECIST).
  - c) Persistencia de enfermedad o recidiva bioquímica tras fracaso de tratamientos con intención curativa y de rescate.
  - d) Tratamiento primario de cáncer de próstata de riesgo intermedio y alto no susceptibles de otros tratamientos con intención curativa.
- Criterios de inclusión: Pacientes diagnosticados de cáncer de próstata con indicación de TDA de forma continua durante un año.
- Criterios de exclusión: Urolitiasis previa, osteoporosis previa, diabetes mellitus previa, metástasis ósea, factores acidificantes de la orina (acidosis tubular renal,

hiperparatiroidismo primario), tratamiento con calcio, vitamina D, hidroclorotiazidas, bifosfonatos y quimioterapia.

#### 5.4.- Variables de estudio

Conforme a los objetivos previamente establecidos pueden clasificarse las variables del estudio en principales (nefrolitiasis, factores de riesgo litógeno) y secundarias (Síndrome metabólico, cáncer de próstata, otras)

- Variables principales:
  - Nefrolitiasis: Definido como parámetro cualitativo dicotómico (si/no)
  - Factores de riesgo litógeno:
    - Densidad mineral ósea: Definido como parámetro cuantitativo continuo. Se compararon las mediciones basal y anual mediante absorciometría dual de rayos X (DEXA) valor T-score (comparación de la densidad promedio mineral del hueso del paciente con el de una persona sana de 30 años del mismo sexo y etnia) y Z-score (número de desviaciones estándar de un paciente con densidad promedio mineral ósea diferente del promedio para su edad, sexo y etnia) en cuello femoral, cadera total y columna lumbar.
    - En plasma: Definidas como parámetros cuantitativos continuos y recogidas en ayunas de forma basal y al año; fosfatasa alcalina (U/L), osteocalcina (ng/ml), Beta-crosslap (ng/ml), estradiol (pg/ml), testosterona ng/ml, progesterona (ng/ml) (tubosK2-EDTA, sistema Vacutanier BD, BD Diagnostic, Franklin Lakes, NJ, USA).
    - En orina fresca: Definidas como parámetros cuantitativos continuos; pH, calcio/creatinina (mg/mg), citrato (mg/dl), oxalato (mg/dl).
    - En orina de 24 horas: Definidas como parámetros cuantitativos continuos: calcio (mg 24h), calcio/creatinina (mg/mg), índice de excreción de calcio (mg/dl filtrado glomerular), fracción de excreción de calcio (%), citrato (mg 24h), oxalato (mg 24h).

- Variables secundarias:
  - Síndrome metabólico: Parámetro cualitativo dicotómico (si/no) establecido según la definición de la ATP-III (98).
    - Exploración física: tensión arterial (mm/Hg), perímetro abdominal (cm)
    - En plasma: glucosa (mg/dl), insulina (mU/L), insulina/glucosa, índice HOMA, HDL-C (mg/dl), LDL-C (mg/dl), triglicéridos (mg/dl).
  - Clasificación del cáncer de próstata: Parámetro cualitativo (localizado: riesgo bajo, intermedio y alto. Localmente avanzado y avanzado) según la clasificación de Amico.

## 5.5.- Plan de trabajo

**5.5.1- Fase 0:** En esta primera etapa del estudio de investigación se realizó un estudio preliminar de casos controles estudiando la vinculación entre TDA y aparición de nefrolitiasis a 5 años en nuestro centro cuyos resultados fueron publicados el 7 de Junio de 2017 por la revista Medicina clínica (487) cuyo manuscrito original e indicios de calidad de la revista se adjuntan al final de este texto. Posteriormente se diseñó y aprobó el plan de investigación (tipo de estudio, hipótesis, objetivos), definidos los criterios de exclusión/inclusión y elaborado el consentimiento informado, así como seleccionadas las variables del estudio que se van a medir y su periodicidad (basal y al año). Se establecen los espacios físicos de la consulta externa de Urología donde se va a seleccionar, informar y seguir a los pacientes que deciden participar en el estudio.

**5.5.2- Fase 1:** La primera evaluación de los pacientes tras firmar el consentimiento informado se lleva a cabo en el momento en que los pacientes con cáncer de próstata presentan indicación de comenzar la TDA, para todos ellos se solicitan estudio de tomografía axial computarizada sin contraste (nefrolitiasis si/no) y densitometría ósea (T y Z score de cuello femoral, cadera y lumbar). Se realiza en la consulta medición del perímetro abdominal (cm) y de la tensión arterial (mmHg) y se les pide una analítica en sangre extraída en ayunas por la mañana para medir las variables: glucosa (mg/dl), HDL (mg/dl), triglicéridos (mg/dl), Insulina/Glucosa, Índice HOMA, urea (mg/dl), creatinina (mg/dl), ácido úrico (mg/dl), proteínas (g/dl), FA (U/L), sodio (mEq/L), potasio (mEq/L), cloro (mEq/L), calcio (mg/dl), fósforo (mg/dl), PTH (pg/ml), osteocalcina

(ng/ml), Beta-crosslap (ng/ml), vitamina D (ng/ml), LDL (mg/dl), insulina (mU/L), péptido C (ng/ml), estradiol (pg/ml), progesterona (ng/ml), testosterona (ng/dl), PSA (ng/ml).

Del mismo modo se solicitan sistemáticos de orina: pH, calcio/creatinina (mg/mg), ácido úrico (mg/dl), citrato (mg/dl) y oxalato (mg/dl) y orina de 24 horas: urea (mg/dl), sodio (mEq/l), Índice de excreción de sodio (mg/dl), excreción fraccional de sodio (mEq/l), potasio (mEq/l), Índice de excreción de potasio, excreción fraccional de potasio (mEq/l), cloro (mEq/l), calcio (mg/24h), calcio/creatinina (mg/dlFG), Índice excreción calcio, fracción de excreción calcio (mg/dl), fósforo (mg/dl), magnesio (mg/24h), magnesio/creatinina (mg/dlFG), Índice excreción magnesio (mg/dl), albúmina (mg/L), citrato (mg/L) y oxalato (mg/L). Se entrega a todos los pacientes dos botes de orina; uno para el sistemático y otro para la orina de 24 horas.

Los pacientes son instruidos en consulta para que el día que comiencen a acumular la orina en el bote lo hagan tras 24 horas desde la segunda orina en ayunas del 1º día hasta la primera micción del día siguiente en ayunas y posteriormente rellenar el segundo bote previo a su entrega en el Departamento de extracciones del hospital, en ese mismo acto de entrega con el paciente en ayunas se les extrae la sangre. En el plazo máximo de 2 semanas se dispone de todos los resultados de las pruebas y análisis solicitados y se introducen en la base de datos para asegurarnos de que no se han producido errores de medición o en la entrega o recogida. En los casos que ha sido preciso se han repetido las determinaciones confirmándose en estos casos niveles normales de testosterona. No fue necesario repetir el TAC o la densitometría ósea a ningún paciente en esta fase.

**5.5.3- Fase 2:** Este segundo periodo de evaluación se ha llevado a cabo a los 3 meses de comenzar la TDA y no se han incluido el TAC ni la densitometría ósea, el resto de las variables si fueron recogidas siguiendo la misma sistemática que en la fase 1. Al momento de realizar esta evaluación se habían recopilado un total de 15 pacientes. Los resultados de estos hallazgos en la fase 2 fueron publicados en Julio de 2018 en la revista Archivos españoles de Urología (489) cuyo manuscrito original e indicios de calidad de la revista se adjuntan al final del texto.

**5.5.4- Fase 3:** En este tercer periodo de evaluación se vuelven a recoger todas las variables medidas en sangre, orinas fresca y orina de 24 horas más el TAC y densitometría ósea al año de haberse reclutado a cada paciente y realizado la evaluación de la Fase 1. Estos datos se corresponden con un año de TDA con testosterona en rango de castración, se les informa a los pacientes que han concluido el estudio y continúan con sus revisiones habituales en la consulta externa de Urología. A la hora de incorporar la información en la base de datos no se detectaron deficiencias en el proceso de entrega- recogida y análisis de datos y tampoco fue necesario

repetir las pruebas de imagen a ningún paciente. Los resultados de los análisis de las variables medidas en la fase 1 y fase 3 objeto de esta tesis doctoral fueron publicados el pasado 13 de junio de 2018 en la revista International Urology and Nephrology(488) cuyo manuscrito original e indicios de calidad de la revista se adjuntan al final del texto.

#### 5.6.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El estudio estadístico de este proyecto de investigación se ha llevado a cabo utilizando el programa estadístico SPSS 18 (SPSS INC, Chicago). Se ha considerado un valor de  $p < 0,05$  como estadísticamente significativo.

- **Análisis descriptivo:** Se ha realizado un análisis descriptivo de todas las variables incluidas en el estudio. Para las variables cualitativas se ha utilizado frecuencias absolutas y relativas. Para las variables cuantitativas se han utilizado medidas de tendencia central (media) acompañadas de medidas de dispersión (desviación estándar) puesto que las variables seguían una distribución normal (test de Kolmogorov-Smirnov).
- **Análisis bivariante:** Posterior al análisis descriptivo se ha realizado un análisis bivariante, comparando las variables recogidas de forma basal y al año de seguimiento. Para este análisis se ha utilizado la prueba t de student de muestras apareadas para las variables cuantitativas y la prueba de McNemar para variables cualitativas. Adicionalmente se ha realizado un análisis comparativo entre pacientes con litiasis y sin litiasis, para este análisis de subgrupos se ha utilizado la prueba de chi-cuadrado (o la prueba exacta de Fisher cuando fue apropiado) para comparar las variables cualitativas y el test U Mann Whitney para comparar variables cuantitativas.

## 6.- RESULTADOS

### 6.1- Características basales:

La media de edad del total de 38 pacientes analizados fue de 72,26 años. La mayoría de los pacientes, un 73,7% (n=28) presentaban enfermedad organoconfinada y por lo tanto eran subsidiarios de radioterapia primaria más TDA adyuvante durante 2 o 3 años (riesgo intermedio de Amico). Un 18,4% (n=7) presentaban adenopatías loco-regionales y el único tratamiento del que eran subsidiarios fue la TDA, así como en el 7,9% restante (n=3) que presentaban metástasis sólidas al diagnóstico y no habían recibido previamente tratamiento quimioterápico. Tabla I

Variables	Frecuencia	Porcentaje
<b>Tipo de cáncer de próstata</b>		
Organoconfinado	28	73,7
Adenopatías loco-regionales	7	18,4
Metástasis sólidas	3	7,9
	<b>X (DE; rango)</b>	
<b>Edad</b>	72,26(6,75; 54-84)	

Tabla I

### 6.2- Análisis descriptivo y bivariante

#### 6.2.1- Densitometría y parámetros clínicos

Al realizar el análisis comparativo de las variables de estudio de forma basal y al año de la TDA aplicando la T de Student se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en todos los parámetros que miden la DMO tanto en columna lumbar como en la cadera y el cuello femoral. Al final del año se evidencian pues descensos estadísticamente entre el valor de T y Z score en estas tres localizaciones óseas representadas en la tabla II.

En la columna lumbar se evidencia un descenso estadísticamente significativo del T score de -0,8053 a -1,0474; p=0,0001 y del Z-score pasando de 0,1176 a -0,1474; p= 0,001. En la cadera se evidencia un descenso estadísticamente significativo del T-score, pasando al cabo de un año de -0,4000 a -0,5053; p=0,001 y del Z-score variando de 0,3211 a 0,1342; p=0,0001. En el cuello femoral se detecta un descenso del T-score estadísticamente significativo del T-score:

de -1,0842 a -1,3895;  $p=0,001$  así como del Z-score: de 0,1211 a -2,079;  $p=0,0001$ . Sin embargo, no se evidencian diferencias estadísticamente significativas en la tensión arterial ni en el perímetro abdominal al cabo del año.

Variable (unidades)	Antes: X(DE; rango)	Después: X(DE; rango)	p
Cuello T-score	-1,0842(1,29354;-2,90-1,80)	-1,3895(1,14297;-3,00-0,70)	0,0001
Cuello Z-score	0,1211(1,21570;-1,5-2,50)	-2,079(1,117067;-1,50-2,50)	0,0001
Cadera T-score	-0,4000(1,14514;-1,9-1,6)	-0,5053(1,14254;-2,10-1,40)	0,0001
Cadera Z-score	0,3211(1,04653;-1-2,3)	0,1342(1,02199;-1,40-2,00)	0,0001
Columna T-score	-0,8053(1,26575;-3,80-1,2)	-1,0474(1,23129;-3,70-1,20)	0,0001
Columna Z-score	0,1176(1,26283;-2,7-2,4)	-0,1474(1,18087;-2,70-2,20)	0,0001
TAs (mmHg)	150,45(24,616;113-240)	147,684(19,2551;115-197)	0,0001
TAd (mmHg)	85,21(12,585;63-100)	83,4737(9,2961;63-100)	0,852
PA (cm)	100,67(12,626;75-124)	101,9444(11,6568;78-132)	0,0001

**Tabla II**

### 6.2.2- Parámetros en sangre

Al realizar el análisis comparativo de las variables de estudio de forma basal y al año de la TDA aplicando la T de Student se han encontrado diferencias estadísticamente significativas en variables recogidas en sangre relacionadas con el síndrome metabólico, marcadores de metabolismo óseo, así como iones y hormonas implicadas en el metabolismo fosfocálcico.

Se han constatado un aumento estadísticamente significativo de los niveles de triglicéridos en sangre al cabo de un año, pasando de 112,78 a 126,8684;  $p=0,0001$  sin embargo no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los niveles séricos de HDL. Se detecta un aumento del índice HOMA con una  $p=0,052$  que sin embargo no se acompaña de diferencias estadísticamente significativas en los niveles de glucosa, insulina ni el índice insulina/glucosa. Existe un incremento estadísticamente significativo de los niveles de calcio: de 9,6297 a 9,9053;  $p=0,001$  y de fósforo: de 3,0000 a 3,7474;  $p=0,0001$  así como un descenso estadísticamente significativo de la PTH: de 64,8270 a 53,4237;  $p=0,0001$  y los niveles de estradiol: de 39,9143 a 23,1053;  $p=0,008$ .

Dentro de los marcadores de metabolismo óseo se ha detectado un incremento estadísticamente significativo de los niveles séricos de fosfatasa alcalina: de 86,1351 a 99,8158;

p=0,0001, osteocalcina: de 16,2842 a 25,5684; p=0,0001, N-terminal: de 48,3026 a 69,5929; p=0,025 y especialmente de C-terminal: de 0,4198 a 0,7432; p=0,0001.

Se pone en evidencia un descenso estadísticamente significativo de los niveles séricos de PSA: de 12,1174 a 0,9001; p=0,0001 así como un descenso estadísticamente significativo de los niveles de testosterona: de 348,4474 a 41,9342; p=0,0001 habiéndose mantenido la testosterona en rango de castración en todos los casos tras el inicio de la TDA. Tabla III y IV

Variable (unidades)	Antes: X(DE; rango)	Después: X(DE; rango)	p
Glucosa (mg/dl)	97,8421(14,891;67-131)	101,8947(18,7887;77-178,00)	0,063
HDL (mg/dl)	52,84(11,19;35-87)	55,1316(10,9252;36-88)	0,0001
Triglicéridos (mg/dl)	112,78(45,65;48-209,00)	126,8684(49,2901;66-288)	0,0001
Insulina/Glucosa	12,90(12,07;3,30-64,00)	14,6289(7,8427;1,6-44,60)	0,220
Índice HOMA	2,0178(1,50084;0,41-8,22)	2,8713(2,5223;0,20-13,08)	0,052
Urea (mg/dl)	46,2432(21,79629;15,00-127,00)	49,3684(20,9754;22,0-124,00)	0,0001
Creatinina (mg/dl)	1,0921(0,49406;0,71-3,23)	1,0826(0,61509;0,67-3,87)	0,0001
Ácido úrico (mg/dl)	6,3079(1,28975;4,2-9,5)	5,3000(1,26960;2,90-8,50)	0,0001
Proteínas (g/dl)	7,0028(0,56035;6-8,3)	6,9816(0,45432;6,30-8,20)	0,0001
FA (U/L)	86,1351(24,21910;49-131)	99,8158(22,8495;55-173,00)	0,0001
Sodio (mEq/L)	139,8684(2,7130;132-129)	140,1842(2,8365;129-145)	0,408
Potasio (mEq/L)	4,5579(0,44090;3,8-5,9)	4,4811(0,47190;3,90-6,00)	0,189
Cloro (mEq/L)	103,2083(2,48819;98-107)	102,9211(3,08774;89-107)	0,869
Calcio (mg/dl)	9,6297(0,36883;8,80-10,30)	9,9053(0,39929;9,3-10,70)	0,0001

**Tabla III**

Variable (unidades)	Antes: X(DE; rango)	Después: X(DE; rango)	p
Fósforo (mg/dl)	3,0000(0,48166;1,7-3,90)	3,7474(0,43355;2,7-4,7)	0,0001
PTH (pg/ml)	64,8270(33,8788;25,70-151,20)	53,4237(34,2035;19,60-171,00)	0,0001
Osteocalcina (ng/ml)	16,2842(9,4841;5,50-61,80)	25,5684(12,09441;6,30-58,30)	0,0001
N-terminal (ng/ml)	48,3026(19,8626;19,80-120)	69,5929(18,06;48,30-103,60)	0,025
C-terminal (ng/ml)	0,4198(0,17744;0,19-0,88)	0,7432(0,268;0,30-1,38)	0,0001
Vit D (ng/ml)	20,4811(6,9520;8,7-35,80)	23,1158(6,5039;8,30-33,40)	0,019
LDL (mg/dl)	127,2895(32,8279;59-195)	115,2368(36,2151;11-177)	0,070
Insulina (mU/L)	8,3144(5,8998;1,90-32,34)	10,7200(7,23806;0,94-42,38)	0,201
Péptido C (ng/ml)	2,5655(1,5891;0,87-8,54)	2,8369(1,26288;0,97-6,64)	0,158
Estradiol (pg/ml)	39,9143(38,3462;20-225)	23,1053(38,3462;20-67)	0,008
Progesterona (ng/ml)	0,5914(0,33494;0,08-1,61)	0,6213(0,37141;0,08-1,57)	0,654
Testosterona (ng/dl)	348,4474(313,1206;10-1591)	41,9342(93,33;0,10-562)	0,0001
PSA (ng/ml)	12,1174(16,4398;0,32-74,49)	0,90013(2,14110;0,01-10,69)	0,0001

**Tabla IV**

### 6.2.3- Parámetros en orina fresca

Dentro de las variables analizadas en orina fresca no se detectaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de pH entre ambos periodos estudiados ni tampoco en los niveles de ácido úrico.

Se detectaron no obstante diferencias estadísticamente significativas para las variables: cociente calcio/creatinina, citrato y oxalato. En el caso del cociente calcio/creatinina se evidenció un incremento estadísticamente significativo entre sus valores basales y al año de la TDA pasando de 86,5028 a 127,9547;  $p=0,002$  así como un descenso de los niveles de citrato en orina: de 396,0968 a 144,1757;  $p=0,002$  y de los de oxalato urinario: de 6,1455 a 2,1246;  $p=0,0001$ . Tabla V

Variable (unidades)	Antes: X(DE; rango)	Después: X(DE; rango)	p
pH	5,7917(0,70076;5-7,5)	5,6351(0,72312;5-7,5)	0,201
Calcio/creatinina	86,5028(59,3058;12,80-330)	127,9547(66,53660;10,30-273)	0,002
Ácido úrico (mg/dl)	36,6389(17,16086;10,60-71,10)	36,9395(19,74101;5,50-77,00)	0,634
Citrato (mg/dl)	396,0968(457,3681;1,00-1811)	144,1757(285,71713;7,00-1090)	0,002
Oxalato (mg/dl)	6,1455(3,7896;0,43-15,20)	2,1246(3,07282;0,30-10,80)	0,0001

**Tabla V**

#### 6.2.4- Parámetros en orina de 24 horas

En el análisis de la orina de 24 horas se detectó un descenso estadísticamente significativo del índice de excreción de sodio: de 1,4509 a 1,1764;  $p=0,043$ , del cloro urinario: de 106,0676 a 92,3158;  $p=0,026$ , del cociente magnesio/creatinina: de 62,3650 a 57,0224;  $p=0,03$  y de los niveles de citrato urinario: de 28,7595 a 35,3053;  $p=0,03$ .

Se constata de igual modo un incremento del calcio urinario estadísticamente significativo entre el periodo basal y al año de TDA expresado en las variables siguientes tal y como se recogen en la tabla VI. Se ha producido un incremento estadísticamente significativo de los niveles de calcio urinario: de 7,0639 a 9,4763;  $p=0,0001$  así como un aumento estadísticamente significativo en los niveles del cociente calcio/creatinina: de 91,3917 a 115,2868;  $p=0,001$ , del índice de excreción de calcio: de 0,0891 a 0,1083;  $p=0,001$  y de la fracción de excreción de calcio: de 0,8445 a 1,0930;  $p=0,03$ . Tabla VI

Variable (unidades)	Antes: X(DE; rango)	Después: X(DE; rango)	p
Urea (mg/dl)	1219,3734(405,7613;362-2138)	1224,2105(433,9614;403-1933)	0,235
Sodio (mEq/l)	101,5833(45,5546;28-239)	90,5842(38,6034;23-186)	0,054
Índice de excreción de sodio (mg/dl)	1,4509(0,60241;0,78-0,54)	1,1764(0,46307;0,54-2,28)	0,043
Excreción fraccional de sodio (mEq/l)	1,0171(0,4047;0,57-2,18)	0,8338(0,32070;0,37-1,58)	0,681
Potasio (mEq/l)	40,6811(15,3451;17-81,00)	42,1263(15,7700;18-90,00)	0,197
Índice de excreción de potasio	0,6149(0,33013;0,21-1,91)	0,5603(0,30865;0,28-2,01)	0,505
Excreción fraccional de potasio (mEq/l)	13,5694(7,24067;5,20-44,39)	12,3950(7,04034;6,41-45,75)	0,076
Cloro (mEq/l)	106,0676(48,9566;43-247)	92,3158(40,0594;26-198,00)	0,026
Calcio (mg/24h)	7,0639(5,4541;1,20-26,70)	9,4763(7,6875;1,00-40)	0,0001
Calcio/creatinina (mg/dIFG)	91,3917(50,7483;16,90-220,50)	115,2868(60,7651;14,10-300)	0,001
Índice excreción calcio	0,0891(0,04393;0,02-0,23)	0,1083(0,05245;0,03-0,27)	0,001
Fracción excreción calcio (mg/dl)	0,8445(0,41724;0,26-1,60)	1,0930(0,5270;0,33-2,82)	0,03
Fósforo (mg/dl)	38,78(13,5869;18,70-78,90)	39,25(20,3198;0,70-95,10)	0,003
Magnesio (mg/24h)	4,6184(3,08195;1,00-15,34)	4,3437(2,12070;1,47-10,34)	0,124
Magnesio/creatinina (mg/dIFG)	62,3650(22,31104;23,73-126,68)	57,0224(21,51345;22,91-103,93)	0,030
Índice excreción magnesio (mg/dl)	0,0677(0,03388;0,03-0,17)	0,0567(0,02818;0,03-0,15)	0,303
Albúmina (mg/L)	4,2859(15,05464;0-88,36)	2,7663(7,95323;0,50-36,66)	0,180
Citrato (mg/L)	28,7595(21,48270;2,00-105,40)	35,3053(31,51427;3,40-129,90)	0,03
Oxalato (mg/L)	0,7584(0,45039;0,10-2,80)	0,7355(0,36823;0,28-1,80)	0,332

**Tabla VI**

### 6.2.5- Densitometría y parámetros clínicos en función de la variable litiasis

Al final del estudio tras completarse la realización del TAC basal y al año en todos los pacientes se puso de manifiesto la aparición de nefrolitiasis con un tamaño medio de 3,33+/-1,31mm en el 31,6% de los pacientes (n=12) frente al 68,4% restante (n=26) en los que no se detectó nefrolitiasis al final del estudio. Aplicando la prueba de la U de Mann-Whitney se compararon las diferencias entre ambos grupos (litiasis si/litiasis no) tanto de forma basal como al año.

Variable (unidades)	Subgrupo (litiasis)	Antes: X(DE; rango)	p	Después: X(DE; rango)	p
Cuello T-score	si	-1,40(0,99818;-2,50-0,60)	0,385	-1,5917(0,98761;-3,00-0,20)	0,592
	no	-0,9385(1,402;-2,90-1,80)		-1,2962(1,2147;-3,00-0,70)	
Cuello Z-score	si	-2,583(0,86072;-1,20-1,70)	0,225	-0,6000(0,8279;-1,40-1,30)	0,319
	no	0,2962(1,32679;-1,50-2,90)		-0,0269(1,27234;-1,50-2,50)	
Cadera T-score	si	-0,5250(0,95928;-1,90-1,20)	0,647	-0,6500(0,96248;-2,10-0,90)	0,507
	no	-0,3423(1,23488;-1,90-1,60)		-0,4385(1,22868;-2,10-1,40)	
Cadera Z-score	si	0,1083(0,81292;-1,00-1,70)	0,320	-0,0417(0,77748;-1,40-1,50)	0,336
	no	0,4192(1,13948;-1,00-2,30)		0,2154(1,12167;-1,40-2,00)	
Columna T-score	si	-1,4750(1,15454;-3,80-0,40)	0,055	-1,7667(1,11546;-3,70-0,60)	0,015
	no	-0,4962(1,21243;-3,80-1,20)		-0,7154(1,15471;-3,70-1,20)	
Columna Z-score	si	-0,6333(1,03338;-2,70-0,40)	0,009	-0,8500(0,99955;-2,70-0)	0,012
	no	0,4642(1,22258;-2,70-2,40)		0,1769(1,13042;-2,70-2,20)	
TAS (mmHg)	si	143,50(21,907;120-197)	0,120	143,7500(17,06738;125-188)	0,385
	no	153,65(25,530;113-240)		149,5000(20,24105;115-197)	
Variables (unidades)	Subgrupo (litiasis)	Antes: X(DE; rango)	p	Después: X(DE; rango)	p
TAD (mmHg)	si	83,58(8,969;74-104)	0,603	80,8333(11,23172;63-93)	0,479
	no	85,96(14,041;68-130)		84,6923(8,21593;70-100)	
PA (cm)	si	98,33(11,163;75-107)	0,875	100,700(11,6909;78-110)	0,671
	no	101,75(13,314;76-124)		102,423(11,8395;85-132)	

Tabla VII

Dentro de las variables que miden las variaciones en la DMO de estos enfermos se detectaron diferencias estadísticamente significativas en la columna lumbar habiéndose evidenciado unos niveles de T-score basal significativamente inferiores en el grupo litiasis frente a no litiasis: -1,4750 frente a -0,4962;  $p=0,05$ , así como al año de la TDA: -1,7667 frente a -0,7154;  $p=0,015$ . De modo análogo se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas en las mediciones del Z-score de la columna lumbar hallándose unos niveles basales de Z-score basal significativamente inferiores en el grupo litiasis frente a no litiasis: -0,6333 frente a 0,4642:  $p=0,009$  y también un descenso estadísticamente significativo de los niveles de Z-score lumbar al cabo del año en el grupo litiasis: -0,8500 frente al grupo no-litiasis: 0,1769;  $p= 0,012$ . No se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas en el resto de los parámetros que miden la DMO ni en las variables clínicas: tensión arterial ni perímetro abdominal. Tabla VII

#### **6.2.6- Parámetros en sangre en función de la variable litiasis**

Se han comparado los valores en sangre de las variables recogidas en el estudio apreciando en primer lugar un valor significativamente inferior de proteínas al año en el grupo litiasis frente al grupo no litiasis: 6,7417 frente a 7,0923;  $p= 0,024$ , valores de osteocalcina basal significativamente superiores en el grupo litiasis frente al grupo no litiasis: 18,6417 frente a 15,1962;  $p=0,038$ .

Existen así mismo diferencias estadísticamente significativas en los niveles de C-terminal entre ambos grupos tanto de forma basal como al año, de forma basal existe un valor significativamente superior en el grupo litiasis: 0,5425 frente a no litiasis: 0,3632;  $p=0,059$  y de modo análogo al cabo de un año: 0,8464 frente a 0,6956;  $p=0,059$ . Por último, se constata un valor significativamente inferior de testosterona basal en el grupo litiasis: 256,1667 frente a 391,0385 del grupo no litiasis;  $p=0,013$ . Tabla VIII

Variables (unidades)	Subgrupo (litiasis)	Antes: X(DE; rango)	p	Después: X(DE; rango)	p
Glucosa (mg/dl)	si	100,1667(15,27;82-125)	0,615	101,4167(15,962;87-124)	0,900
	no	96,7692(14,889;67-131)			
HDL (mg/dl)	si	55,9167(12,8732;42-87)	0,387	55,8333(12,6191;40-88)	0,962
	no	51,4231(10,2846;35-77)			
Triglicéridos (mg/dl)	si	128,916(48,1275;60-209)	0,132	135,750(49,0419;68-200)	0,346
	no	105,346(43,3994;48-193)			
Insulina/Glucosa	si	10,4600(5,12102;3,30-20,30)	0,745	13,8167(6,52350;5,60-25,80)	0,765
	no	14,0091(14,1394;3,30-64)			
Índice HOMA	si	1,9620(1,15037;0,55-3,18)	0,655	2,5625(1,44956;0,72-4,61)	0,975
	no	2,0432(1,66007;0,41-8,22)			
Urea (mg/dl)	si	45,8333(23,61753;20-95)	0,362	47,9167(18,31769;22-76)	0,863
	no	46,4400(21,37382;15-127)			
Creatinina (mg/dl)	si	1,0700(0,30311;0,71-1,71)	0,765	0,9942(0,24419;0,76-1,68)	0,550
	no	1,1023(0,56613;0,71-3,23)			
Ácido úrico (mg/dl)	si	6,4500(1,56699;5-9,50)	0,950	5,3667(1,03426;4,10-7,10)	0,925
	no	6,2423(1,16933;4,20-8,30)			
Proteínas (g/dl)	si	6,8667(0,45594;6,10-7,90)	0,297	6,7417(0,26785;6,40-7)	0,024
	no	7,0708(0,60324;6-8,30)			
Fosfatasa alcalina (U/L)	si	88,2500(27,79511;49-130)	0,833	103,4167(18,81227;70-127)	0,238
	no	85,1200(22,85702;50-131)			
Sodio (mEq/L)	si	139,5000(2,02260;137-144)	0,545	140,2500(2,17945;137-143)	0,861
	no	140,0385(2,99974;132-147)			
Potasio (mEq/L)	si	4,5083(0,44407;3,90-5,10)	0,591	4,3833(0,50422;4-5,50)	0,204
	no	4,5808(0,44634;3,80-5,90)			

Cloro (mEq/L)	si	103,000(1,80907;98-106)	0,469	103,5833(1,56428;101-106)	0,557
	no	103,3125(2,79679;98-107)		102,6154(3,56737;89-107)	
Calcio (mEq/L)	si	9,4833(0,39962;8,80-10)	0,181	9,7083(0,35022;9,30-10,10)	0,079
	no	9,7000(0,33912;9-10,30)		9,9962(0,39343;9,30-10,70)	
Fósforo (mg/dl)	si	2,9833(0,42176;2,20-3,70)	0,612	3,8167(0,46090;3,10-4,70)	0,693
	no	3,0083(0,51745;1,70-3,90)		3,7154(0,42586;2,70-4,30)	
PTH (pg/ml)	si	63,0417(28,65489;38,10-116,70)	0,770	52,8583(26,79689;31-121)	0,414
	no	65,6840(36,64648;25,70-151,20)		53,6846(37,61980;19,60-171)	
Osteocalcina (ng/ml)	si	18,6417(6,65698;7-29,30)	0,038	30,3083(14,33435;10,30-54)	0,099
	no	15,1962(10,47509;5,50-61,80)		23,3808(10,50318;6,30-58,30)	
N-terminal (ng/ml)	si	47,7583(14,24949;26,90-70,40)	0,706	62,9500(3,05996;60,30-65,60)	0,570
	no	48,5538(22,23398;19,80-120)		72,2500(20,99022;48,30-103,60)	
C-terminal (ng/ml)	si	0,5425(0,18254;0,34-0,87)	0,006	0,8464(0,25667;0,30-1,18)	0,059
	no	0,3632(0,14621;0,19-0,88)		0,6956(0,26504;0,35-1,38)	
Vitamina D (ng/ml)	si	22,7000(5,79404;11,90-30,50)	0,200	25,2583(6,46761;12,40-32,40)	0,198
	no	19,4160(7,31207;8,70-35,80)		22,1269(6,40153;8,30-33,40)	
LDL (mg/dl)	si	134,0833(33,22501;68-185)	0,277	128,7500(35,14160;68-177)	0,209
	no	124,1538(32,81547;59-195)		109,0000(35,63145;11-176)	
Insulina (mU/L)	si	7,5258(3,55587;2,43-13,42)	1,000	9,9033(4,84656;3,30-15,05)	0,900

	no	8,7088(6,81438;1,90-32,34)		11,0969(8,16905;0,94-42,38)	
Péptido C (ng/ml)	si	2,4267(0,89842;1,15-4,39)	0,685	2,5890(1,08501;1,55-5,01)	0,447
	no	2,6532(1,92220;0,87-8,54)		2,9323(1,33227;0,97-6,64)	
Estradiol (pg/ml)	si	42,5833(57,88462;20-225)	0,107	20,5833(1,16450;20-23)	0,584
	no	38,5217(24,31586;20-134)		24,2692(10,15306;20-67)	
Progesterona (ng/ml)	si	0,5492(0,42174;0,14-1,61)	0,153	0,6342(0,39316;0,27-1,57)	0,962
	no	0,6116(0,29230;0,08-1,14)		0,6154(0,36883;0,08-1,35)	
Testosterona (ng/dl)	si	256,1667(434,6837;23-1591)	0,013	65,3500(156,97265;0,10-562)	0,962
	no	391,0385(236,63009;10-883)		31,1269(40,82353;0,10-164)	
PSA (ng/ml)	si	9,2033(8,43534;0,53-29,38)	0,975	0,2608(0,20447;0,01-0,59)	0,488
	no	13,4623(19,04554;0,32-74,49)		1,1969(2,54531;0,01-10,69)	

**Tabla VIII**

### 6.2.7- Parámetros en orina fresca y de 24 horas en función de la variable litiasis

En este apartado en el que se analizan las variables recogidas en orina fresca y de 24 horas se detectan diferencias estadísticamente significativas en el parámetro calcio/creatinina anual con un valor significativamente superior en el grupo litiasis: 161,5817 frente al grupo no litiasis: 112,4346;  $p = 0,038$ . Con una  $p = 0,062$  destacamos un valor incrementado de la fracción de excreción de calcio basal en el grupo litiasis: 1,1100 frente al grupo no litiasis: 0,7015. Tabla IX

VARIABLES (UNIDADES)	SUBGRUPO (LITIASIS)	ANTES: X(DE; RANGO)	P	DESPUÉS: X(DE; RANGO)	P
pH	si	5,7500(0,72300;5-7)	0,796	5,5000(0,79772;5-7)	0,295
	no	5,8125(0,70422;5-7)		5,7000(0,69222;5-7)	
Calcio/creatinina (mg/mg)	si	90,4317(85,36395;26,35-330,17)	0,524	161,5817(76,92805;32,30-273)	0,038
	no	84,5383(43,07044;12,80-201,52)		112,4346(56,16912;10,30-230)	

Ácido úrico (mg/dl)	si	36,5917(16,31477;13-63,20)	0,946	36,5333(21,11412;17,10-76,50)	0,706
	no	36,6625(17,91210;10,60-71,10)		37,1269(19,50632;5,50-77)	
Citrato (mg/dl)	si	347,0583(364,08067;1-1117)	0,417	231,5583(377,70008;10,30-1014)	0,363
	no	427,0684(514,80227;15,90-1811)		102,2320(226,75176;7-1090)	
Oxalato (mg/dl)	si	5,2683(4,09173;0,43-15,20)	0,208	3,5233(4,09090;0,46-10,80)	0,082
	no	6,6995(3,58712;0,50-13,50)		1,4532(2,24614;0,30-10,30)	
Urea (mg/dl)	si	1203,50(336,4395;886-1777)	0,820	1253,4167(496,0825;403-1893)	0,826
	no	1227,00(441,4717;362-2138)		1210,73(412,111;504-1933)	
Sodio (mEq/L)	si	103,9167(52,11;28-195)	0,460	85,333(29,112;46-141)	0,789
	no	100,4167(43,069;62-239)		93,0077(42,5826;23-186)	
Índice excreción Sodio	si	1,3620(0,52138;0,78-2,17)	0,839	1,1590(0,45005;0,65-1,95)	0,888
	no	1,4914(0,64321;0,80-3,22)		1,1831(0,47657;0,54-2,28)	
Excreción fraccional Sodio (mEq/L)	si	0,9617(0,33190;0,57-1,55)	0,885	0,8100(0,30239;0,47-1,37)	0,790
	no	1,0473(0,44387;0,57-2,18)		0,8438(0,33342;0,37-1,58)	
Potasio (mEq/L)	si	39,4333(18,02117;17-73)	0,398	37,0833(14,76764;18-75)	0,204
	no	41,2800(14,25517;19-81)		44,4538(15,94586;18-90)	
Índice excreción potasio	si	0,5892(0,31303;0,21-1,11)	0,676	0,5070(0,28605;0,28-1,02)	0,112
	no	0,6283(0,34480;0,32-1,91)		0,5808(0,31991;0,32-2,01)	
Excreción fraccional de potasio (mEq/L)	si	13,0425(6,86033;5,20-22,29)	0,829	11,3109(6,53821;6,41-24,22)	0,077
	no	13,8568(7,58208;7,62-44,39)		12,8720(7,32782;7,04-45,75)	
Cloro (mEq/L)	si	111,5417(52,81419;44-200)	0,455	87,2500(25,90937;51-142)	0,694

	no	103,4400(47,90101;43-247)		94,6538(45,40568;26-198)	
Calcio (mg/24h)	si	7,8417(5,07605;2,20-18,50)	0,2989	9,3833(4,21918;2,50-14,30)	0,432
	no	6,6750(5,69838;1,20-26,70)		9,5192(8,92336;1-40)	
Calcio/creatinina (mg/dlFG)	si	104,6667(50,30824;25,40-187,40)	0,240	128,6333(52,57217;28,40-203,30)	0,220
	no	84,7542(50,70225;16,90-220,50)		109,1269(64,21603;14,10-300)	
Índice excreción calcio (mg/dl FG)	si	0,1017(0,03786;0,04-0,15)	0,128	0,1230(0,05314;0,03-0,18)	0,235
	no	0,0823(0,04628;0,02-0,23)		0,1027(0,05212;0,04-0,27)	
Fracción excreción calcio (mg/dl)	si	1,1100(0,48132;0,44-1,60)	0,062	1,2418(0,52236;0,33-1,94)	0,206
	no	0,7015(0,31072;0,26-1,25)		1,0300(0,52622;0,39-2,82)	
Fósforo (mg/dl)	si	39,7583(13,30792;21,10-58,30)	0,455	38,4250(21,74372;14,60-75)	0,509
	no	38,2696(13,99836;18,70-78,90)		39,6308(20,06447;0,70-95,10)	
Magnesio (mg/24h)	si	4,8708(2,87554;2,48-11,87)	0,770	4,6350(2,22094;2,29-10,34)	0,615
	no	4,4972(3,22655;-1-15,34)		4,2092(2,10387;1,47-10,22)	
Magnesio/creatinina (mg/dl FG)	si	64,9110(24,13551;36,57-120,23)	0,734	60,7455(18,99334;31,93-81,50)	0,273
	no	61,3042(21,96072;23,73-126,68)		55,4473(22,66043;22,91-103,93)	
Índice excreción magnesio (mg/dl)	si	0,0658(0,02575;0,03-0,11)	0,764	0,0550(0,02068;0,03-0,09)	0,788
	no	0,0687(0,03794;0,04-0,17)		0,0573(0,03093;0,03-0,15)	
Albúmina (mg/L)	si	3,7092(10,19202;0,70-36,07)	0,864	3,8492(10,35634;0,50-36,66)	0,676

	no	4,5628(17,09114;0-86,36)		2,2665(6,75289;0,50-34,91)	
Citrato (mg/L)	si	22,6750(21,08667;2-79,60)	0,135	29,0750(21,70543;3,40-70,20)	0,850
	no	31,6800(21,47248;5-105,40)		38,1808(35,14732;5-129,90)	
Oxalato (mg/L)	si	0,7842(0,66575;0,38-2,80)	0,380	0,7617(0,38255;0,33-1,50)	0,826
	no	0,7460(0,31723;0,10-1,70)		0,7235(0,36852;0,28-1,80)	

**Tabla IX**

### 6.3- Análisis multivariante: regresión logística

Se ha llevado a cabo una regresión logística sobre aquellos valores que han expresado diferencias estadísticamente significativas tras la prueba de Mann-Whitney al comparar los grupos litiasis frente a no litiasis o aquellos valores que no llegando a tal significación se han incluido por su relevancia clínica.

De todas estas variables que habían resultado estadísticamente significativas en el análisis bivalente tan sólo la variable C-terminal basal se asoció de forma independiente con la aparición de nefrolitiasis tras el análisis multivariante ( $p=0,00$ ).

Variable	Puntuación	gl	Significación
Columna T score A	4,438	1	0,035
Columna Z score A	5,411	1	0,020
Osteocalcina A	1,965	1	0,161
C-terminal A	7,816	1	0,005
Testosterona A	0,208	1	0,649
Fracción excreción calcio A	4,590	1	0,032
Calciuria 24h A	3,226	1	0,072

**Tabla X**

\*A: Antes de iniciar bloqueo androgénico

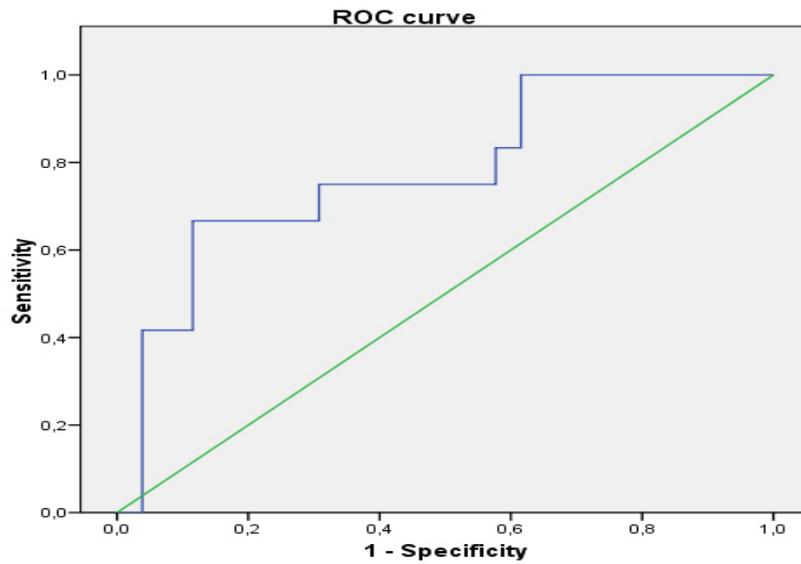


Figura 3: Curva ROC representando la sensibilidad y especificidad de un punto de corte del marcador C-terminal A (B crosslap) en relación con la aparición de nefrolitiasis obteniéndose un punto de corte en 0,392ng/ml (sensibilidad 75%, especificidad 70%) a partir del cual se incrementa el riesgo de nefrolitiasis en aquellos pacientes que van a comenzar la TDA (ABC=0,779;  $p=0,006$ ).

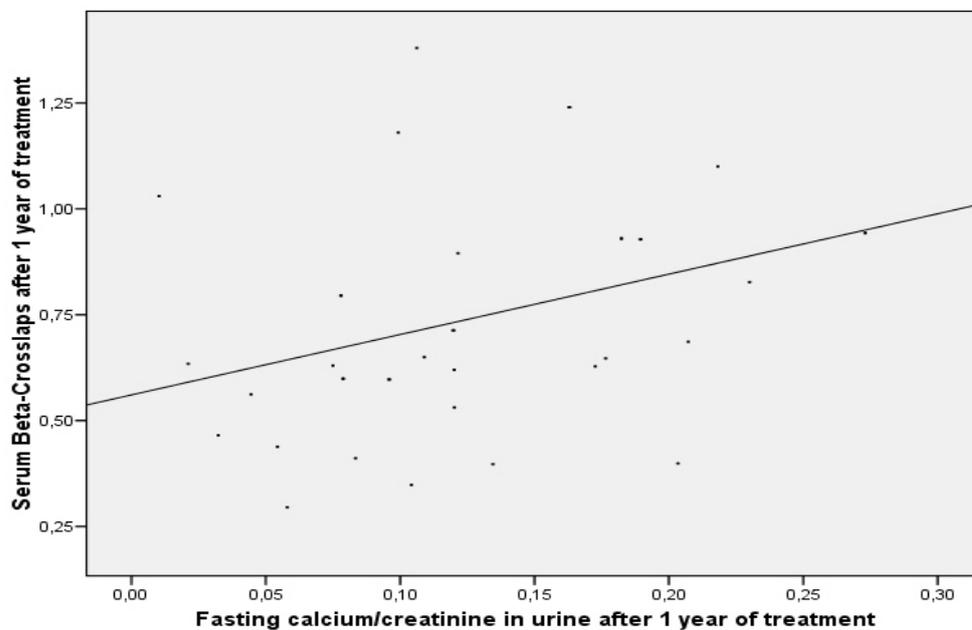


Figura 4: Correlación lineal positiva entre el cociente calcio/creatinina en orina fresca y el marcador C-terminal (B-crosslap) tras un año de tratamiento.

## 7.- DISCUSIÓN

En los últimos años se ha producido un renovado interés por los efectos del déficit de testosterona en el varón a raíz de nuevas investigaciones en diversos campos que subrayan el papel de la testosterona fuera de la esfera sexual. Tal es el caso del hipogonadismo de inicio tardío en el anciano, entidad acuñada recientemente con el objeto de englobar una serie de alteraciones del varón anciano fruto de la hipoandrogenemia tales como: deterioro cognitivo, desorientación espacial, fatiga, depresión, descenso de la masa corporal, pérdida de pelo, alteraciones cutáneas y descenso de la densidad mineral ósea (300)(301)(302)(303)(304).

Se calcula que, como resultado del envejecimiento, la concentración de testosterona decrece gradualmente en torno a un 1,6% anual especialmente después de los 40 años. Esta forma de hipogonadismo hipergonadotrópico también se conoce como hipogonadismo primario y es el más frecuente en el varón adulto (290).

Este déficit progresivo de función testicular se inicia tal y como se ha comentado a partir de la cuarta década de la vida habiéndose calculado que en torno a un 10% de los varones entre 40-60 años y un 25% entre 60-80 años presentan niveles plasmáticos de testosterona por debajo del límite inferior de la normalidad (309)(310).

Varios estudios relacionan los niveles bajos de testosterona con la prevalencia del síndrome metabólico definida según los criterios NCEP ATP III (98). Kupelain V. et al (308) concluyó en su estudio que la ratio de síndrome metabólico se incrementaba un punto con cada descenso de una desviación estándar en los niveles hormonales (testosterona total, testosterona libre y SHBG) en varones entre 30-37 años.

Varios estudios transversales sugieren una asociación inversa entre peso, IMC, perímetro abdominal y niveles circulantes de testosterona (total, libre, biodisponible) (312)(313).

En los hombres, los niveles bajos de testosterona se relacionan también con la resistencia a la insulina (330)(331) incluso con independencia de la obesidad (338), en el caso de la HTA no se ha podido dilucidar ningún efecto neto con independencia de la distribución de la masa muscular (353) y por último el déficit de testosterona se ha relacionado positivamente con los niveles de HDL (361)(362)(363).

Se conoce desde hace tiempo la relación existente entre hormonas sexuales (testosterona, estradiol, SHBG) y la pérdida de DMO (406)(407)(409)(416) con un papel preponderante de la testosterona en el caso del varón (408), de hecho, el hipogonadismo es la causa más frecuente de osteoporosis en ambos sexos y está presente en más del 20% de los varones con fractura vertebral sintomática y en el 50% de los ancianos con fractura de cadera (364). En los hombres la pérdida ósea ocurre más tarde (186) y este fenómeno se incrementa de forma progresiva con la edad, particularmente en el hueso esponjoso después de los 70 años (186)(195). Los andrógenos actúan sobre el remodelado óseo mediante la acción directa del receptor androgénico (375, 376) e indirecta a través del receptor estrogénico (373), regulando la expresión génica en los osteoblastos (366) y estimulando la secreción de IL1, IL6 y TNF alfa (367).

Tanto el síndrome metabólico como la pérdida de DMO son conocidos factores de riesgo litógeno. La litiasis de ácido úrico precisa en la mayoría de los casos de un pH ácido en orina (142,143), circunstancia íntimamente ligada al síndrome metabólico (151) probablemente debido a la disminución de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> urinario secundario a la resistencia a la insulina a nivel renal(160)(161). La excreción urinaria de ácido úrico es mayor en pacientes a medida que aumenta su peso (146)(148).

En el caso de las litiasis cálcicas, aunque existen estudios que las vinculan a ciertos parámetros centrales del síndrome metabólico como la HTA (175,176) y la hiperinsulinemia (179,180,181) están fundamentalmente relacionadas con los procesos de desmineralización ósea, responsables de la hipercalciuria reabsortiva (12) si bien la causa más frecuente de litiasis cálcica es la hipercalciuria idiopática (3,4). La pérdida de DMO constituye el principal factor de riesgo para la osteoporosis (246,247), entidad que asocia un riesgo de fractura ósea (241) y morbimortalidad (190)diferente para cada sexo (186, 191, 193, 195).

El descenso de la DMO y el incremento de la resorción ósea suceden de forma preponderante en pacientes con severa actividad litogénica según concluye Arrabal Polo et al (238) estableciéndose un círculo vicioso de hipercalciuria, incremento del balance negativo de calcio y la formación de litiasis renal. La medición de la actividad resorptiva ósea se ha basado históricamente en la medición de la densidad mineral ósea, en el contexto de la osteoporosis como marcador subrogado del riesgo de fractura (187).

El método más empleado continúa siendo la absorciometría dual de rayos X (DEXA) (267). Junto a él y en el contexto de la litiasis urinaria han ido desarrollándose una serie de marcadores indirectos y directos de la resorción ósea. Entre los primeros cabe destacar la

hipercalciuria (257), vinculada también a otros marcadores de resorción ósea en sangre (259) y el cociente calcio/creatinina como marcador subrogado de la calciuria rápida (260), cuya relación con la litiasis y otros marcadores de resorción ósea ha sido puesta de manifiesto tanto en adultos (261) como en niños (210).

En sangre los biomarcadores de formación ósea más importantes son la fosfatasa alcalina y la osteocalcina (287) mientras que los de resorción ósea más empleados son el B-crosslaps y la hidroxiprolina (286).

La generalización del uso de la TDA en cada vez más pacientes con cáncer de próstata (418) obliga a situar la cuestión de sus efectos secundarios a largo plazo en el centro del debate (419), (420). Varios estudios en pacientes con TDA por cáncer de próstata demuestran incrementos rápidos de la resistencia a la insulina (434), incremento de la prevalencia de la obesidad (436), hiperglucemia (435) así como una correlación negativa estadísticamente significativa entre testosterona total y libre frente a glucosa, insulina, leptina y el índice HOMA-IR (438). Todos estos factores contribuyen a incrementar en estos enfermos el riesgo de DM tipo II y de mortalidad cardiovascular (458, 459).

Por otro lado, se calcula que existe una diferencia de entre un 6,5-17,3% de DMO entre pacientes con cáncer de próstata con TDA frente a pacientes con cáncer de próstata sin TDA (464, 465, 466, 467, 468) sin haberse podido demostrar resultados diferentes si son sometidos a bloqueo androgénico intermitente (469). El descenso de la DMO unido a cambios estructurales tales como la perforación trabecular (481) conllevan un incremento del riesgo de osteoporosis (482).

Shahinian et al (483) determinó un incremento en el riesgo de fractura ósea a 5 años del 19,4% frente a 12,6% entre un total de 50613 varones con cáncer de próstata con y sin TDA respectivamente habiéndose podido establecer una relación estadísticamente significativa entre las dosis de GnRH y el riesgo de fractura.

En este estudio con 38 pacientes sometidos a TDA por cáncer de próstata y seguidos durante un año se incluyó a 28 pacientes con enfermedad órgano-confinada, 7 con adenopatías loco-regionales y 3 con metástasis no ósea. Fueron excluidos aquellos pacientes en tratamiento con cualquier agente quimioterápico.

El valor medio del PSA al inicio previo al bloqueo androgénico fue de 12,11ng/ml que se corresponde con un riesgo intermedio en la clasificación de Amico. En todos los enfermos se alcanzó el rango de castración de la testosterona tras la primera determinación basal (valor

medio de la testosterona al año: 41,93ng/dl+/-93,33, p=0,0001) y se detectó una disminución estadísticamente significativa (p=0,008) de los niveles de estradiol (de 39,91pg/ml +/- 38,34 basal a 22,02pg/ml +/- 4,59 al año) que se ha relacionado en determinados estudios con el aumento de riesgo de fractura en varones ancianos (407) y el descenso de la DMO (408) postulando un efecto antiresortivo de los estrógenos derivados de la conversión periférica de la testosterona (403).

De manera global cabe destacar los importantes cambios a nivel de metabolismo fosfocálcico y óseo que se han detectado al año en estos enfermos: un incremento estadísticamente significativo de la calcemia ( de 9,62mg/dl +/- 0,36 basal a 9,91mg/dl +/-0,41 al año, p=0,0001), fosforemia (de 3,01mg/dl +/-0,48 basal a 3,75mg/dl +/- 0,43 al año, p=0,0001), fosfatasa alcalina (de 86,13U/L +/- 24,21 basal a 97,83U/L +/- 19,59 al año, p=0,0001), osteocalcina (de 16,28ng/ml +/- 9,48 basal a 25,56ng/ml +/- 12,09 al año), 25-OH vitamina D (de 20,48ng/ml +/- 6,95 basal a 23,34ng/ml +/- 6,44 al año) así como un descenso estadísticamente significativo de los niveles séricos de PTH (de 64,82 pg +/- 33,87 basal a 53,88 pg +/- 34,55 al año, p=0,0001). Estas alteraciones sugieren un posible aumento de la resorción ósea en estos enfermos al año de la TDA.

De todos los parámetros diagnósticos establecidos para el síndrome metabólico según el consenso NCEP-ATP III sólo se detectó un incremento estadísticamente significativo de los niveles de triglicéridos en sangre (de 112,78mg/dl +/- 45,65 basal a 126,86mg/dl +/- 49,29 al año, p=0,02) no hallándose tampoco diferencias estadísticamente significativas en otros parámetros relacionados tales como: índice HOMA, cociente insulina/glucosa, insulina, péptido C y pH urinario.

Dentro de los estudios prospectivos longitudinales sobre efectos adversos de la TDA Harrington J.M et al (434) detectó dentro de un grupo de 55 pacientes sometidos a radioterapia 1º y BAC frente a radioterapia 1º sola durante un año un incremento anual del índice HOMA del 39% en el grupo TDA sin haberse detectado otras diferencias en la presión arterial, glucosa o lípidos.

J.C Smith et al (439) evidenció en un estudio a 6 meses con 22 pacientes (divididos entre BAC 3 meses y BAC 6 meses) un incremento de los niveles medios de insulina en ambos grupos (de 11,8 mU/l (5,6-49,1) a 15,1mU/l (7,3-83,2) al mes (p=0,021) y de 19,3mU/l (0-85,0) a los 3 meses (p=0,020) sin haberse hallado cambios en el perfil lipídico o de los niveles de glucosa durante el tratamiento.

Por último F. Dockey et al (440) llevó a cabo otro estudio prospectivo longitudinal comparando un grupo con TDA antes del tratamiento y a los 3 meses (n=16) frente a un grupo control sin cáncer de próstata (n=15). Tras la supresión de la testosterona se incrementaron los niveles séricos de insulina de  $6.89\pm 4.84$  m-U/l a  $11.34\pm 8.16$  m-U/l, colesterol total de  $5.32\pm 0.77$  mmol/l a  $5.71\pm 0.82$  mmol/l y HDL de  $1.05\pm 0.24$  mmol/l a  $1.26\pm 0.36$  mmol/l; (P <0.005). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el IMC, glucosa sérica, LDL o triglicéridos.

Estos estudios representan la evidencia de mayor calidad disponible sobre el desarrollo de síndrome metabólico en pacientes sometidos a TDA y como se ha puesto de manifiesto no se producen alteraciones relevantes en la mayoría de parámetros diagnósticos, si bien cabe destacar una coincidencia en el incremento de los niveles de insulina y la aparición de resistencia a la insulina en menos de un año en estos enfermos, lo cual es congruente con la fisiopatogenia de la diabetes mellitus, en la cual la hiperinsulinemia precede a la hiperglucemia.

Otros estudios transversales previos si han detectado mayor número de alteraciones en relación con el síndrome metabólico en los grupos TDA tales como el aumento del IMC, hiperglucemia (436) así como relaciones estadísticamente significativas entre los niveles de testosterona total, libre y glucosa, insulina, leptina o índice HOMA-IR (438). Sin embargo, a la menor calidad de estos estudios hay que añadir el hecho de que el grupo TDA en ambos tenía una media de 45 meses de tratamiento con análogos de LHRH frente a 12 meses del estudio prospectivo más largo (434). En este sentido cabe señalar la conveniencia de prolongar más de 12 meses el estudio de los efectos metabólico de la TDA en estos enfermos.

Al cabo de un año se han podido confirmar descensos estadísticamente significativos (p<0,005) de la DMO respecto a los parámetros establecidos de normalidad mediante el T-score. En la columna lumbar el valor de T-score descendió de  $-0,81\pm 1,26$  basal a  $-1,04\pm 1,23$  al año, en la cadera pasó de  $-0,41\pm 1,14$  basal a  $-0,51\pm 1,14$  al año y por último en el cuello femoral la variación osciló de  $-1,08$  basal a  $-1,38$  al año, estos datos tras 12 meses de TDA son congruentes con los descensos estimados entre un 1,8-2,3% en el cuello femoral mediante DEXA (473, 474, 475) y de entre un 5,7-8,5% mediante el análisis QTC (quantitative computed tomography) (470, 471, 472) en varios estudios longitudinales en pacientes con cáncer de próstata tratados con TDA durante 12 meses. Descensos aún mayores de entre un 6,5-17,3% en la DMO están publicados en varios estudios transversales con periodos mayores de tratamiento (464)(465)(466)(467)(468).

Por otro lado, existe un incremento estadísticamente significativo del marcador de resorción B-crosslaps (de 0,42ng/ml+/- 0,18 basal a 0,74ng/ml +/-0,27 anual; p=0,0001) así como de la fosfatasa alcalina y la osteocalcina como se ha detallado anteriormente.

Se ha detectado un incremento estadísticamente significativo del cociente calcio/creatinina en orina fresca (de  $0.08 \pm 0.06$  a  $0.13 \pm 0.06$ ; p = 0.002), de la calciuria de 24 horas (de  $117.69 \pm 66.92$  a  $169.42 \pm 107.18$  mg; p = 0.0001), el cociente calcio/creatinina de 24h (de  $0.09 \pm 0.05$  a  $0.11 \pm 0.06$ ; p = 0.001), la absorción tubular de fosfato (de  $80.94 \pm 10.06$  a  $84.31 \pm 7.86\%$ ; p = 0.003) y el citrato urinario (de  $453.84 \pm 275.08$  a  $626.01 \pm 479.38$  mg; p = 0.03). Este incremento de la calciuria de 24h puede expresarse en términos de índice de excreción de calcio (de  $0.09 \pm 0.04$  a  $0.11 \pm 0.05$  mg/dl FG; p = 0.001) y de excreción fraccional de calcio (de  $0.86 \pm 0.41$  a  $1.01 \pm 0.47\%$ ; p = 0.03).

La concurrencia del descenso de DMO, aumento de marcadores de resorción ósea y aumento de la calciuria en orina fresca y de 24h al año de comenzar la TDA permite establecer una línea causal entre la TDA y la progresiva desmineralización ósea e hipercalciuria.

Esta relación ha sido corroborada en otros estudios con pacientes litiásicos; Arrabal Polo et al (259) demostró en un estudio caso-control con 135 pacientes una relación positiva estadísticamente significativa entre calciuria y el cociente B-crosslaps/osteocalcina (R=0,303;P=0,001) en un subgrupo de pacientes con litiasis recurrente (2 o más episodios de litiasis en un año) y Letavernier et al (260) analizó retrospectivamente los determinantes del descenso de DMO en 65 pacientes con litiasis renal e HI. Aquellos pacientes con osteopenia (n=23, 35% del total) presentaron niveles superiores de calciuria rápida que aquellos con DMO normal (n=42) (calcio/creatinina de 0,32 frente a 0,24mmol/mmol; P= 0,006). El análisis completo reveló una asociación negativa entre hipercalciuria rápida y DMO (P=0,003) independientemente de factores de confusión tales como el IMC o el consumo de tabaco. El cociente calcio/creatinina en torno a 0,25mmol/mmol se asoció con un incremento de 3,8 del riesgo de pérdida de DMO.

En Enero de 2017 nuestro grupo de investigación publicó un estudio retrospectivo de casos y controles en el que se incluyeron un total de 85 pacientes diagnosticados de cáncer de próstata entre 2005-2010 en el Hospital San Cecilio del Complejo Hospitalario de Granada con el propósito de evaluar la aparición de nefrolitiasis en estos enfermos(487). En los casos se incluyeron pacientes sometidos a TDA con análogos LHRH (trimestral o semestral, grupo 1=41) y en los controles a pacientes sometidos a radioterapia/braquiterapia o prostatectomía radical (grupo 2=44).

La media de seguimiento por grupo fue similar (8.1 años). En el grupo 1 se produjo nueva aparición de litiasis en 12 pacientes (29.3%) frente a 2 pacientes en el grupo 2 (4.5%);  $p=0.0001$ , con una OR de 8.69; IC al 95% (1.81-41.76). La media de aparición de litiasis tras la TDA fue de 4.4 años y la mediana 3.5 años. En 6 pacientes en los que apareció litiasis se realizó TDA intermitente y en los otros 6 pacientes continuada dentro del grupo 1, sin que existieran diferencias estadísticamente significativas. En el estudio multivariante incluyendo la edad, la TDA y la intermitencia, únicamente la TDA se relacionó de forma independiente con la aparición de litiasis.

La relación entre la aparición de nefrolitiasis y TDA también ha podido apreciarse en nuestro estudio antes-después evidenciándose la aparición de nefrolitiasis con un tamaño medio de 3,33mm en 12 (31,6%) de los 38 pacientes. Se compararon las medias de todas las variables estudiadas al cabo del año entre el grupo litiasis ( $n=12$ ) y el grupo no litiasis ( $n=26$ ).

Aplicando la prueba de la U de Mann-Whitney se determinaron diferencias estadísticamente significativas en el T-score y Z-score lumbar al cabo del año entre el grupo litiasis y no litiasis (T-score  $-1.76 \pm 1.11$  frente a  $-0.71 \pm 1.15$ ;  $p=0.01$ ; Z-score  $-0.85 \pm 0.99$  frente a  $0.17 \pm 1.13$ ;  $p=0.01$ ). Se evidenció un nivel más elevado del marcador B-crosslaps basal ( $0.54 \pm 0.18$  frente a  $0.36 \pm 0.14$  ng/ml;  $p=0.006$ ), así como al año de tratamiento ( $0.84 \pm 0.25$  frente a  $0.69 \pm 0.26$  ng/ml;  $p=0.05$ ) en el grupo litiasis. Los niveles de testosterona basal fueron inferiores en el grupo litiasis ( $256.16 \pm 434.68$  frente a  $391.03 \pm 236.63$  ng/dl;  $p=0.01$ ). El cociente calcio/creatinina en orina fresca fue significativamente superior en el grupo litiasis ( $0.16 \pm 0.07$  frente a  $0.11 \pm 0.05$ ;  $p=0.03$ ).

De todas estas variables que fueron estadísticamente significativas en el análisis univariante solo el marcador B-crosslaps se asoció de forma independiente con la aparición de nefrolitiasis en el análisis multivariante ( $p=0.012$ ). Tras llevar a cabo una curva ROC se estableció un punto de corte de 0,392ng/ml en los niveles de B-crosslaps basal (sensibilidad: 75%, especificidad: 70%) a partir del cual se incrementa el riesgo de aparición de nefrolitiasis (ABC= 0,779;  $p=0,006$ ). Por último, se determinó una relación positiva y estadísticamente significativa entre los niveles de B-crosslaps al cabo del año y el cociente calcio/creatinina en orina fresca al cabo del año ( $R=0.353$ ;  $p=0.03$ ).

Todos estos hallazgos subrayan la importancia del metabolismo óseo en la formación de nefrolitiasis de pacientes sometidos a TDA. En nuestro estudio pese a detectarse una elevación de determinados parámetros característicos del síndrome metabólico tales como el ácido úrico

o los triglicéridos no se ha podido establecer ninguna relación entre estos hallazgos y la aparición de nefrolitiasis.

Este estudio presenta una serie de limitaciones: la ausencia de aleatorización y grupo control, el escaso número de pacientes y un periodo de seguimiento de solo un año. Sin embargo, a nuestro entender este es el primer estudio en la literatura que analiza la aparición de factores de riesgo litógeno en orina y/o nefrolitiasis en pacientes tratados con TDA. Por ello, estos hallazgos describen una interesante línea de investigación en aquellos pacientes con cáncer de próstata tratados con TDA.

## 8.- CONCLUSIONES:

1. Al cabo de un año de tratamiento con TDA los pacientes con cáncer de próstata han comenzado un proceso de desmineralización ósea expresado como descenso estadísticamente significativo de los niveles de T-score lumbar, cuello femoral y cadera y alteraciones estadísticamente significativas en los niveles de los marcadores óseos: fosfatasa alcalina, osteocalcina y B-crosslaps.
2. Al cabo de un año de tratamiento con TDA los pacientes con cáncer de próstata han experimentado un incremento estadísticamente significativo de los niveles de calcio en orina de 24h, cociente calcio/creatinina de 24h y cociente calcio/creatinina en orina fresca.
3. Al cabo de un año de tratamiento con TDA han aparecido nefrolitiasis detectadas con TAC en el 31,6% de los casos.
4. El marcador de resorción ósea B-crosslaps basal se relaciona de forma independiente con la aparición posterior de nefrolitiasis habiéndose hallado un punto de corte a partir del cual se incrementa el riesgo de nefrolitiasis.
5. Existe una correlación lineal, positiva y estadísticamente significativa entre los niveles de B-crosslaps y el cociente calcio/creatinina en orina fresca al año de tratamiento.
6. Al cabo de un año de tratamiento con TDA los pacientes con cáncer de próstata han experimentado desde el punto de vista metabólico un incremento estadísticamente significativo de los niveles de triglicéridos.

## 9.- BIBLIOGRAFÍA

1. Halabe A, Sperling O. Uric acid nephrolithiasis. *Miner Electrolyte Metab* [Internet]. 1994 [cited 2017 Nov 7];20(6):424–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7783706>
2. Asplin JR. Uric acid stones. *Semin Nephrol* [Internet]. 1996 Sep [cited 2017 Nov 7];16(5):412–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8890397>
3. Coe FL, Parks JH, Asplin JR. The pathogenesis and treatment of kidney stones. *N Engl J Med* [Internet]. 1992 Oct 15 [cited 2017 Nov 7];327(16):1141–52. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM199210153271607>
4. Bushinsky DA. Nephrolithiasis. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 1998 May [cited 2017 Nov 7];9(5):917–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9596092>
5. Coe FL, Kavalach AG, Coe FL, Kavalach AG. Hypercalciuria and hyperuricosuria in patients with calcium nephrolithiasis. *N Engl J Med* [Internet]. 1974 Dec 19 [cited 2017 Nov 7];291(25):1344–50. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM197412192912510>
6. Pearle MS, Roehrborn CG, Pak CY. Meta-analysis of randomized trials for medical prevention of calcium oxalate nephrolithiasis. *J Endourol* [Internet]. 1999 Nov [cited 2017 Nov 7];13(9):679–85. Available from: <http://www.liebertonline.com/doi/abs/10.1089/end.1999.13.679>
7. Bushinsky DA. Bench to bedside: lessons from the genetic hypercalciuric stone-forming rat. *Am J Kidney Dis* [Internet]. 2000 Sep [cited 2017 Nov 7];36(3):LXI–LXIV. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10977815>
8. Pak CY, Hayashi Y, Arnold LH. Heterogeneous nucleation with urate, calcium phosphate and calcium oxalate. *Proc Soc Exp Biol Med* [Internet]. 1976 Oct [cited 2017 Nov 7];153(1):83–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11497>
9. Zerwekh JE, Hwang TI, Poindexter J, Hill K, Wendell G, Pak CY. Modulation by calcium of the inhibitor activity of naturally occurring urinary inhibitors. *Kidney Int* [Internet]. 1988 May [cited 2017 Nov 7];33(5):1005–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3134570>
10. Suhasini G, Tahiliani R, Menon PS. Hypercalcaemia. *J Assoc Physicians India* [Internet]. 1986 Oct [cited 2017 Nov 7];34(10):731–2. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3818524>
11. Parks JH, Coe FL. A urinary calcium-citrate index for the evaluation of nephrolithiasis. *Kidney Int* [Internet]. 1986 Jul [cited 2017 Nov 7];30(1):85–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3747347>
12. Kaplan RA, Pak CY. Diagnosis and management of renal calculi. *Tex Med* [Internet]. 1974 Nov [cited 2017 Nov 7];70(11):88–95. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4617326>
13. Frick KK, Bushinsky DA. Molecular mechanisms of primary hypercalciuria. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2003 Apr [cited 2017 Nov 7];14(4):1082–95. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12660344>
14. Langman CB. The molecular basis of kidney stones. *Curr Opin Pediatr* [Internet]. 2004 Apr

- [cited 2017 Nov 7];16(2):188–93. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15021200>
15. Ravichandran V, Selvam R. Increased lipid peroxidation in kidney of vitamin B-6 deficient rats. *Biochem Int* [Internet]. 1990 [cited 2017 Nov 7];21(4):599–605. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2241985>
  16. Thamilselvan S, Selvam R. Effect of vitamin E and mannitol on renal calcium oxalate retention in experimental nephrolithiasis. *Indian J Biochem Biophys* [Internet]. 1997 Jun [cited 2017 Nov 7];34(3):319–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9425753>
  17. Grover PK, Ryall RL. Urate and calcium oxalate stones: from repute to rhetoric to reality. *Miner Electrolyte Metab* [Internet]. 1994 [cited 2017 Nov 7];20(6):361–70. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7783698>
  18. Fellström B, Backman U, Danielson BG, Holmgren K, Ljunghall S, Wikström B. Inhibitory activity of human urine on calcium oxalate crystal growth: effects of sodium urate and uric acid. *Clin Sci (Lond)* [Internet]. 1982 May [cited 2017 Nov 7];62(5):509–14. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7075148>
  19. Hosoyamada M, Ichida K, Enomoto A, Hosoya T, Endou H. Function and localization of urate transporter 1 in mouse kidney. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2004 Feb [cited 2017 Nov 7];15(2):261–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14747372>
  20. Gianfrancesco F, Esposito T, Ombra MN, Forabosco P, Maninchedda G, Fattorini M, et al. Identification of a novel gene and a common variant associated with uric acid nephrolithiasis in a Sardinian genetic isolate. *Am J Hum Genet* [Internet]. 2003 Jun [cited 2017 Nov 7];72(6):1479–91. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002929707604479>
  21. Pak CY, Stewart A, Haynes SD. Effect of added citrate or malate on calcium absorption from calcium-fortified orange juice. *J Am Coll Nutr* [Internet]. 1994 Dec [cited 2017 Nov 7];13(6):575–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7706589>
  22. SAKHAE K, NIGAM S, SNELL P, HSU MC, PAK CYC. Assessment of the Pathogenetic Role of Physical Exercise in Renal Stone Formation\*. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 1987 Nov [cited 2017 Nov 7];65(5):974–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3667890>
  23. Hess B, Zipperle L, Jaeger P. Citrate and calcium effects on Tamm-Horsfall glycoprotein as a modifier of calcium oxalate crystal aggregation. *Am J Physiol* [Internet]. 1993 Dec [cited 2017 Nov 7];265(6 Pt 2):F784-91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8285211>
  24. Nicar MJ, Hill K, Pak CY. Inhibition by citrate of spontaneous precipitation of calcium oxalate in vitro. *J Bone Miner Res* [Internet]. 1987 Jun 3 [cited 2017 Nov 7];2(3):215–20. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/jbmr.5650020308>
  25. Menon M, Mahle CJ. Urinary citrate excretion in patients with renal calculi. *J Urol* [Internet]. 1983 Jun [cited 2017 Nov 7];129(6):1158–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6854790>
  26. Minisola S, Rossi W, Pacitti MT, Scarnecchia L, Bigi F, Carnevale V, et al. Studies on citrate metabolism in normal subjects and kidney stone patients. *Miner Electrolyte Metab* [Internet]. 1989 [cited 2017 Nov 7];15(5):303–8. Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2811789>

27. Fegan J, Khan R, Poindexter J, Pak CY. Gastrointestinal citrate absorption in nephrolithiasis. *J Urol* [Internet]. 1992 May [cited 2017 Nov 7];147(5):1212–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1569651>
28. Preminger GM, Harvey JA, Pak CY. Comparative efficacy of “specific” potassium citrate therapy versus conservative management in nephrolithiasis of mild to moderate severity. *J Urol* [Internet]. 1985 Oct [cited 2017 Nov 7];134(4):658–61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3897582>
29. Rudman D, Dedonis JL, Fountain MT, Chandler JB, Gerron GG, Fleming GA, et al. Hypocitraturia in Patients with Gastrointestinal Malabsorption. *N Engl J Med* [Internet]. 1980 Sep 18 [cited 2017 Nov 7];303(12):657–61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7402252>
30. Breslau NA. Normal and abnormal regulation of 1,25-(OH)<sub>2</sub>D synthesis. *Am J Med Sci* [Internet]. 1988 Dec [cited 2017 Nov 8];296(6):417–25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3063116>
31. Nicar MJ, Peterson R, Pak CY. Use of potassium citrate as potassium supplement during thiazide therapy of calcium nephrolithiasis. *J Urol* [Internet]. 1984 Mar [cited 2017 Nov 7];131(3):430–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6699979>
32. Melnick JZ, Preisig PA, Haynes S, Pak CYC, Sakhaee K, Alpern RJ. Converting enzyme inhibition causes hypocitraturia independent of acidosis or hypokalemia. *Kidney Int* [Internet]. 1998 Nov [cited 2017 Nov 7];54(5):1670–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9844143>
33. Lemann J, Bushinsky DA, Hamm LL. Bone buffering of acid and base in humans. *Am J Physiol - Ren Physiol* [Internet]. 2003 Nov [cited 2017 Nov 7];285(5):F811–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14532161>
34. Caruana RJ, Buckalew VM. The syndrome of distal (type 1) renal tubular acidosis. Clinical and laboratory findings in 58 cases. *Medicine (Baltimore)* [Internet]. 1988 Mar [cited 2017 Nov 7];67(2):84–99. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3127650>
35. Van den Berg CJ, Harrington TM, Bunch TW, Pierides AM. Treatment of renal lithiasis associated with renal tubular acidosis. *Proc Eur Dial Transplant Assoc* [Internet]. 1983 [cited 2017 Nov 7];20:473–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6657672>
36. Pohlman T, Hruska KA, Menon M. Renal tubular acidosis. *J Urol* [Internet]. 1984 Sep [cited 2017 Nov 7];132(3):431–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6471171>
37. Rocher LL, Tannen RL. The clinical spectrum of renal tubular acidosis. *Annu Rev Med* [Internet]. 1986 Feb [cited 2017 Nov 7];37(1):319–31. Available from: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.me.37.020186.001535>
38. Abate N, Chandalia M, Cabo-Chan A V., Moe OW, Sakhaee K. The metabolic syndrome and uric acid nephrolithiasis: Novel features of renal manifestation of insulin resistance. *Kidney Int* [Internet]. 2004 Feb [cited 2017 Nov 8];65(2):386–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14717908>
39. Asplin JR. Uric acid stones. *Semin Nephrol* [Internet]. 1996 Sep [cited 2017 Nov

- 8];16(5):412–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8890397>
40. Koka RM, Huang E, Lieske JC. Adhesion of uric acid crystals to the surface of renal epithelial cells. *Am J Physiol Renal Physiol* [Internet]. 2000 Jun [cited 2017 Nov 8];278(6):F989-98. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10836987>
  41. Pak CY, Hayashi Y, Arnold LH. Heterogeneous nucleation with urate, calcium phosphate and calcium oxalate. *Proc Soc Exp Biol Med* [Internet]. 1976 Oct [cited 2017 Nov 8];153(1):83–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11497>
  42. Maalouf NM, Cameron MA, Moe OW, Sakhaee K. Novel insights into the pathogenesis of uric acid nephrolithiasis. *Curr Opin Nephrol Hypertens* [Internet]. 2004 Mar [cited 2017 Nov 8];13(2):181–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15202612>
  43. Sorensen CM, Chandhoke PS. Hyperuricosuric calcium nephrolithiasis. *Endocrinol Metab Clin North Am* [Internet]. 2002 Dec [cited 2017 Nov 8];31(4):915–25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12474638>
  44. Sakhaee K, Adams-Huet B, Moe OW, Pak CYC. Pathophysiologic basis for normouricosuric uric acid nephrolithiasis. *Kidney Int* [Internet]. 2002 Sep [cited 2017 Nov 8];62(3):971–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12164880>
  45. Traxer O, Safar H, Daudon M, Haymann J-P. [Metabolic syndrome, obesity and urolithiasis]. *Prog Urol* [Internet]. 2006 Sep [cited 2017 Nov 28];16(4):418–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17069032>
  46. Foreman JW, Benson LL, Wellons M, Avner ED, Sweeney W, Nissim I, et al. Metabolic studies of rat renal tubule cells loaded with cystine: the cystine dimethylester model of cystinosis. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 1995 Aug [cited 2017 Nov 8];6(2):269–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7579095>
  47. Klisic J, Hu MC, Nief V, Reyes L, Fuster D, Moe OW, et al. Insulin activates Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger 3: biphasic response and glucocorticoid dependence. *Am J Physiol - Ren Physiol* [Internet]. 2002 Sep 1 [cited 2017 Nov 8];283(3):F532–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12167605>
  48. Vinay P, Lemieux G, Cartier P, Ahmad M. Effect of fatty acids on renal ammoniogenesis in in vivo and in vitro studies. *Am J Physiol* [Internet]. 1976 Sep [cited 2017 Nov 8];231(3):880–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/970471>
  49. Niv Y, Fraser GM. The alkaline tide phenomenon. *J Clin Gastroenterol* [Internet]. 2002 Jul [cited 2017 Nov 8];35(1):5–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12080218>
  50. Gibaldi M, Grundhofer B, Levy G. Time course and dose dependence of antacid effect on urine pH. *J Pharm Sci* [Internet]. 1975 Dec [cited 2017 Nov 8];64(12):2003–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1512>
  51. Ahmad A. Abolition of postprandial alkaline tide after vagotomy and its use as a screening test in the assessment of vagotomy. *Br J Surg* [Internet]. 1986 Nov [cited 2017 Nov 8];73(11):917–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3790925>
  52. Bilobrov VM, Chugaj A V, Bessarabov VI. Urine pH variation dynamics in healthy individuals and stone formers. *Urol Int* [Internet]. 1990 [cited 2017 Nov 8];45(6):326–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2288048>
  53. Murayama T, Sakai N, Yamada T, Takano T. Role of the diurnal variation of urinary pH and

- urinary calcium in urolithiasis: a study in outpatients. *Int J Urol* [Internet]. 2001 Oct [cited 2017 Nov 8];8(10):525–31; discussion 532. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11737477>
54. Bagby SP. Obesity-Initiated Metabolic Syndrome and the Kidney: A Recipe for Chronic Kidney Disease? *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2004 Nov 1 [cited 2017 Nov 8];15(11):2775–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15504931>
  55. Sakhaee K. Recent advances in the pathophysiology of nephrolithiasis. *Kidney Int* [Internet]. 2009 Mar [cited 2017 Nov 8];75(6):585–95. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19078968>
  56. BRESLAU NA, BRINKLEY L, HILL KD, PAK CYC. Relationship of Animal Protein-Rich Diet to Kidney Stone Formation and Calcium Metabolism\*. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 1988 Jan [cited 2017 Nov 7];66(1):140–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2826524>
  57. Yü T, Gutman AB. Uric acid nephrolithiasis in gout. Predisposing factors. *Ann Intern Med* [Internet]. 1967 Dec [cited 2017 Nov 8];67(6):1133–48. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6061930>
  58. Borghi L, Meschi T, Amato F, Novarini A, Romanelli A, Cigala F. Hot occupation and nephrolithiasis. *J Urol* [Internet]. 1993 Dec [cited 2017 Nov 8];150(6):1757–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8230496>
  59. Shekarriz B, Stoller ML. Uric acid nephrolithiasis: current concepts and controversies. *J Urol* [Internet]. 2002 Oct [cited 2017 Nov 8];168(4 Pt 1):1307–14. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12352383>
  60. Norlin A, Lindell B, Granberg PO, Lindvall N. Urolithiasis. A study of its frequency. *Scand J Urol Nephrol* [Internet]. 1976 [cited 2017 Dec 2];10(2):150–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/948724>
  61. Stamatelou KK, Francis ME, Jones CA, Nyberg LM, Curhan GC. Time trends in reported prevalence of kidney stones in the United States: 1976-1994. *Kidney Int* [Internet]. 2003 May [cited 2017 Dec 2];63(5):1817–23. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0085253815490726>
  62. Trinchieri A, Coppi F, Montanari E, Del Nero A, Zanetti G, Pisani E. Increase in the prevalence of symptomatic upper urinary tract stones during the last ten years. *Eur Urol* [Internet]. 2000 Jan [cited 2017 Dec 2];37(1):23–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10671780>
  63. Yasui T, Iguchi M, Suzuki S, Okada A, Itoh Y, Tozawa K, et al. Prevalence and epidemiologic characteristics of lower urinary tract stones in Japan. *Urology* [Internet]. 2008 Nov [cited 2017 Dec 2];72(5):1001–5. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0090429508008315>
  64. Romero V, Akpınar H, Assimos DG. Kidney stones: a global picture of prevalence, incidence, and associated risk factors. *Rev Urol* [Internet]. 2010 [cited 2017 Dec 2];12(2–3):e86-96. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20811557>
  65. Hiatt RA, Dales LG, Friedman GD, Hunkeler EM. Frequency of urolithiasis in a prepaid medical care program. *Am J Epidemiol* [Internet]. 1982 Feb [cited 2017 Dec 2];115(2):255–65. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7058784>
  66. Soucie JM, Thun MJ, Coates RJ, McClellan W, Austin H. Demographic and geographic

- variability of kidney stones in the United States. *Kidney Int* [Internet]. 1994 Sep [cited 2017 Dec 2];46(3):893–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7996811>
67. Sánchez-Martín FM, Millán Rodríguez F, Esquena Fernández S, Segarra Tomás J, Rousaud Barón F, Martínez-Rodríguez R, et al. [Incidence and prevalence of published studies about urolithiasis in Spain. A review]. *Actas Urol Esp* [Internet]. 2007 May [cited 2017 Dec 2];31(5):511–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17711170>
  68. Amato M, Lusini ML, Nelli F. Epidemiology of nephrolithiasis today. *Urol Int* [Internet]. 2004 [cited 2017 Dec 2];72 Suppl 1(1):1–5. Available from: <https://www.karger.com/Article/FullText/76582>
  69. Serio A, Fraioli A. Epidemiology of nephrolithiasis. *Nephron* [Internet]. 1999 [cited 2017 Dec 2];81 Suppl 1:26–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9873211>
  70. Hesse A, Brändle E, Wilbert D, Köhrmann K-U, Alken P. Study on the prevalence and incidence of urolithiasis in Germany comparing the years 1979 vs. 2000. *Eur Urol* [Internet]. 2003 Dec [cited 2017 Dec 2];44(6):709–13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14644124>
  71. Scott R. Prevalence of calcified upper urinary tract stone disease in a random population survey. Report of a combined study of general practitioners and hospital staff. *Br J Urol* [Internet]. 1987 Feb [cited 2017 Dec 2];59(2):111–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3828704>
  72. Akinci M, Esen T, Tellaloğlu S. Urinary stone disease in Turkey: an updated epidemiological study. *Eur Urol* [Internet]. 1991 [cited 2017 Dec 2];20(3):200–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1823043>
  73. Indridason OS, Birgisson S, Edvardsson VO, Sigvaldason H, Sigfusson N, Palsson R. Epidemiology of kidney stones in Iceland: a population-based study. *Scand J Urol Nephrol* [Internet]. 2006 Jan 9 [cited 2017 Dec 2];40(3):215–20. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00365590600589898>
  74. Pinduli I, Spivacow R, del Valle E, Vidal S, Negri AL, Previgliano H, et al. Prevalence of urolithiasis in the autonomous city of Buenos Aires, Argentina. *Urol Res* [Internet]. 2006 Feb 20 [cited 2017 Dec 2];34(1):8–11. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00240-005-0003-7>
  75. Stamatiou KN, Karanasiou VI, Lacroix RE, Kavouras NG, Papadimitriou VT, Chlopsios C, et al. Prevalence of urolithiasis in rural Thebes, Greece. *Rural Remote Health* [Internet]. [cited 2017 Dec 2];6(4):610. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17155848>
  76. Yanagawa M, Kawamura J, Onishi T, Soga N, Kameda K, Sriboonlue P, et al. Incidence of urolithiasis in northeast Thailand. *Int J Urol* [Internet]. 1997 Nov [cited 2017 Dec 2];4(6):537–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9477179>
  77. Kim H, Jo MK, Kwak C, Park SK, Yoo KY, Kang D, et al. Prevalence and epidemiologic characteristics of urolithiasis in Seoul, Korea. *Urology* [Internet]. 2002 Apr [cited 2017 Dec 2];59(4):517–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11927302>
  78. Grases F, Conte A, March JG, Genestar C, Costa-Bauzá A, Martin M, et al. Epidemiology of urinary stone disease in the Balearic Islands Community. *Int Urol Nephrol* [Internet].

- 1994 [cited 2017 Dec 2];26(2):145–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8034422>
79. Lee Y-H, Huang W-C, Tsai J-Y, Lu C-M, Chen W-C, Lee M-H, et al. Epidemiological studies on the prevalence of upper urinary calculi in Taiwan. *Urol Int* [Internet]. 2002 [cited 2017 Dec 2];68(3):172–7. Available from: <https://www.karger.com/Article/FullText/48445>
  80. Thun MJ, Schober S. Urolithiasis in Tennessee: an occupational window into a regional problem. *Am J Public Health* [Internet]. 1991 May [cited 2017 Dec 2];81(5):587–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2014858>
  81. Sierakowski R, Finlayson B, Landes RR, Finlayson CD, Sierakowski N. The frequency of urolithiasis in hospital discharge diagnoses in the United States. *Invest Urol* [Internet]. 1978 May [cited 2017 Dec 2];15(6):438–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/649290>
  82. Saigal CS, Joyce G, Timilsina AR, Urologic Diseases in America Project. Direct and indirect costs of nephrolithiasis in an employed population: opportunity for disease management? *Kidney Int* [Internet]. 2005 Oct [cited 2017 Dec 2];68(4):1808–14. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S008525381551034X>
  83. Yoshida O, Terai A, Ohkawa T, Okada Y. National trend of the incidence of urolithiasis in Japan from 1965 to 1995. *Kidney Int* [Internet]. 1999 Nov [cited 2017 Dec 3];56(5):1899–904. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S008525381546510X>
  84. Iguchi M, Umekawa T, Katoh Y, Kohri K, Kurita T. Prevalence of urolithiasis in Kaizuka City, Japan--an epidemiologic study of urinary stones. *Int J Urol* [Internet]. 1996 May [cited 2017 Dec 3];3(3):175–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8776612>
  85. Safarinejad MR. Adult urolithiasis in a population-based study in Iran: prevalence, incidence, and associated risk factors. *Urol Res* [Internet]. 2007 Apr 28 [cited 2017 Dec 3];35(2):73–82. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00240-007-0084-6>
  86. Fujita K. Epidemiology of urinary stone colic. *Eur Urol* [Internet]. 1979 [cited 2017 Dec 3];5(1):26–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/428407>
  87. Ross WR, McGill JB. Epidemiology of obesity and chronic kidney disease. *Adv Chronic Kidney Dis* [Internet]. 2006 Oct [cited 2017 Dec 3];13(4):325–35. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1548559506001170>
  88. Taylor EN, Stampfer MJ, Curhan GC. Obesity, weight gain, and the risk of kidney stones. *JAMA* [Internet]. 2005 Jan 26 [cited 2017 Dec 3];293(4):455–62. Available from: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.293.4.455>
  89. Nilsson S. [Research contributions of Eskil Kylin]. *Sven Med Tidskr* [Internet]. 2001 [cited 2017 Dec 4];5(1):15–28. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11813720>
  90. Vague J. Sexual differentiation. A determinant factor of the forms of obesity. 1947. *Obes Res* [Internet]. 1996 Mar [cited 2017 Dec 4];4(2):201–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8681056>
  91. Hu G, Qiao Q, Tuomilehto J, Balkau B, Borch-Johnsen K, Pyorala K, et al. Prevalence of the metabolic syndrome and its relation to all-cause and cardiovascular mortality in nondiabetic European men and women. *Arch Intern Med* [Internet]. 2004 May 24 [cited 2017 Dec 4];164(10):1066–76. Available from: <http://archinte.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/archinte.164.10.1066>

92. Isomaa B, Almgren P, Tuomi T, Forsén B, Lahti K, Nissén M, et al. Cardiovascular morbidity and mortality associated with the metabolic syndrome. *Diabetes Care* [Internet]. 2001 Apr [cited 2017 Dec 4];24(4):683–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11315831>
93. Lakka H-M, Laaksonen DE, Lakka TA, Niskanen LK, Kumpusalo E, Tuomilehto J, et al. The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. *JAMA* [Internet]. 2002 Dec 4 [cited 2017 Dec 4];288(21):2709–16. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12460094>
94. Bonora E, Targher G, Formentini G, Calcaterra F, Lombardi S, Marini F, et al. The Metabolic Syndrome is an independent predictor of cardiovascular disease in Type 2 diabetic subjects. Prospective data from the Verona Diabetes Complications Study. *Diabet Med* [Internet]. 2004 Jan [cited 2017 Dec 4];21(1):52–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14706054>
95. Meigs JB. Metabolic syndrome: in search of a clinical role. *Diabetes Care* [Internet]. 2004 Nov [cited 2017 Dec 4];27(11):2761–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15505020>
96. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med* [Internet]. 1998 Jul [cited 2017 Dec 4];15(7):539–53. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/%28SICI%291096-9136%28199807%2915%3A7%3C539%3A%3AAID-DIA668%3E3.O.CO%3B2-S>
97. Balkau B, Charles MA. Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). *Diabet Med* [Internet]. 1999 May [cited 2017 Dec 5];16(5):442–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10342346>
98. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* [Internet]. 2002 Dec 17 [cited 2017 Dec 5];106(25):3143–421. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12485966>
99. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, et al. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation* [Internet]. 2005 Oct 25 [cited 2017 Dec 5];112(17):2735–52. Available from: <http://circ.ahajournals.org/cgi/doi/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.169404>
100. Zimmet P, Magliano D, Matsuzawa Y, Alberti G, Shaw J. The metabolic syndrome: a global public health problem and a new definition. *J Atheroscler Thromb* [Internet]. 2005 [cited 2017 Dec 5];12(6):295–300. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16394610>
101. Reaven GM. The metabolic syndrome: is this diagnosis necessary? *Am J Clin Nutr* [Internet]. 2006 Jun [cited 2017 Dec 5];83(6):1237–47. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16762930>
102. Zimmet P, Alberti KG, Shaw J. Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature* [Internet]. 2001 Dec 13 [cited 2017 Dec 5];414(6865):782–7. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/414782a>

103. Cameron AJ, Shaw JE, Zimmet PZ. The metabolic syndrome: prevalence in worldwide populations. *Endocrinol Metab Clin North Am* [Internet]. 2004 Jun [cited 2017 Dec 5];33(2):351–75, table of contents. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889852904000222>
104. Abdul-Rahim HF, Husseini A, Bjertness E, Giacaman R, Gordon NH, Jervell J. The metabolic syndrome in the West Bank population: an urban-rural comparison. *Diabetes Care* [Internet]. 2001 Feb [cited 2017 Dec 5];24(2):275–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11213878>
105. Onat A, Ceyhan K, Başar O, Erer B, Toprak S, Sansoy V. Metabolic syndrome: major impact on coronary risk in a population with low cholesterol levels--a prospective and cross-sectional evaluation. *Atherosclerosis* [Internet]. 2002 Dec [cited 2017 Dec 5];165(2):285–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12417279>
106. Villegas R, Perry IJ, Creagh D, Hinchion R, O'Halloran D. Prevalence of the metabolic syndrome in middle-aged men and women. *Diabetes Care* [Internet]. 2003 Nov [cited 2017 Dec 5];26(11):3198–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14578275>
107. Drivsholm T, Ibsen H, Schroll M, Davidsen M, Borch-Johnsen K. Increasing prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance among 60-year-old Danes. *Diabet Med* [Internet]. 2001 Feb [cited 2017 Dec 5];18(2):126–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11251676>
108. Marques-Vidal P, Mazoyer E, Bongard V, Gourdy P, Ruidavets J-B, Drouet L, et al. Prevalence of insulin resistance syndrome in southwestern France and its relationship with inflammatory and hemostatic markers. *Diabetes Care* [Internet]. 2002 Aug [cited 2017 Dec 5];25(8):1371–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12145237>
109. Balkau B, Charles M-A, Drivsholm T, Borch-Johnsen K, Wareham N, Yudkin JS, et al. Frequency of the WHO metabolic syndrome in European cohorts, and an alternative definition of an insulin resistance syndrome. *Diabetes Metab* [Internet]. 2002 Nov [cited 2017 Dec 5];28(5):364–76. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12461473>
110. Kim J, Montagnani M, Koh KK, Quon MJ. Reciprocal relationships between insulin resistance and endothelial dysfunction: molecular and pathophysiological mechanisms. *Circulation* [Internet]. 2006 Apr 18 [cited 2017 Dec 5];113(15):1888–904. Available from: <http://circ.ahajournals.org/cgi/doi/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.563213>
111. Kim J, Montagnani M, Koh KK, Quon MJ. Reciprocal relationships between insulin resistance and endothelial dysfunction: molecular and pathophysiological mechanisms. *Circulation* [Internet]. 2006 Apr 18 [cited 2017 Dec 6];113(15):1888–904. Available from: <http://circ.ahajournals.org/cgi/doi/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.563213>
112. Jonk AM, Houben AJHM, de Jongh RT, Serne EH, Schaper NC, Stehouwer CDA. Microvascular Dysfunction in Obesity: A Potential Mechanism in the Pathogenesis of Obesity-Associated Insulin Resistance and Hypertension. *Physiology* [Internet]. 2007 Aug 1 [cited 2017 Dec 6];22(4):252–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17699878>
113. KENNEDY GC. The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat. *Proc R Soc London Ser B, Biol Sci* [Internet]. 1953 Jan 15 [cited 2017 Dec 6];140(901):578–96. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13027283>

114. Coleman DL. Effects of parabiosis of obese with diabetes and normal mice. *Diabetologia* [Internet]. 1973 Aug [cited 2017 Dec 6];9(4):294–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4767369>
115. Feijóo-Bandín S, Portolés M, Roselló-Lletí E, Rivera M, González-Juanatey JR, Lago F. 20years of leptin: Role of leptin in cardiomyocyte physiology and physiopathology. *Life Sci* [Internet]. 2015 Nov 1 [cited 2017 Dec 6];140:10–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25748420>
116. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- $\alpha$ : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* [Internet]. 1993 Jan 1 [cited 2017 Dec 6];259(5091):87–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7678183>
117. Uysal KT, Wiesbrock SM, Marino MW, Hotamisligil GS. Protection from obesity-induced insulin resistance in mice lacking TNF- $\alpha$  function. *Nature* [Internet]. 1997 Oct 9 [cited 2017 Dec 6];389(6651):610–4. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/39335>
118. Weisberg SP, McCann D, Desai M, Rosenbaum M, Leibel RL, Ferrante AW. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest* [Internet]. 2003 Dec 15 [cited 2017 Dec 6];112(12):1796–808. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14679176>
119. Lönnqvist F, Nordfors L, Jansson M, Thörne A, Schalling M, Arner P. Leptin secretion from adipose tissue in women. Relationship to plasma levels and gene expression. *J Clin Invest* [Internet]. 1997 May 15 [cited 2017 Dec 6];99(10):2398–404. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9153282>
120. Fried SK, Ricci MR, Russell CD, Laferrère B. Regulation of leptin production in humans. *J Nutr* [Internet]. 2000 Dec [cited 2017 Dec 6];130(12):3127S–3131S. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11110887>
121. Sinha MK, Ohannesian JP, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Magosin S, et al. Nocturnal rise of leptin in lean, obese, and non-insulin-dependent diabetes mellitus subjects. *J Clin Invest* [Internet]. 1996 Mar 1 [cited 2017 Dec 6];97(5):1344–7. Available from: <http://www.jci.org/articles/view/118551>
122. Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R, et al. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell* [Internet]. 1995 Dec 29 [cited 2017 Dec 6];83(7):1263–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8548812>
123. Cao GY, Considine R V, Lynn RB. Leptin receptors in the adrenal medulla of the rat. *Am J Physiol* [Internet]. 1997 Aug [cited 2017 Dec 6];273(2 Pt 1):E448-52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9277400>
124. Briscoe CP, Hanif S, Arch JR, Tadayyon M. Leptin receptor long-form signalling in a human liver cell line. *Cytokine* [Internet]. 2001 May 21 [cited 2017 Dec 6];14(4):225–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1043466601908713>
125. Figenschau Y, Knutsen G, Shahazeydi S, Johansen O, Sveinbjörnsson B. Human Articular Chondrocytes Express Functional Leptin Receptors. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2001 Sep 14 [cited 2017 Dec 6];287(1):190–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11549273>
126. De Matteis R, Dashtipour K, Ognibene A, Cinti S. Localization of leptin receptor splice

- variants in mouse peripheral tissues by immunohistochemistry. *Proc Nutr Soc* [Internet]. 1998 Aug [cited 2017 Dec 6];57(3):441–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9794002>
127. Sanchez-Margalet V, Martin-Romero C. Human leptin signaling in human peripheral blood mononuclear cells: activation of the JAK-STAT pathway. *Cell Immunol* [Internet]. 2001 Jul 10 [cited 2017 Dec 6];211(1):30–6. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0008874901918155>
  128. McGown C, Birerdinc A, Younossi ZM. Adipose Tissue as an Endocrine Organ. *Clin Liver Dis* [Internet]. 2014 Feb [cited 2017 Dec 6];18(1):41–58. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24274864>
  129. Semenkovich CF. Insulin resistance and atherosclerosis. *J Clin Invest* [Internet]. 2006 Jul 3 [cited 2017 Dec 6];116(7):1813–22. Available from: <http://www.jci.org/cgi/doi/10.1172/JCI29024>
  130. Gimbrone MA, Topper JN, Nagel T, Anderson KR, Garcia-Cardeña G. Endothelial dysfunction, hemodynamic forces, and atherogenesis. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 2000 May [cited 2017 Dec 6];902:230-9; discussion 239-40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10865843>
  131. Huang PL. Unraveling the Links Between Diabetes, Obesity, and Cardiovascular Disease. *Circ Res* [Internet]. 2005 Jun 10 [cited 2017 Dec 6];96(11):1129–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15947251>
  132. Kim J, Montagnani M, Koh KK, Quon MJ. Reciprocal relationships between insulin resistance and endothelial dysfunction: molecular and pathophysiological mechanisms. *Circulation* [Internet]. 2006 Apr 18 [cited 2017 Dec 11];113(15):1888–904. Available from: <http://circ.ahajournals.org/cgi/doi/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.563213>
  133. Dimmeler S, Fleming I, Fisslthaler B, Hermann C, Busse R, Zeiher AM. Activation of nitric oxide synthase in endothelial cells by Akt-dependent phosphorylation. *Nature* [Internet]. 1999 Jun 10 [cited 2017 Dec 11];399(6736):601–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10376603>
  134. Fulton D, Gratton J-P, McCabe TJ, Fontana J, Fujio Y, Walsh K, et al. Erratum: Regulation of endothelium-derived nitric oxide production by the protein kinase Akt. *Nature* [Internet]. 1999 Jun 10 [cited 2017 Dec 11];399(6736):597–601. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10376602>
  135. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. *Am J Physiol* [Internet]. 1996 Nov [cited 2017 Dec 11];271(5 Pt 1):C1424-37. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8944624>
  136. Atochin DN, Wang A, Liu VWT, Critchlow JD, Dantas AP V, Looft-Wilson R, et al. The phosphorylation state of eNOS modulates vascular reactivity and outcome of cerebral ischemia in vivo. *J Clin Invest* [Internet]. 2007 Jul 2 [cited 2017 Dec 11];117(7):1961–7. Available from: <http://www.jci.org/cgi/doi/10.1172/JCI29877>
  137. Lieske JC, de la Vega LSP, Gettman MT, Slezak JM, Bergstralh EJ, Melton LJ, et al. Diabetes Mellitus and the Risk of Urinary Tract Stones: A Population-Based Case-Control Study. *Am J Kidney Dis* [Internet]. 2006 Dec [cited 2017 Dec 11];48(6):897–904. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17162144>
  138. Pak CYC, Sakhaee K, Moe O, Preminger GM, Poindexter JR, Peterson RD, et al.

- Biochemical profile of stone-forming patients with diabetes mellitus. *Urology* [Internet]. 2003 Mar [cited 2017 Dec 11];61(3):523–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12639639>
139. Daudon M, Traxer O, Conort P, Lacour B, Jungers P. Type 2 Diabetes Increases the Risk for Uric Acid Stones. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2006 Jun 21 [cited 2017 Dec 11];17(7):2026–33. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16775030>
  140. Ekeruo WO, Tan YH, Young MD, Dahm P, Maloney ME, Mathias BJ, et al. Metabolic risk factors and the impact of medical therapy on the management of nephrolithiasis in obese patients. *J Urol* [Internet]. 2004 Jul [cited 2017 Dec 11];172(1):159–63. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022534705618393>
  141. Daudon M, Lacour B, Jungers P. Influence of body size on urinary stone composition in men and women. *Urol Res* [Internet]. 2006 Jun 11 [cited 2017 Dec 11];34(3):193–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16474948>
  142. Sakhaee K, Adams-Huet B, Moe OW, Pak CYC. Pathophysiologic basis for normouricosuric uric acid nephrolithiasis. *Kidney Int* [Internet]. 2002 Sep [cited 2017 Dec 11];62(3):971–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0085253815486338>
  143. Pak CYC, Sakhaee K, Peterson RD, Poindexter JR, Frawley WH. Biochemical profile of idiopathic uric acid nephrolithiasis. *Kidney Int* [Internet]. 2001 Aug [cited 2017 Dec 11];60(2):757–61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11473659>
  144. Pearle MS. Effect of low-carbohydrate high-protein diets on acid-base balance, stone-forming propensity, and calcium metabolism. *Int Braz J Urol* [Internet]. [cited 2017 Dec 11];28(6):571–2. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15748409>
  145. Yamashita S, Matsuzawa Y, Tokunaga K, Fujioka S, Tarui S. Studies on the impaired metabolism of uric acid in obese subjects: marked reduction of renal urate excretion and its improvement by a low-calorie diet. *Int J Obes* [Internet]. 1986 [cited 2017 Dec 11];10(4):255–64. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3771090>
  146. Powell CR, Stoller ML, Schwartz BF, Kane C, Gentle DL, Bruce JE, et al. Impact of body weight on urinary electrolytes in urinary stone formers. *Urology* [Internet]. 2000 Jun [cited 2017 Dec 11];55(6):825–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10840085>
  147. Siener R, Glatz S, Nicolay C, Hesse A. The Role of Overweight and Obesity in Calcium Oxalate Stone Formation. *Obes Res* [Internet]. 2004 Jan [cited 2017 Dec 11];12(1):106–13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14742848>
  148. Maalouf NM, Sakhaee K, Parks JH, Coe FL, Adams-Huet B, Pak CYC. Association of urinary pH with body weight in nephrolithiasis. *Kidney Int* [Internet]. 2004 Apr [cited 2017 Dec 11];65(4):1422–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15086484>
  149. Daudon M, Lacour B, Jungers P. High prevalence of uric acid calculi in diabetic stone formers. *Nephrol Dial Transplant* [Internet]. 2005 Feb 1 [cited 2017 Dec 11];20(2):468–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15673704>
  150. Cameron MA, Maalouf NM, Adams-Huet B, Moe OW, Sakhaee K. Urine composition in type 2 diabetes: predisposition to uric acid nephrolithiasis. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2006 May 1 [cited 2017 Dec 11];17(5):1422–8. Available from: <http://www.jasn.org/cgi/doi/10.1681/ASN.2005121246>
  151. Maalouf NM, Cameron MA, Moe OW, Adams-Huet B, Sakhaee K. Low urine pH: a novel

- feature of the metabolic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2007 Sep 16 [cited 2017 Dec 11];2(5):883–8. Available from: <http://cjasn.asnjournals.org/cgi/doi/10.2215/CJN.00670207>
152. Locatelli F, Pozzoni P, Del Vecchio L. Renal manifestations in the metabolic syndrome. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2006 Apr 1 [cited 2017 Dec 11];17(4 Suppl 2):S81-5. Available from: <http://www.jasn.org/cgi/doi/10.1681/ASN.2005121332>
  153. Zhang R, Liao J, Morse S, Donelon S, Reisin E. Kidney disease and the metabolic syndrome. *Am J Med Sci* [Internet]. 2005 Dec [cited 2017 Dec 11];330(6):319–25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16355017>
  154. Reaven GM. The kidney: an unwilling accomplice in syndrome X. *Am J Kidney Dis* [Internet]. 1997 Dec [cited 2017 Dec 11];30(6):928–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9398143>
  155. Facchini FS, DoNascimento C, Reaven GM, Yip JW, Ni XP, Humphreys MH. Blood pressure, sodium intake, insulin resistance, and urinary nitrate excretion. *Hypertens (Dallas, Tex 1979)* [Internet]. 1999 Apr [cited 2017 Dec 12];33(4):1008–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10205239>
  156. Facchini F, Chen YD, Hollenbeck CB, Reaven GM. Relationship between resistance to insulin-mediated glucose uptake, urinary uric acid clearance, and plasma uric acid concentration. *JAMA* [Internet]. 1991 Dec 4 [cited 2017 Dec 12];266(21):3008–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1820474>
  157. Vitolo E, Santini E, Salvati A, Volterrani D, Duce V, Bruno RM, et al. Metabolic and Hormonal Determinants of Glomerular Filtration Rate and Renal Hemodynamics in Severely Obese Individuals. *Obes Facts* [Internet]. 2016 [cited 2017 Dec 12];9(5):310–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27701167>
  158. Chen J, Muntner P, Hamm LL, Jones DW, Batuman V, Fonseca V, et al. The metabolic syndrome and chronic kidney disease in U.S. adults. *Ann Intern Med* [Internet]. 2004 Feb 3 [cited 2017 Dec 12];140(3):167–74. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14757614>
  159. Kurella M, Lo JC, Chertow GM. Metabolic syndrome and the risk for chronic kidney disease among nondiabetic adults. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2005 Jul 20 [cited 2017 Dec 12];16(7):2134–40. Available from: <http://www.jasn.org/cgi/doi/10.1681/ASN.2005010106>
  160. Krivosíková Z, Spustová V, Dzúrik R. Participation of P-dependent and P-independent glutaminases in rat kidney ammoniogenesis and their modulation by metabolic acidosis, hippurate and insulin. *Physiol Res* [Internet]. 1998 [cited 2017 Dec 12];47(3):177–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9803482>
  161. Abate N, Chandalia M, Cabo-Chan A V, Moe OW, Sakhaee K. The metabolic syndrome and uric acid nephrolithiasis: novel features of renal manifestation of insulin resistance. *Kidney Int* [Internet]. 2004 Feb [cited 2017 Dec 12];65(2):386–92. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0085253815497200>
  162. Nissim I, States B, Nissim I, Lin ZP, Yudkoff M. Hormonal regulation of glutamine metabolism by OK cells. *Kidney Int* [Internet]. 1995 Jan [cited 2017 Dec 12];47(1):96–105. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7731175>
  163. Klisic J, Hu MC, Nief V, Reyes L, Fuster D, Moe OW, et al. Insulin activates Na<sup>(+)</sup>/H<sup>(+)</sup>

- exchanger 3: biphasic response and glucocorticoid dependence. *Am J Physiol Renal Physiol* [Internet]. 2002 Sep 1 [cited 2017 Dec 12];283(3):F532-9. Available from: <http://ajprenal.physiology.org/lookup/doi/10.1152/ajprenal.00365.2001>
164. Sakhaee K, Adams-Huet B, Moe OW, Pak CYC. Pathophysiologic basis for normouricosuric uric acid nephrolithiasis. *Kidney Int* [Internet]. 2002 Sep [cited 2017 Dec 12];62(3):971-9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0085253815486338>
  165. Bobulescu IA, Maalouf NM, Capolongo G, Adams-Huet B, Rosenthal TR, Moe OW, et al. Renal ammonium excretion after an acute acid load: blunted response in uric acid stone formers but not in patients with type 2 diabetes. *AJP Ren Physiol* [Internet]. 2013 Nov 15 [cited 2017 Dec 12];305(10):F1498-503. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24026180>
  166. Tibblin G. High blood pressure in men aged 50--a population study of men born in 1913. *Acta Med Scand Suppl* [Internet]. 1967 [cited 2017 Dec 12];470:1-84. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5231221>
  167. Madore F, Stampfer MJ, Rimm EB, Curhan GC. Nephrolithiasis and risk of hypertension. *Am J Hypertens* [Internet]. 1998 Jan [cited 2017 Dec 12];11(1 Pt 1):46-53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9504449>
  168. Wexler BC, McMurtry JP. Kidney and bladder calculi in spontaneously hypertensive rats. *Br J Exp Pathol* [Internet]. 1981 Aug [cited 2017 Dec 12];62(4):369-74. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7295530>
  169. Robertson WG, Peacock M, Baker M, Marshall DH, Pearlman B, Speed R, et al. Studies on the prevalence and epidemiology of urinary stone disease in men in Leeds. *Br J Urol* [Internet]. 1983 Dec [cited 2017 Dec 12];55(6):595-8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6228282>
  170. Cirillo M, Laurenzi M. Elevated blood pressure and positive history of kidney stones: results from a population-based study. *J Hypertens Suppl* [Internet]. 1988 Dec [cited 2017 Dec 12];6(4):S485-6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3241240>
  171. Borghi L, Meschi T, Guerra A, Briganti A, Schianchi T, Allegri F, et al. Essential arterial hypertension and stone disease. *Kidney Int* [Internet]. 1999 Jun [cited 2017 Dec 12];55(6):2397-406. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0085253815462027>
  172. Hess B, Ackermann D, Essig M, Takkinen R, Jaeger P. Renal mass and serum calcitriol in male idiopathic calcium renal stone formers: role of protein intake. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 1995 Jun [cited 2017 Dec 12];80(6):1916-21. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem.80.6.7775641>
  173. Cappuccio FP, Strazzullo P, Mancini M. Kidney stones and hypertension: population based study of an independent clinical association. *BMJ* [Internet]. 1990 May 12 [cited 2017 Dec 12];300(6734):1234-6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2354291>
  174. McCarron DA, Pingree PA, Rubin RJ, Gaucher SM, Molitch M, Krutzik S. Enhanced parathyroid function in essential hypertension: a homeostatic response to a urinary calcium leak. *Hypertens (Dallas, Tex 1979)* [Internet]. [cited 2017 Dec 12];2(2):162-8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7380520>
  175. Taylor EN, Mount DB, Forman JP, Curhan GC. Association of prevalent hypertension with

- 24-hour urinary excretion of calcium, citrate, and other factors. *Am J Kidney Dis* [Internet]. 2006 May [cited 2017 Dec 12];47(5):780–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0272638606001259>
176. Losito A, Nunzi EG, Covarelli C, Nunzi E, Ferrara G. Increased acid excretion in kidney stone formers with essential hypertension. *Nephrol Dial Transplant* [Internet]. 2009 Jan 6 [cited 2017 Dec 12];24(1):137–41. Available from: <https://academic.oup.com/ndt/article-lookup/doi/10.1093/ndt/gfn468>
  177. Lemann J, Piering WF, Lennon EJ, Kelly OA, Brock J. Possible role of carbohydrate-induced calciuria in calcium oxalate kidney-stone formation. *N Engl J Med* [Internet]. 1969 Jan 30 [cited 2017 Dec 17];280(5):232–7. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM196901302800502>
  178. Wood RJ, Allen LH. Evidence for insulin involvement in arginine- and glucose-induced hypercalciuria in the rat. *J Nutr* [Internet]. 1983 Aug [cited 2017 Dec 17];113(8):1561–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6348222>
  179. Kerstetter J, Caballero B, O'Brien K, Wurtman R, Allen L. Mineral homeostasis in obesity: effects of euglycemic hyperinsulinemia. *Metabolism* [Internet]. 1991 Jul [cited 2017 Dec 17];40(7):707–13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1870424>
  180. Shimamoto K, Higashiura K, Nakagawa M, Masuda A, Shiiki M, Miyazaki Y, et al. Effects of hyperinsulinemia under the euglycemic condition on calcium and phosphate metabolism in non-obese normotensive subjects. *Tohoku J Exp Med* [Internet]. 1995 Dec [cited 2017 Dec 17];177(4):271–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8928187>
  181. Nowicki M, Kokot F, Surdacki A. The influence of hyperinsulinaemia on calcium-phosphate metabolism in renal failure. *Nephrol Dial Transplant* [Internet]. 1998 Oct [cited 2017 Dec 17];13(10):2566–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9794561>
  182. Rumenapf G, Schmidtler J, Schwille PO. Intestinal calcium absorption during hyperinsulinemic euglycemic glucose clamp in healthy humans. *Calcif Tissue Int* [Internet]. 1990 Feb [cited 2017 Dec 17];46(2):73–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2105152>
  183. Maalouf NM, Sakhaee K, Parks JH, Coe FL, Adams-Huet B, Pak CYC. Association of urinary pH with body weight in nephrolithiasis. *Kidney Int* [Internet]. 2004 Apr [cited 2017 Dec 17];65(4):1422–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15086484>
  184. Powell CR, Stoller ML, Schwartz BF, Kane C, Gentle DL, Bruce JE, et al. Impact of body weight on urinary electrolytes in urinary stone formers. *Urology* [Internet]. 2000 Jun [cited 2017 Dec 17];55(6):825–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10840085>
  185. Cupisti A, Meola M, D'Alessandro C, Bernabini G, Pasquali E, Carpi A, et al. Insulin resistance and low urinary citrate excretion in calcium stone formers. *Biomed Pharmacother* [Internet]. 2007 Jan [cited 2017 Dec 17];61(1):86–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17184967>
  186. Rochira V, Balestrieri A, Madeo B, Zirilli L, Granata ARM, Carani C. Osteoporosis and male age-related hypogonadism: role of sex steroids on bone (patho)physiology. *Eur J Endocrinol* [Internet]. 2006 Feb 1 [cited 2017 Dec 17];154(2):175–85. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16452530>

187. Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. *Am J Med* [Internet]. 1993 Jun [cited 2017 Dec 17];94(6):646–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8506892>
188. Orwoll ES, Klein RF. Osteoporosis in men. *Endocr Rev* [Internet]. 1995 Feb [cited 2017 Dec 17];16(1):87–116. Available from: <https://academic.oup.com/edrv/article-lookup/doi/10.1210/edrv-16-1-87>
189. Bilezikian JP. Osteoporosis in men. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 1999 Oct [cited 2017 Dec 17];84(10):3431–4. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem.84.10.6060>
190. Center JR, Nguyen T V, Schneider D, Sambrook PN, Eisman JA. Mortality after all major types of osteoporotic fracture in men and women: an observational study. *Lancet* (London, England) [Internet]. 1999 Mar 13 [cited 2017 Dec 17];353(9156):878–82. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673698090758>
191. Seeman E. Pathogenesis of bone fragility in women and men. *Lancet* [Internet]. 2002 May 25 [cited 2017 Dec 17];359(9320):1841–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12044392>
192. Seeman E, Delmas PD. Bone Quality — The Material and Structural Basis of Bone Strength and Fragility. *N Engl J Med* [Internet]. 2006 May 25 [cited 2017 Dec 17];354(21):2250–61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16723616>
193. Duan Y, Beck TJ, Wang X-F, Seeman E. Structural and biomechanical basis of sexual dimorphism in femoral neck fragility has its origins in growth and aging. *J Bone Miner Res* [Internet]. 2003 Oct 1 [cited 2017 Dec 17];18(10):1766–74. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1359/jbmr.2003.18.10.1766>
194. Riggs BL, Melton LJ, Robb RA, Camp JJ, Atkinson EJ, Peterson JM, et al. Population-Based Study of Age and Sex Differences in Bone Volumetric Density, Size, Geometry, and Structure at Different Skeletal Sites. *J Bone Miner Res* [Internet]. 2004 Sep 20 [cited 2017 Dec 18];19(12):1945–54. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1359/jbmr.040916>
195. Riggs BL, Khosla S, Melton LJ. A unitary model for involutional osteoporosis: estrogen deficiency causes both type I and type II osteoporosis in postmenopausal women and contributes to bone loss in aging men. *J Bone Miner Res* [Internet]. 1998 May 1 [cited 2017 Dec 18];13(5):763–73. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1359/jbmr.1998.13.5.763>
196. Slemenda CW, Longcope C, Zhou L, Hui SL, Peacock M, Johnston CC. Sex steroids and bone mass in older men. Positive associations with serum estrogens and negative associations with androgens. *J Clin Invest* [Internet]. 1997 Oct 1 [cited 2017 Dec 18];100(7):1755–9. Available from: <http://www.jci.org/articles/view/119701>
197. Khosla S, Melton LJ, Atkinson EJ, O’Fallon WM, Klee GG, Riggs BL. Relationship of serum sex steroid levels and bone turnover markers with bone mineral density in men and women: a key role for bioavailable estrogen. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 1998 Jul [cited 2017 Dec 18];83(7):2266–74. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem.83.7.4924>
198. Kenny AM, Prestwood KM, Marcello KM, Raisz LG. Determinants of bone density in healthy older men with low testosterone levels. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* [Internet]. 2000 Sep [cited 2017 Dec 18];55(9):M492-7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10995046>

199. Scopacasa F, Horowitz M, Wishart JM, Morris HA, Chatterton BE, Need AG. The relation between bone density, free androgen index, and estradiol in men 60 to 70 years old. *Bone* [Internet]. 2000 Jul [cited 2017 Dec 18];27(1):145–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10865222>
200. Amin S, Zhang Y, Sawin CT, Evans SR, Hannan MT, Kiel DP, et al. Association of hypogonadism and estradiol levels with bone mineral density in elderly men from the Framingham study. *Ann Intern Med* [Internet]. 2000 Dec 19 [cited 2017 Dec 18];133(12):951–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11119396>
201. Khosla S, Melton LJ, Riggs BL. Estrogens and bone health in men. *Calcif Tissue Int* [Internet]. 2001 Oct [cited 2017 Dec 18];69(4):189–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11730247>
202. Khosla S, Melton LJ, Atkinson EJ, O’Fallon WM. Relationship of serum sex steroid levels to longitudinal changes in bone density in young versus elderly men. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2001 Aug [cited 2017 Dec 18];86(8):3555–61. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem.86.8.7736>
203. Faustini-Fustini M, Rochira V, Carani C. Oestrogen deficiency in men: where are we today? *Eur J Endocrinol* [Internet]. 1999 Feb [cited 2017 Dec 18];140(2):111–29. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10069654>
204. Rochira V, Balestrieri A, Faustini-Fustini M, Carani C. Role of estrogen on bone in the human male: insights from the natural models of congenital estrogen deficiency. *Mol Cell Endocrinol* [Internet]. 2001 Jun 10 [cited 2017 Dec 18];178(1–2):215–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11403912>
205. Harman SM, Metter EJ, Tobin JD, Pearson J, Blackman MR, Baltimore Longitudinal Study of Aging. Longitudinal effects of aging on serum total and free testosterone levels in healthy men. Baltimore Longitudinal Study of Aging. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2001 Feb [cited 2017 Dec 18];86(2):724–31. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem.86.2.7219>
206. Feldman HA, Longcope C, Derby CA, Johannes CB, Araujo AB, Coviello AD, et al. Age trends in the level of serum testosterone and other hormones in middle-aged men: longitudinal results from the Massachusetts male aging study. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2002 Feb [cited 2017 Dec 18];87(2):589–98. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem.87.2.8201>
207. Carani C, Qin K, Simoni M, Faustini-Fustini M, Serpente S, Boyd J, et al. Effect of testosterone and estradiol in a man with aromatase deficiency. *N Engl J Med* [Internet]. 1997 Jul 10 [cited 2017 Dec 18];337(2):91–5. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM199707103370204>
208. Fuss M, Pepersack T, Van Geel J, Corvilain J, Vandewalle JC, Bergmann P, et al. Involvement of low-calcium diet in the reduced bone mineral content of idiopathic renal stone formers. *Calcif Tissue Int* [Internet]. 1990 Jan [cited 2017 Dec 18];46(1):9–13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2104775>
209. Jaeger P, Lippuner K, Casez JP, Hess B, Ackermann D, Hug C. Low bone mass in idiopathic renal stone formers: magnitude and significance. *J Bone Miner Res* [Internet]. 1994 Oct 3 [cited 2017 Dec 18];9(10):1525–32. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/jbmr.5650091004>
210. Penido M-GMG, Lima EM, Marino VSP, Tupinambá A-LF, França A, Souto MFO. Bone

- alterations in children with idiopathic hypercalciuria at the time of diagnosis. *Pediatr Nephrol* [Internet]. 2003 Feb [cited 2017 Dec 18];18(2):133–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12579402>
211. Barkin J, Wilson DR, Manuel MA, Bayley A, Murray T, Harrison J. Bone mineral content in idiopathic calcium nephrolithiasis. *Miner Electrolyte Metab* [Internet]. 1985 [cited 2017 Dec 18];11(1):19–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3974535>
  212. Pietschmann F, Breslau NA, Pak CY. Reduced vertebral bone density in hypercalciuric nephrolithiasis. *J Bone Miner Res* [Internet]. 1992 Dec 3 [cited 2017 Dec 26];7(12):1383–8. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/jbmr.5650071205>
  213. Fuss M, Gillet C, Simon J, Vandewalle JC, Schoutens A, Bergmann P. Bone mineral content in idiopathic renal stone disease and in primary hyperparathyroidism. *Eur Urol* [Internet]. 1983 [cited 2017 Dec 26];9(1):32–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6822240>
  214. Pacifici R, Rothstein M, Rifas L, Lau KH, Baylink DJ, Avioli L V, et al. Increased monocyte interleukin-1 activity and decreased vertebral bone density in patients with fasting idiopathic hypercalciuria. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 1990 Jul [cited 2017 Dec 26];71(1):138–45. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem-71-1-138>
  215. Heilberg IP, Martini LA, Szejnfeld VL, Carvalho AB, Draibe SA, Ajzen H, et al. Bone disease in calcium stone forming patients. *Clin Nephrol* [Internet]. 1994 Sep [cited 2017 Dec 26];42(3):175–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7994936>
  216. Thorleifsson G, Holm H, Edvardsson V, Walters GB, Styrkarsdottir U, Gudbjartsson DF, et al. Sequence variants in the CLDN14 gene associate with kidney stones and bone mineral density. *Nat Genet* [Internet]. 2009 Aug 28 [cited 2017 Dec 26];41(8):926–30. Available from: <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/ng.404>
  217. Hess B, Ackermann D, Essig M, Takkinen R, Jaeger P. Renal mass and serum calcitriol in male idiopathic calcium renal stone formers: role of protein intake. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 1995 Jun [cited 2017 Dec 26];80(6):1916–21. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem.80.6.7775641>
  218. Borghi L, Schianchi T, Meschi T, Guerra A, Allegri F, Maggiore U, et al. Comparison of two diets for the prevention of recurrent stones in idiopathic hypercalciuria. *N Engl J Med* [Internet]. 2002 Jan 10 [cited 2017 Dec 26];346(2):77–84. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMoa010369>
  219. Jaeger P, Lippuner K, Casez JP, Hess B, Ackermann D, Hug C. Low bone mass in idiopathic renal stone formers: magnitude and significance. *J Bone Miner Res* [Internet]. 1994 Oct 3 [cited 2017 Dec 26];9(10):1525–32. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/jbmr.5650091004>
  220. Frings-Meuthen P, Baecker N, Heer M. Low-grade metabolic acidosis may be the cause of sodium chloride-induced exaggerated bone resorption. *J Bone Miner Res* [Internet]. 2008 Apr 3 [cited 2017 Dec 26];23(4):517–24. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1359/jbmr.071118>
  221. Frick KK, Jiang L, Bushinsky DA. Acute metabolic acidosis inhibits the induction of osteoblastic egr-1 and type 1 collagen. *Am J Physiol* [Internet]. 1997 May [cited 2017 Dec 26];272(5 Pt 1):C1450–6. Available from: <http://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpcell.1997.272.5.C1450>

222. Frick KK, Bushinsky DA. In vitro metabolic and respiratory acidosis selectively inhibit osteoblastic matrix gene expression. *Am J Physiol* [Internet]. 1999 Nov [cited 2017 Dec 26];277(5 Pt 2):F750-5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10564238>
223. Reed BY, Heller HJ, Gitomer WL, Pak CY. Mapping a gene defect in absorptive hypercalciuria to chromosome 1q23.3-q24. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 1999 Nov [cited 2017 Dec 26];84(11):3907-13. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem.84.11.6155>
224. Ichikawa S, Koller DL, Curry LR, Lai D, Xuei X, Edenberg HJ, et al. Association of adenylate cyclase 10 (ADCY10) polymorphisms and bone mineral density in healthy adults. *Calcif Tissue Int* [Internet]. 2009 Feb 18 [cited 2017 Dec 26];84(2):97-102. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00223-008-9200-z>
225. Lloyd SE, Pearce SH, Fisher SE, Steinmeyer K, Schwappach B, Scheinman SJ, et al. A common molecular basis for three inherited kidney stone diseases. *Nature* [Internet]. 1996 Feb 1 [cited 2017 Dec 26];379(6564):445-9. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/379445a0>
226. INSOGNA KL, BROADUS AE, DREYER BE, ELLISON AF, GERTNER JM. Elevated Production Rate of 1,25-Dihydroxyvitamin D in Patients with Absorptive Hypercalciuria\*. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 1985 Sep [cited 2017 Dec 26];61(3):490-5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2991323>
227. Favus MJ, Karnauskas AJ, Parks JH, Coe FL. Peripheral blood monocyte vitamin D receptor levels are elevated in patients with idiopathic hypercalciuria. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2004 Oct [cited 2017 Dec 26];89(10):4937-43. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2004-0412>
228. Raisz LG, Kream BE, Smith MD, Simmons HA. Comparison of the effects of vitamin D metabolites on collagen synthesis and resorption of fetal rat bone in organ culture. *Calcif Tissue Int* [Internet]. 1980 [cited 2017 Dec 26];32(2):135-8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6773630>
229. Mundy GR, Boyce B, Hughes D, Wright K, Bonewald L, Dallas S, et al. The effects of cytokines and growth factors on osteoblastic cells. *Bone* [Internet]. 1995 Aug [cited 2017 Dec 26];17(2 Suppl):71S-75S. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8579902>
230. Gomes SA, dos Reis LM, Noronha IL, Jorgetti V, Heilberg IP. RANKL is a mediator of bone resorption in idiopathic hypercalciuria. *Clin J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2008 Sep 30 [cited 2017 Dec 26];3(5):1446-52. Available from: <http://cjasn.asnjournals.org/cgi/doi/10.2215/CJN.00240108>
231. Vega D, Maalouf NM, Sakhae K. CLINICAL Review #: the role of receptor activator of nuclear factor-kappaB (RANK)/RANK ligand/osteoprotegerin: clinical implications. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2007 Dec [cited 2017 Dec 26];92(12):4514-21. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2007-0646>
232. Siggelkow H, Eidner T, Lehmann G, Viereck V, Raddatz D, Munzel U, et al. Cytokines, osteoprotegerin, and RANKL in vitro and histomorphometric indices of bone turnover in patients with different bone diseases. *J Bone Miner Res* [Internet]. 2003 Mar 1 [cited 2017 Dec 26];18(3):529-38. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1359/jbmr.2003.18.3.529>

233. Asplin JR, Bauer KA, Kinder J, Müller G, Coe BJ, Parks JH, et al. Bone mineral density and urine calcium excretion among subjects with and without nephrolithiasis. *Kidney Int* [Internet]. 2003 Feb [cited 2017 Dec 28];63(2):662–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0085253815489203>
234. Tugcu V, Ozbek E, Aras B, Ozbay B, Islim F, Tasci AI. Bone mineral density measurement in patients with recurrent normocalciuric calcium stone disease. *Urol Res* [Internet]. 2007 Feb 9 [cited 2017 Dec 28];35(1):29–34. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00240-006-0074-0>
235. Tasca A, Cacciola A, Ferrarese P, Ioverno E, Visonà E, Bernardi C, et al. Bone alterations in patients with idiopathic hypercalciuria and calcium nephrolithiasis. *Urology* [Internet]. 2002 Jun [cited 2017 Dec 28];59(6):865–9; discussion 869. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12031370>
236. Caudarella R, Vescini F, Buffa A, Sinicropi G, Rizzoli E, La Manna G, et al. Bone mass loss in calcium stone disease: focus on hypercalciuria and metabolic factors. *J Nephrol* [Internet]. [cited 2017 Dec 28];16(2):260–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12768074>
237. Cvijetic S, Füredi-Milhofer H, Babic-Ivancic V, Tucak A, Galic J, Dekanic-Ozegovic D. Bone mineral density loss in patients with urolithiasis: a follow-up study. *Arch Med Res* [Internet]. [cited 2017 Dec 28];33(2):152–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11886714>
238. Arrabal-Polo MA, Arrabal-Martin M, Girón-Prieto MS, Poyatos-Andujar A, Garrido-Gomez J, Zuluaga-Gomez A, et al. Osteopenia/osteoporosis in patients with calcium nephrolithiasis. *Urol Res* [Internet]. 2012 Dec 12 [cited 2017 Dec 28];40(6):709–16. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00240-012-0497-8>
239. Tsuji H, Umekawa T, Kurita T, Uemura H, Iguchi M, Kin K, et al. Analysis of bone mineral density in urolithiasis patients. *Int J Urol* [Internet]. 2005 Apr [cited 2017 Dec 28];12(4):335–9. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1442-2042.2005.01049.x>
240. Kanis JA, Oden A, Johnell O, Jonsson B, de Laet C, Dawson A. The burden of osteoporotic fractures: a method for setting intervention thresholds. *Osteoporos Int* [Internet]. 2001 May 1 [cited 2017 Dec 28];12(5):417–27. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s001980170112>
241. Sernbo I, Johnell O. Consequences of a hip fracture: a prospective study over 1 year. *Osteoporos Int* [Internet]. 1993 May [cited 2017 Dec 28];3(3):148–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8481591>
242. Jaeger P, Lippuner K, Casez JP, Hess B, Ackermann D, Hug C. Low bone mass in idiopathic renal stone formers: magnitude and significance. *J Bone Miner Res* [Internet]. 1994 Oct 3 [cited 2017 Dec 28];9(10):1525–32. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/jbmr.5650091004>
243. Heilberg IP, Martini LA, Szejnfeld VL, Carvalho AB, Draibe SA, Ajzen H, et al. Bone disease in calcium stone forming patients. *Clin Nephrol* [Internet]. 1994 Sep [cited 2017 Dec 28];42(3):175–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7994936>
244. Fuss M, Pepersack T, Van Geel J, Corvilain J, Vandewalle JC, Bergmann P, et al. Involvement of low-calcium diet in the reduced bone mineral content of idiopathic renal stone formers. *Calcif Tissue Int* [Internet]. 1990 Jan [cited 2018 Jan 6];46(1):9–13.

Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2104775>

245. Trinchieri A, Nespoli R, Ostini F, Rovera F, Zanetti G, Pisani E. A study of dietary calcium and other nutrients in idiopathic renal calcium stone formers with low bone mineral content. *J Urol* [Internet]. 1998 Mar [cited 2018 Jan 6];159(3):654–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9474119>
246. Melton LJ, Atkinson EJ, O'Fallon WM, Wahner HW, Riggs BL. Long-term fracture prediction by bone mineral assessed at different skeletal sites. *J Bone Miner Res* [Internet]. 1993 Oct 3 [cited 2018 Jan 6];8(10):1227–33. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/jbmr.5650081010>
247. Black DM, Cummings SR, Genant HK, Nevitt MC, Palermo L, Browner W. Axial and appendicular bone density predict fractures in older women. *J Bone Miner Res* [Internet]. 1992 Jun 3 [cited 2018 Jan 6];7(6):633–8. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/jbmr.5650070607>
248. Melton LJ, Crowson CS, Khosla S, Wilson DM, O'Fallon WM. Fracture risk among patients with urolithiasis: a population-based cohort study. *Kidney Int* [Internet]. 1998 Feb [cited 2018 Jan 6];53(2):459–64. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S008525381560415X>
249. Sowers MR, Jannausch M, Wood C, Pope SK, Lachance LL, Peterson B. Prevalence of renal stones in a population-based study with dietary calcium, oxalate, and medication exposures. *Am J Epidemiol* [Internet]. 1998 May 15 [cited 2018 Jan 6];147(10):914–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9596469>
250. Bushinsky DA, Neumann KJ, Asplin J, Krieger NS. Alendronate decreases urine calcium and supersaturation in genetic hypercalciuric rats. *Kidney Int* [Internet]. 1999 Jan [cited 2018 Jan 6];55(1):234–43. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0085253815309789>
251. Heller HJ, Zerwekh JE, Gottschalk FA, Pak CYC. Reduced bone formation and relatively increased bone resorption in absorptive hypercalciuria. *Kidney Int* [Internet]. 2007 Apr [cited 2018 Jan 6];71(8):808–15. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0085253815524630>
252. Weisinger JR, Alonzo E, Machado C, Carlini R, Martinis R, Paz-Martínez V, et al. [Role of bones in the physiopathology of idiopathic hypercalciuria: effect of amino-bisphosphonate alendronate]. *Medicina (B Aires)* [Internet]. 1997 [cited 2018 Jan 6];57 Suppl 1:45–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9567354>
253. Arrabal-Polo MA, Arias-Santiago S, de Haro-Muñoz T, Lopez-Ruiz A, Orgaz-Molina J, Gonzalez-Torres S, et al. Effects of Aminobisphosphonates and Thiazides in Patients With Osteopenia/Osteoporosis, Hypercalciuria, and Recurring Renal Calcium Lithiasis. *Urology* [Internet]. 2013 Apr [cited 2018 Jan 6];81(4):731–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23375914>
254. Shane E. Evolving data about subtrochanteric fractures and bisphosphonates. *N Engl J Med* [Internet]. 2010 May 13 [cited 2018 Jan 6];362(19):1825–7. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMe1003064>
255. Moyano MJ, Gómez de Tejada MJ, García Lozano R, Moruno R, Ortega R, Martí V, et al. [Alterations in bone mineral metabolism in patients with calcium kidney stone disease and polymorphism of vitamin D receptor. Preliminary results]. *Nefrologia* [Internet]. 2007 [cited 2018 Jan 6];27(6):694–703. Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18336098>

256. Arrabal-Polo MA, Arrabal-Martin M, Girón-Prieto MS, Poyatos-Andujar A, Garrido-Gomez J, Zuluaga-Gomez A, et al. Osteopenia/osteoporosis in patients with calcium nephrolithiasis. *Urol Res* [Internet]. 2012 Dec 12 [cited 2018 Jan 6];40(6):709–16. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00240-012-0497-8>
257. Tasca A, Cacciola A, Ferrarese P, Ioverno E, Visonà E, Bernardi C, et al. Bone alterations in patients with idiopathic hypercalciuria and calcium nephrolithiasis. *Urology* [Internet]. 2002 Jun [cited 2018 Jan 6];59(6):865–9; discussion 869. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12031370>
258. Caudarella R, Vescini F, Buffa A, Sinicropi G, Rizzoli E, La Manna G, et al. Bone mass loss in calcium stone disease: focus on hypercalciuria and metabolic factors. *J Nephrol* [Internet]. [cited 2018 Jan 6];16(2):260–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12768074>
259. Arrabal-Polo MA, Arrabal-Martin M, de Haro-Munoz T, Lopez-Leon VM, Merino-Salas S, Ochoa-Hortal MA, et al. Mineral density and bone remodelling markers in patients with calcium lithiasis. *BJU Int* [Internet]. 2011 Dec [cited 2018 Jan 6];108(11):1903–8; discussion 1908. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1464-410X.2011.10167.x>
260. Letavernier E, Traxer O, Daudon M, Tligui M, Hubert-Brierre J, Guerrot D, et al. Determinants of osteopenia in male renal-stone-disease patients with idiopathic hypercalciuria. *Clin J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2011 May 1 [cited 2018 Jan 6];6(5):1149–54. Available from: <http://cjasn.asnjournals.org/cgi/doi/10.2215/CJN.10191110>
261. Arrabal-Polo MA, Arrabal-Martin M, Poyatos-Andujar A, Cardenas-Grande E, Merino-Salas S, Zuluaga-Gomez A. Is the fasting calcium/creatinine a bone resorption marker in patients with calcium renal stones? *Urol Res* [Internet]. 2012 Jun 4 [cited 2018 Jan 6];40(3):243–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22138794>
262. Jones AN, Shafer MM, Keuler NS, Crone EM, Hansen KE. Fasting and postprandial spot urine calcium-to-creatinine ratios do not detect hypercalciuria. *Osteoporos Int* [Internet]. 2012 Feb 24 [cited 2018 Jan 6];23(2):553–62. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00198-011-1580-7>
263. Arrabal-Polo MÁ, del Carmen Cano-García M, Arrabal-Martín M. [The fasting calcium/creatinine ratio in patients with calcium stones and the relation with hypercalciuria and phosphocalcium metabolism]. *Arch Esp Urol* [Internet]. 2016 Apr [cited 2018 Jan 6];69(3):117–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27068369>
264. Höbarth K, Hofbauer J. Value of routine citrate analysis and calcium/citrate ratio in calcium urolithiasis. *Eur Urol* [Internet]. 1991 [cited 2018 Jan 6];19(2):165–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2022221>
265. Caudarella R, Vescini F, Buffa A, Stefoni S. Citrate and mineral metabolism: kidney stones and bone disease. *Front Biosci* [Internet]. 2003 Sep 1 [cited 2018 Jan 6];8:s1084-106. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12957820>
266. Arrabal-Polo MA, Arrabal-Martin M, Arias-Santiago S, Garrido-Gomez J, De Haro-Muñoz T De, Zuluaga-Gomez A. Metabolic-mineral study in patients with renal calcium lithiasis, severe lithogenic activity and loss of bone mineral density. *Singapore Med J* [Internet].

- 2012 Dec [cited 2018 Jan 7];53(12):808–13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23268154>
267. Meeta, Digumarti L, Agarwal N, Vaze N, Shah R, Malik S. Clinical practice guidelines on menopause: An executive summary and recommendations. *J Midlife Health* [Internet]. 2013 Apr [cited 2018 Jan 7];4(2):77–106. Available from: <http://www.jmidlifehealth.org/text.asp?2013/4/2/77/115290>
268. Nguyen ND, Eisman JA, Center JR, Nguyen T V. Risk Factors for Fracture in Nonosteoporotic Men and Women. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2007 Mar [cited 2018 Jan 7];92(3):955–62. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17164302>
269. Ambroszkiewicz J, Gajewska J, Rowicka G, Klemarczyk W, Chelchowska M. Assessment of Biochemical Bone Turnover Markers and Bone Mineral Density in Thin and Normal-Weight Children. *Cartilage* [Internet]. 2017 Jan 9 [cited 2018 Jan 7];194760351668614. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29156943>
270. Mattioli-Belmonte M, Kyriakidou K, Lucarini G, Gorrieri O, Giavaresi G, Fini M, et al. Cell dynamics in the correct control of bone metabolism using natural treatments. *Int J Artif Organs* [Internet]. 2005 Dec [cited 2018 Jan 7];28(12):1259–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16404703>
271. Garnero P, Vergnaud P, Hoyle N. Evaluation of a fully automated serum assay for total N-terminal propeptide of type I collagen in postmenopausal osteoporosis. *Clin Chem* [Internet]. 2008 Jan 16 [cited 2018 Jan 7];54(1):188–96. Available from: <http://www.clinchem.org/cgi/doi/10.1373/clinchem.2007.094953>
272. Brandt J, Krogh TN, Jensen CH, Frederiksen JK, Teisner B. Thermal instability of the trimeric structure of the N-terminal propeptide of human procollagen type I in relation to assay technology. *Clin Chem* [Internet]. 1999 Jan [cited 2018 Jan 7];45(1):47–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9895337>
273. Stinson RA, Hamilton BA. Human liver plasma membranes contain an enzyme activity that removes membrane anchor from alkaline phosphatase and converts it to a plasma-like form. *Clin Biochem* [Internet]. 1994 Feb [cited 2018 Jan 7];27(1):49–55. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8200115>
274. Brown JP, Delmas PD, Malaval L, Edouard C, Chapuy MC, Meunier PJ. Serum bone Gla-protein: a specific marker for bone formation in postmenopausal osteoporosis. *Lancet (London, England)* [Internet]. 1984 May 19 [cited 2018 Jan 8];1(8386):1091–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6144827>
275. Vergnaud P, Garnero P, Meunier PJ, Bréart G, Kamihagi K, Delmas PD. Undercarboxylated osteocalcin measured with a specific immunoassay predicts hip fracture in elderly women: the EPIDOS Study. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 1997 Mar [cited 2018 Jan 8];82(3):719–24. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem.82.3.3805>
276. Clemens TL, Karsenty G. The osteoblast: an insulin target cell controlling glucose homeostasis. *J Bone Miner Res* [Internet]. 2011 Apr [cited 2018 Jan 8];26(4):677–80. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/jbmr.321>
277. Garnero P, Bauer DC, Mareau E, Bilezikian JP, Greenspan SL, Rosen C, et al. Effects of PTH and alendronate on type I collagen isomerization in postmenopausal women with osteoporosis: the PaTH study. *J Bone Miner Res* [Internet]. 2008 Sep 21 [cited 2018 Jan

- 8];23(9):1442–8. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1359/jbmr.080413>
278. Hannon R, Eastell R. Preanalytical variability of biochemical markers of bone turnover. *Osteoporos Int* [Internet]. 2000 [cited 2018 Jan 8];11 Suppl 6:S30-44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11193238>
  279. Clowes JA, Hannon RA, Yap TS, Hoyle NR, Blumsohn A, Eastell R. Effect of feeding on bone turnover markers and its impact on biological variability of measurements. *Bone* [Internet]. 2002 Jun [cited 2018 Jan 8];30(6):886–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12052458>
  280. Garnero P, Ferreras M, Karsdal MA, Nicamhlaobh R, Risteli J, Borel O, et al. The type I collagen fragments ICTP and CTX reveal distinct enzymatic pathways of bone collagen degradation. *J Bone Miner Res* [Internet]. 2003 May 1 [cited 2018 Jan 8];18(5):859–67. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1359/jbmr.2003.18.5.859>
  281. Baxter I, Rogers A, Eastell R, Peel N. Evaluation of urinary N-telopeptide of type I collagen measurements in the management of osteoporosis in clinical practice. *Osteoporos Int* [Internet]. 2013 Mar 8 [cited 2018 Jan 8];24(3):941–7. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00198-012-2097-4>
  282. Robins SP, Woitge H, Hesley R, Ju J, Seyedin S, Seibel MJ. Direct, enzyme-linked immunoassay for urinary deoxypyridinoline as a specific marker for measuring bone resorption. *J Bone Miner Res* [Internet]. 1994 Oct 3 [cited 2018 Jan 8];9(10):1643–9. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/jbmr.5650091019>
  283. Halleen JM, Alatalo SL, Janckila AJ, Woitge HW, Seibel MJ, Väänänen HK. Serum tartrate-resistant acid phosphatase 5b is a specific and sensitive marker of bone resorption. *Clin Chem* [Internet]. 2001 Mar [cited 2018 Jan 9];47(3):597–600. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11238321>
  284. Hannon R, Blumsohn A, Naylor K, Eastell R. Response of biochemical markers of bone turnover to hormone replacement therapy: impact of biological variability. *J Bone Miner Res* [Internet]. 1998 Jul 1 [cited 2018 Jan 9];13(7):1124–33. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1359/jbmr.1998.13.7.1124>
  285. Yasui T, Fujita K, Sasaki S, Sato M, Sugimoto M, Hirota S, et al. Expression of bone matrix proteins in urolithiasis model rats. *Urol Res* [Internet]. 1999 Aug [cited 2018 Jan 9];27(4):255–61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10460895>
  286. Arrabal-Polo MA, Arrabal-Martin M, de Haro-Munoz T, Lopez-Leon VM, Merino-Salas S, Ochoa-Hortal MA, et al. Mineral density and bone remodelling markers in patients with calcium lithiasis. *BJU Int* [Internet]. 2011 Dec [cited 2018 Jan 11];108(11):1903–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21554525>
  287. García-Nieto V, Ferrández C, Monge M, de Sequera M, Rodrigo MD. Bone mineral density in pediatric patients with idiopathic hypercalciuria. *Pediatr Nephrol* [Internet]. 1997 Oct [cited 2018 Jan 11];11(5):578–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9323283>
  288. Popa SM, Clifton DK, Steiner RA. The role of kisspeptins and GPR54 in the neuroendocrine regulation of reproduction. *Annu Rev Physiol* [Internet]. 2008 Mar [cited 2018 Jan 22];70(1):213–38. Available from: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.physiol.70.113006.100540>
  289. Layman LC. Hypogonadotropic hypogonadism. *Endocrinol Metab Clin North Am*

- [Internet]. 2007 Jun [cited 2018 Jan 22];36(2):283–96. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0889852907000278>
290. Araujo AB, O'Donnell AB, Brambilla DJ, Simpson WB, Longcope C, Matsumoto AM, et al. Prevalence and incidence of androgen deficiency in middle-aged and older men: estimates from the Massachusetts Male Aging Study. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2004 Dec [cited 2018 Jan 22];89(12):5920–6. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2003-031719>
  291. Darby E, Anawalt BD. Male hypogonadism : an update on diagnosis and treatment. *Treat Endocrinol* [Internet]. 2005 [cited 2018 Jan 22];4(5):293–309. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16185098>
  292. Zitzmann M, Nieschlag E. Hormone substitution in male hypogonadism. *Mol Cell Endocrinol* [Internet]. 2000 Mar 30 [cited 2018 Jan 22];161(1–2):73–88. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10773395>
  293. Han TS, Bouloux PMG. What is the optimal therapy for young males with hypogonadotropic hypogonadism? *Clin Endocrinol (Oxf)* [Internet]. 2010 Jun 11 [cited 2018 Jan 22];72(6):731–7. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2265.2009.03746.x>
  294. Hayes FJ, Seminara SB, Crowley WF. Hypogonadotropic hypogonadism. *Endocrinol Metab Clin North Am* [Internet]. 1998 Dec [cited 2018 Jan 22];27(4):739–63, vii. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9922906>
  295. Bianco SDC, Kaiser UB. The genetic and molecular basis of idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. *Nat Rev Endocrinol* [Internet]. 2009 Oct 25 [cited 2018 Jan 22];5(9):569–76. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19707180>
  296. Shores MM, Matsumoto AM, Sloan KL, Kivlahan DR. Low serum testosterone and mortality in male veterans. *Arch Intern Med* [Internet]. 2006 Aug 14 [cited 2018 Jan 23];166(15):1660–5. Available from: <http://archinte.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/archinte.166.15.1660>
  297. Laaksonen DE, Niskanen L, Punnonen K, Nyysönen K, Tuomainen T-P, Valkonen V-P, et al. Testosterone and sex hormone-binding globulin predict the metabolic syndrome and diabetes in middle-aged men. *Diabetes Care* [Internet]. 2004 May [cited 2018 Jan 23];27(5):1036–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15111517>
  298. Kupelian V, Hayes FJ, Link CL, Rosen R, McKinlay JB. Inverse association of testosterone and the metabolic syndrome in men is consistent across race and ethnic groups. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2008 Sep [cited 2018 Jan 23];93(9):3403–10. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2008-0054>
  299. Wu FCW, Tajar A, Beynon JM, Pye SR, Silman AJ, Finn JD, et al. Identification of Late-Onset Hypogonadism in Middle-Aged and Elderly Men. *N Engl J Med* [Internet]. 2010 Jul 8 [cited 2018 Jan 23];363(2):123–35. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20554979>
  300. Morley JE. Androgens and aging. *Maturitas* [Internet]. 2001 Feb 28 [cited 2018 Jan 23];38(1):61-71; discussion 71-3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11311591>
  301. Morales A, Buvat J, Gooren LJ, Guay AT, Kaufman J-M, Tan HM, et al. Endocrine aspects of sexual dysfunction in men. *J Sex Med* [Internet]. 2004 Jul [cited 2018 Jan 23];1(1):69–

81. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1743609515300485>
302. Morley JE, Perry HM. Androgen deficiency in aging men. *Med Clin North Am* [Internet]. 1999 Sep [cited 2018 Jan 23];83(5):1279–89, vii. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10503065>
303. Vermeulen A. Andropause. *Maturitas* [Internet]. 2000 Jan 15 [cited 2018 Jan 23];34(1):5–15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10687877>
304. Morales A, Heaton JP, Carson CC. Andropause: a misnomer for a true clinical entity. *J Urol* [Internet]. 2000 Mar [cited 2018 Jan 23];163(3):705–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10687961>
305. Tsujimura A, Matsumiya K, Matsuoka Y, Takahashi T, Koga M, Iwasa A, et al. Bioavailable testosterone with age and erectile dysfunction. *J Urol* [Internet]. 2003 Dec [cited 2018 Jan 23];170(6 Pt 1):2345–7. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022534705628406>
306. Anker SD, Chua TP, Ponikowski P, Harrington D, Swan JW, Kox WJ, et al. Hormonal changes and catabolic/anabolic imbalance in chronic heart failure and their importance for cardiac cachexia. *Circulation* [Internet]. 1997 Jul 15 [cited 2018 Jan 23];96(2):526–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9244221>
307. Maggio M, Lauretani F, Ceda GP, Bandinelli S, Ling SM, Metter EJ, et al. Relationship between low levels of anabolic hormones and 6-year mortality in older men: the aging in the Chianti Area (InCHIANTI) study. *Arch Intern Med* [Internet]. 2007 Nov 12 [cited 2018 Jan 23];167(20):2249–54. Available from: <http://archinte.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/archinte.167.20.2249>
308. Kupelian V, Hayes FJ, Link CL, Rosen R, McKinlay JB. Inverse Association of Testosterone and the Metabolic Syndrome in Men Is Consistent across Race and Ethnic Groups. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2008 Sep [cited 2018 Jan 24];93(9):3403–10. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2008-0054>
309. Vermeulen A, Kaufman JM. Diagnosis of hypogonadism in the aging male. *Aging Male* [Internet]. 2002 Sep [cited 2018 Jan 24];5(3):170–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12471777>
310. Nieschlag E, Swerdloff R, Behre HM, Gooren LJ, Kaufman JM, Legros J-J, et al. Investigation, Treatment, and Monitoring of Late-Onset Hypogonadism in Males: ISA, ISSAM, and EAU Recommendations. *J Androl* [Internet]. 2006 Mar 1 [cited 2018 Jan 24];27(2):135–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16474020>
311. Gapstur SM, Gann PH, Kopp P, Colangelo L, Longcope C, Liu K. Serum androgen concentrations in young men: a longitudinal analysis of associations with age, obesity, and race. The CARDIA male hormone study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. 2002 Oct [cited 2018 Jan 24];11(10 Pt 1):1041–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12376505>
312. Wu AH, Whittemore AS, Kolonel LN, John EM, Gallagher RP, West DW, et al. Serum androgens and sex hormone-binding globulins in relation to lifestyle factors in older African-American, white, and Asian men in the United States and Canada. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* [Internet]. [cited 2018 Jan 29];4(7):735–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8672990>
313. Haffner SM, Karhapää P, Mykkänen L, Laakso M. Insulin resistance, body fat distribution,

- and sex hormones in men. *Diabetes* [Internet]. 1994 Feb [cited 2018 Jan 29];43(2):212–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8288045>
314. Bojesen A, Kristensen K, Birkebaek NH, Fedder J, Mosekilde L, Bennett P, et al. The metabolic syndrome is frequent in Klinefelter’s syndrome and is associated with abdominal obesity and hypogonadism. *Diabetes Care* [Internet]. 2006 Jul 1 [cited 2018 Jan 29];29(7):1591–8. Available from: <http://care.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/dc06-0145>
  315. Abate N, Haffner SM, Garg A, Peshock RM, Grundy SM. Sex steroid hormones, upper body obesity, and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2002 Oct [cited 2018 Jan 29];87(10):4522–7. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2002-020567>
  316. Xu X, De Pergola G, Björntorp P. The effects of androgens on the regulation of lipolysis in adipose precursor cells. *Endocrinology* [Internet]. 1990 Feb [cited 2018 Jan 29];126(2):1229–34. Available from: <https://academic.oup.com/endo/article-lookup/doi/10.1210/endo-126-2-1229>
  317. Mårin P, Holmäng S, Jönsson L, Sjöström L, Kvist H, Holm G, et al. The effects of testosterone treatment on body composition and metabolism in middle-aged obese men. *Int J Obes Relat Metab Disord* [Internet]. 1992 Dec [cited 2018 Jan 29];16(12):991–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1335979>
  318. Braga-Basaria M, Dobs AS, Muller DC, Carducci MA, John M, Egan J, et al. Metabolic Syndrome in Men With Prostate Cancer Undergoing Long-Term Androgen-Deprivation Therapy. *J Clin Oncol* [Internet]. 2006 Aug 20 [cited 2018 Jan 29];24(24):3979–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16921050>
  319. GLASS AR, SWERDLOFF RS, BRAY GA, DAHMS WT, ATKINSON RL. Low Serum Testosterone and Sex-Hormone-Binding-Globulin in Massively Obese Men. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 1977 Dec [cited 2018 Jan 30];45(6):1211–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/338622>
  320. Kley HK, Solbach HG, McKinnan JC, Krüskemper HL. Testosterone decrease and oestrogen increase in male patients with obesity. *Acta Endocrinol (Copenh)* [Internet]. 1979 Jul [cited 2018 Jan 30];91(3):553–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/573040>
  321. Folsom AR, Jacobs DR, Wagenknecht LE, Winkhart SP, Yunis C, Hilner JE, et al. Increase in fasting insulin and glucose over seven years with increasing weight and inactivity of young adults. The CARDIA Study. *Coronary Artery Risk Development in Young Adults*. *Am J Epidemiol* [Internet]. 1996 Aug 1 [cited 2018 Jan 30];144(3):235–46. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8686692>
  322. Plymate SR, Matej LA, Jones RE, Friedl KE. Inhibition of sex hormone-binding globulin production in the human hepatoma (Hep G2) cell line by insulin and prolactin. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 1988 Sep [cited 2018 Jan 30];67(3):460–4. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem-67-3-460>
  323. Pugeat M, Crave JC, Elmidani M, Nicolas MH, Garoscio-Cholet M, Lejeune H, et al. Pathophysiology of sex hormone binding globulin (SHBG): relation to insulin. *J Steroid Biochem Mol Biol* [Internet]. 1991 [cited 2018 Jan 30];40(4–6):841–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1958579>
  324. Stellato RK, Feldman HA, Hamdy O, Horton ES, McKinlay JB. Testosterone, sex hormone-

- binding globulin, and the development of type 2 diabetes in middle-aged men: prospective results from the Massachusetts male aging study. *Diabetes Care* [Internet]. 2000 Apr [cited 2018 Jan 30];23(4):490–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10857940>
325. Birkeland KI, Hanssen KF, Torjesen PA, Vaaler S. Level of sex hormone-binding globulin is positively correlated with insulin sensitivity in men with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 1993 Feb [cited 2018 Jan 30];76(2):275–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8432768>
  326. Isidori AM, Caprio M, Strollo F, Moretti C, Frajese G, Isidori A, et al. Leptin and androgens in male obesity: evidence for leptin contribution to reduced androgen levels. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 1999 Oct [cited 2018 Jan 30];84(10):3673–80. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem.84.10.6082>
  327. Caprio M, Isidori AM, Carta AR, Moretti C, Dufau ML, Fabbri A. Expression of Functional Leptin Receptors in Rodent Leydig Cells<sup>1</sup>. *Endocrinology* [Internet]. 1999 Nov [cited 2018 Jan 30];140(11):4939–47. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10537117>
  328. Schneider G, Kirschner MA, Berkowitz R, Ertel NH. Increased estrogen production in obese men. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 1979 Apr [cited 2018 Jan 30];48(4):633–8. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem-48-4-633>
  329. Holmäng A, Björntorp P. The effects of testosterone on insulin sensitivity in male rats. *Acta Physiol Scand* [Internet]. 1992 Dec [cited 2018 Jan 30];146(4):505–10. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1748-1716.1992.tb09452.x>
  330. Tsai EC, Matsumoto AM, Fujimoto WY, Boyko EJ. Association of bioavailable, free, and total testosterone with insulin resistance: influence of sex hormone-binding globulin and body fat. *Diabetes Care* [Internet]. 2004 Apr [cited 2018 Jan 30];27(4):861–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15047639>
  331. Pitteloud N, Mootha VK, Dwyer AA, Hardin M, Lee H, Eriksson K-F, et al. Relationship between testosterone levels, insulin sensitivity, and mitochondrial function in men. *Diabetes Care* [Internet]. 2005 Jul [cited 2018 Jan 30];28(7):1636–42. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15983313>
  332. Tibblin G, Adlerberth A, Lindstedt G, Björntorp P. The pituitary-gonadal axis and health in elderly men: a study of men born in 1913. *Diabetes* [Internet]. 1996 Nov [cited 2018 Jan 30];45(11):1605–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8866567>
  333. Laaksonen DE, Niskanen L, Punnonen K, Nyssönen K, Tuomainen T-P, Valkonen V-P, et al. Testosterone and sex hormone-binding globulin predict the metabolic syndrome and diabetes in middle-aged men. *Diabetes Care* [Internet]. 2004 May [cited 2018 Jan 30];27(5):1036–41. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15111517>
  334. Kupelian V, Page ST, Araujo AB, Travison TG, Bremner WJ, McKinlay JB. Low sex hormone-binding globulin, total testosterone, and symptomatic androgen deficiency are associated with development of the metabolic syndrome in nonobese men. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2006 Mar [cited 2018 Jan 30];91(3):843–50. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2005-1326>
  335. Khaw K-T, Dowsett M, Folkard E, Bingham S, Wareham N, Luben R, et al. Endogenous Testosterone and Mortality Due to All Causes, Cardiovascular Disease, and Cancer in

- Men: European Prospective Investigation Into Cancer in Norfolk (EPIC-Norfolk) Prospective Population Study. *Circulation* [Internet]. 2007 Dec 4 [cited 2018 Jan 30];116(23):2694–701. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18040028>
336. Laughlin GA, Barrett-Connor E, Bergstrom J. Low Serum Testosterone and Mortality in Older Men. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2008 Jan [cited 2018 Jan 30];93(1):68–75. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17911176>
  337. Wu FCW, Tajar A, Pye SR, Silman AJ, Finn JD, O'Neill TW, et al. Hypothalamic-Pituitary-Testicular Axis Disruptions in Older Men Are Differentially Linked to Age and Modifiable Risk Factors: The European Male Aging Study. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2008 Jul [cited 2018 Feb 1];93(7):2737–45. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18270261>
  338. Yeap BB, Chubb SAP, Hyde Z, Jamrozik K, Hankey GJ, Flicker L, et al. Lower serum testosterone is independently associated with insulin resistance in non-diabetic older men: the Health In Men Study. *Eur J Endocrinol* [Internet]. 2009 Oct 1 [cited 2018 Feb 1];161(4):591–8. Available from: <http://www.eje-online.org/cgi/doi/10.1530/EJE-09-0348>
  339. Pitteloud N, Hardin M, Dwyer AA, Valassi E, Yialamas M, Elahi D, et al. Increasing insulin resistance is associated with a decrease in Leydig cell testosterone secretion in men. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2005 May [cited 2018 Feb 1];90(5):2636–41. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2004-2190>
  340. Grossmann M, Thomas MC, Panagiotopoulos S, Sharpe K, Macisaac RJ, Clarke S, et al. Low testosterone levels are common and associated with insulin resistance in men with diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2008 May [cited 2018 Feb 1];93(5):1834–40. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2007-2177>
  341. Kapoor D, Goodwin E, Channer KS, Jones TH. Testosterone replacement therapy improves insulin resistance, glycaemic control, visceral adiposity and hypercholesterolaemia in hypogonadal men with type 2 diabetes. *Eur J Endocrinol* [Internet]. 2006 Jun 1 [cited 2018 Feb 1];154(6):899–906. Available from: <http://www.eje-online.org/cgi/doi/10.1530/eje.1.02166>
  342. Bojesen A, Juul S, Birkebaek N, Gravholt CH. Increased mortality in Klinefelter syndrome. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2004 Aug [cited 2018 Feb 1];89(8):3830–4. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2004-0777>
  343. Bojesen A, Kristensen K, Birkebaek NH, Fedder J, Mosekilde L, Bennett P, et al. The metabolic syndrome is frequent in Klinefelter's syndrome and is associated with abdominal obesity and hypogonadism. *Diabetes Care* [Internet]. 2006 Jul 1 [cited 2018 Feb 1];29(7):1591–8. Available from: <http://care.diabetesjournals.org/cgi/doi/10.2337/dc06-0145>
  344. Bojesen A, Høst C, Gravholt CH. Klinefelter's syndrome, type 2 diabetes and the metabolic syndrome: the impact of body composition. *Mol Hum Reprod* [Internet]. 2010 Jun 1 [cited 2018 Feb 1];16(6):396–401. Available from: <https://academic.oup.com/molehr/article-lookup/doi/10.1093/molehr/gaq016>
  345. Basaria S, Muller DC, Carducci MA, Egan J, Dobs AS. Hyperglycemia and insulin resistance in men with prostate carcinoma who receive androgen-deprivation therapy. *Cancer* [Internet]. 2006 Feb 1 [cited 2018 Feb 1];106(3):581–8. Available from:

<http://doi.wiley.com/10.1002/cncr.21642>

346. Basaria S. Androgen deprivation therapy, insulin resistance, and cardiovascular mortality: an inconvenient truth. *J Androl* [Internet]. 2008 Apr 17 [cited 2018 Feb 1];29(5):534–9. Available from: <http://doi.wiley.com/10.2164/jandrol.108.005454>
347. Shahani S, Braga-Basaria M, Basaria S. Androgen deprivation therapy in prostate cancer and metabolic risk for atherosclerosis. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2008 Jun [cited 2018 Feb 1];93(6):2042–9. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2007-2595>
348. Pasquali R, Casimirri F, De lasio R, Mesini P, Boschi S, Chierici R, et al. Insulin regulates testosterone and sex hormone-binding globulin concentrations in adult normal weight and obese men. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 1995 Feb [cited 2018 Feb 1];80(2):654–8. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem.80.2.7852532>
349. Khaw KT, Barrett-Connor E. Blood pressure and endogenous testosterone in men: an inverse relationship. *J Hypertens* [Internet]. 1988 Apr [cited 2018 Feb 4];6(4):329–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3379300>
350. Lindholm J, Winkel P, Brodthagen U, Gyntelberg F. Coronary risk factors and plasma sex hormones. *Am J Med* [Internet]. 1982 Nov [cited 2018 Feb 4];73(5):648–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6890309>
351. Bonithon-Kopp C, Scarabin PY, Bara L, Castanier M, Jacqueson A, Roger M. Relationship between sex hormones and haemostatic factors in healthy middle-aged men. *Atherosclerosis* [Internet]. 1988 May [cited 2018 Feb 4];71(1):71–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3377881>
352. Zmuda JM, Cauley JA, Kriska A, Glynn NW, Gutai JP, Kuller LH. Longitudinal relation between endogenous testosterone and cardiovascular disease risk factors in middle-aged men. A 13-year follow-up of former Multiple Risk Factor Intervention Trial participants. *Am J Epidemiol* [Internet]. 1997 Oct 15 [cited 2018 Feb 4];146(8):609–17. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9345114>
353. Svartberg J, von Mühlen D, Schirmer H, Barrett-Connor E, Sundfjord J, Jorde R. Association of endogenous testosterone with blood pressure and left ventricular mass in men. The Tromsø Study. *Eur J Endocrinol* [Internet]. 2004 Jan [cited 2018 Feb 4];150(1):65–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14713281>
354. Endre T, Mattiasson I, Berglund G, Hulthén UL. Low testosterone and insulin resistance in hypertension-prone men. *J Hum Hypertens* [Internet]. 1996 Nov [cited 2018 Feb 4];10(11):755–61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9004106>
355. Pandey KN, Oliver PM, Maeda N, Smithies O. Hypertension associated with decreased testosterone levels in natriuretic peptide receptor-A gene-knockout and gene-duplicated mutant mouse models. *Endocrinology* [Internet]. 1999 Nov [cited 2018 Feb 4];140(11):5112–9. Available from: <https://academic.oup.com/endo/article-lookup/doi/10.1210/endo.140.11.7121>
356. Yue P, Chatterjee K, Beale C, Poole-Wilson PA, Collins P. Testosterone relaxes rabbit coronary arteries and aorta. *Circulation* [Internet]. 1995 Feb 15 [cited 2018 Feb 4];91(4):1154–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7850954>
357. Costarella CE, Stallone JN, Rutecki GW, Whittier FC. Testosterone causes direct relaxation

- of rat thoracic aorta. *J Pharmacol Exp Ther* [Internet]. 1996 Apr [cited 2018 Feb 4];277(1):34–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8613939>
358. Webb CM, Adamson DL, de Zeigler D, Collins P. Effect of acute testosterone on myocardial ischemia in men with coronary artery disease. *Am J Cardiol* [Internet]. 1999 Feb 1 [cited 2018 Feb 4];83(3):437–9, A9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10072236>
  359. Smith JC, Bennett S, Evans LM, Kynaston HG, Parmar M, Mason MD, et al. The effects of induced hypogonadism on arterial stiffness, body composition, and metabolic parameters in males with prostate cancer. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2001 Sep [cited 2018 Feb 4];86(9):4261–7. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem.86.9.7851>
  360. Corona G, Mannucci E, Ricca V, Lotti F, Boddi V, Bandini E, et al. The age-related decline of testosterone is associated with different specific symptoms and signs in patients with sexual dysfunction. *Int J Androl* [Internet]. 2009 Dec [cited 2018 Feb 4];32(6):720–8. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2605.2009.00952.x>
  361. Braga-Basaria M, Dobs AS, Muller DC, Carducci MA, John M, Egan J, et al. Metabolic Syndrome in Men With Prostate Cancer Undergoing Long-Term Androgen-Deprivation Therapy. *J Clin Oncol* [Internet]. 2006 Aug 20 [cited 2018 Feb 4];24(24):3979–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16921050>
  362. Laaksonen DE, Niskanen L, Punnonen K, Nyysönen K, Tuomainen T-P, Salonen R, et al. Sex hormones, inflammation and the metabolic syndrome: a population-based study. *Eur J Endocrinol* [Internet]. 2003 Dec [cited 2018 Feb 4];149(6):601–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14641004>
  363. Phillips GB, Jing T, Heymsfield SB. Relationships in men of sex hormones, insulin, adiposity, and risk factors for myocardial infarction. *Metabolism* [Internet]. 2003 Jun [cited 2018 Feb 4];52(6):784–90. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12800107>
  364. Tuck SP, Francis RM. Testosterone, bone and osteoporosis. *Front Horm Res* [Internet]. 2009 [cited 2018 Feb 4];37:123–32. Available from: <https://www.karger.com/Article/FullText/176049>
  365. Leder BZ, LeBlanc KM, Schoenfeld DA, Eastell R, Finkelstein JS. Differential effects of androgens and estrogens on bone turnover in normal men. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2003 Jan [cited 2018 Feb 4];88(1):204–10. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2002-021036>
  366. Hofbauer LC, Khosla S. Androgen effects on bone metabolism: recent progress and controversies. *Eur J Endocrinol* [Internet]. 1999 Apr [cited 2018 Feb 4];140(4):271–86. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10097244>
  367. Huber DM, Bendixen AC, Pathrose P, Srivastava S, Dienger KM, Shevde NK, et al. Androgens suppress osteoclast formation induced by RANKL and macrophage-colony stimulating factor. *Endocrinology* [Internet]. 2001 Sep [cited 2018 Feb 4];142(9):3800–8. Available from: <https://academic.oup.com/endo/article-lookup/doi/10.1210/endo.142.9.8402>
  368. Vanderschueren D, Laurent MR, Claessens F, Gielen E, Lagerquist MK, Vandeput L, et al. Sex steroid actions in male bone. *Endocr Rev* [Internet]. 2014 Dec [cited 2018 Feb 4];35(6):906–60. Available from: <https://academic.oup.com/edrv/article->

lookup/doi/10.1210/er.2014-1024

369. Torjesen PA, Sandnes L. Serum testosterone in women as measured by an automated immunoassay and a RIA. *Clin Chem* [Internet]. 2004 Mar 1 [cited 2018 Feb 4];50(3):678; author reply 678-9. Available from: <http://www.clinchem.org/cgi/doi/10.1373/clinchem.2003.027565>
370. Phillip M, Maor G, Assa S, Silbergeld A, Segev Y. Testosterone stimulates growth of tibial epiphyseal growth plate and insulin-like growth factor-1 receptor abundance in hypophysectomized and castrated rats. *Endocrine* [Internet]. 2001 Oct [cited 2018 Feb 4];16(1):1–6. Available from: <http://link.springer.com/10.1385/ENDO:16:1:01>
371. Ren SG, Malozowski S, Sanchez P, Sweet DE, Loriaux DL, Cassorla F. Direct administration of testosterone increases rat tibial epiphyseal growth plate width. *Acta Endocrinol (Copenh)* [Internet]. 1989 Sep [cited 2018 Feb 4];121(3):401–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2800918>
372. Gennari L, Nuti R, Bilezikian JP. Aromatase activity and bone homeostasis in men. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2004 Dec [cited 2018 Feb 4];89(12):5898–907. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2004-1717>
373. Khosla S, Melton LJ, Riggs BL. Clinical review 144: Estrogen and the male skeleton. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2002 Apr [cited 2018 Feb 4];87(4):1443–50. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem.87.4.8417>
374. Carani C, Qin K, Simoni M, Faustini-Fustini M, Serpente S, Boyd J, et al. Effect of testosterone and estradiol in a man with aromatase deficiency. *N Engl J Med* [Internet]. 1997 Jul 10 [cited 2018 Feb 4];337(2):91–5. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM199707103370204>
375. Braidman IP, Hainey L, Batra G, Selby PL, Saunders PT, Hoyland JA. Localization of estrogen receptor beta protein expression in adult human bone. *J Bone Miner Res* [Internet]. 2001 Feb 1 [cited 2018 Feb 4];16(2):214–20. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1359/jbmr.2001.16.2.214>
376. Gruber R, Czerwenka K, Wolf F, Ho GM, Willheim M, Peterlik M. Expression of the vitamin D receptor, of estrogen and thyroid hormone receptor alpha- and beta-isoforms, and of the androgen receptor in cultures of native mouse bone marrow and of stromal/osteoblastic cells. *Bone* [Internet]. 1999 May [cited 2018 Feb 4];24(5):465–73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10321906>
377. van der Eerden BCJ, van Til NP, Brinkmann AO, Lowik CWGM, Wit JM, Karperien M. Gender differences in expression of androgen receptor in tibial growth plate and metaphyseal bone of the rat. *Bone* [Internet]. 2002 Jun [cited 2018 Feb 4];30(6):891–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12052459>
378. Carrascosa A, Audi L, Ferrandez MA, Ballabriga A. Biological effects of androgens and identification of specific dihydrotestosterone-binding sites in cultured human fetal epiphyseal chondrocytes. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 1990 Jan [cited 2018 Feb 4];70(1):134–40. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem-70-1-134>
379. Ben-Hur H, Thole HH, Mashiah A, Insler V, Berman V, Shezen E, et al. Estrogen, progesterone and testosterone receptors in human fetal cartilaginous tissue: immunohistochemical studies. *Calcif Tissue Int* [Internet]. 1997 Jun [cited 2018 Feb 4];60(6):520–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9164826>

380. Bord S, Horner A, Beavan S, Compston J. Estrogen receptors alpha and beta are differentially expressed in developing human bone. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2001 May [cited 2018 Feb 4];86(5):2309–14. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem.86.5.7513>
381. Nilsson LO, Boman A, Sävendahl L, Grigelioniene G, Ohlsson C, Ritzén EM, et al. Demonstration of estrogen receptor-beta immunoreactivity in human growth plate cartilage. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 1999 Jan [cited 2018 Feb 4];84(1):370–3. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem.84.1.5531>
382. Feng X, McDonald JM. Disorders of bone remodeling. *Annu Rev Pathol* [Internet]. 2011 Feb 28 [cited 2018 Feb 4];6(1):121–45. Available from: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-pathol-011110-130203>
383. Hadjidakis DJ, Androulakis II. Bone remodeling. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 2006 Dec 1 [cited 2018 Feb 4];1092(1):385–96. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1196/annals.1365.035>
384. Karsenty G. Transcriptional control of skeletogenesis. *Annu Rev Genomics Hum Genet* [Internet]. 2008 Sep [cited 2018 Feb 4];9(1):183–96. Available from: <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.genom.9.081307.164437>
385. Raggatt LJ, Partridge NC. Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling. *J Biol Chem* [Internet]. 2010 Aug 13 [cited 2018 Feb 4];285(33):25103–8. Available from: <http://www.jbc.org/lookup/doi/10.1074/jbc.R109.041087>
386. Corral DA, Amling M, Priemel M, Loyer E, Fuchs S, Ducy P, et al. Dissociation between bone resorption and bone formation in osteopenic transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 1998 Nov 10 [cited 2018 Feb 4];95(23):13835–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9811887>
387. Komori T, Yagi H, Nomura S, Yamaguchi A, Sasaki K, Deguchi K, et al. Targeted disruption of *Cbfa1* results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts. *Cell* [Internet]. 1997 May 30 [cited 2018 Feb 4];89(5):755–64. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9182763>
388. Colvard DS, Eriksen EF, Keeting PE, Wilson EM, Lubahn DB, French FS, et al. Identification of androgen receptors in normal human osteoblast-like cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 1989 Feb [cited 2018 Feb 4];86(3):854–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2915981>
389. Kasperk C, Helmboldt A, Börcsök I, Heuthe S, Cloos O, Niethard F, et al. Skeletal site-dependent expression of the androgen receptor in human osteoblastic cell populations. *Calcif Tissue Int* [Internet]. 1997 Dec [cited 2018 Feb 4];61(6):464–73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9383273>
390. Damien E, Price JS, Lanyon LE. Mechanical Strain Stimulates Osteoblast Proliferation Through the Estrogen Receptor in Males as Well as Females. *J Bone Miner Res* [Internet]. 2000 Nov 1 [cited 2018 Feb 4];15(11):2169–77. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11092397>
391. Almeida M, Han L, Ambrogini E, Bartell SM, Manolagas SC. Oxidative Stress Stimulates Apoptosis and Activates NF- $\kappa$ B in Osteoblastic Cells via a PKC $\beta$ /p66<sup>shc</sup> Signaling Cascade: Counter Regulation by Estrogens or Androgens. *Mol Endocrinol* [Internet]. 2010 Oct [cited 2018 Feb 4];24(10):2030–7. Available from:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20685851>

392. Keeting PE, Rifas L, Harris SA, Colvard DS, Spelsberg TC, Peck WA, et al. Evidence for interleukin-1 beta production by cultured normal human osteoblast-like cells. *J Bone Miner Res* [Internet]. 1991 Aug 3 [cited 2018 Feb 4];6(8):827–33. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/jbmr.5650060807>
393. Suda T, Takahashi N, Udagawa N, Jimi E, Gillespie MT, Martin TJ. Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families. *Endocr Rev* [Internet]. 1999 Jun [cited 2018 Feb 8];20(3):345–57. Available from: <https://academic.oup.com/edrv/article-lookup/doi/10.1210/edrv.20.3.0367>
394. Hofbauer LC, Hicok KC, Chen D, Khosla S. Regulation of osteoprotegerin production by androgens and anti-androgens in human osteoblastic lineage cells. *Eur J Endocrinol* [Internet]. 2002 Aug [cited 2018 Feb 8];147(2):269–73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12153751>
395. Clarke BL, Khosla S. Androgens and bone. *Steroids* [Internet]. 2009 Mar [cited 2018 Feb 8];74(3):296–305. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0039128X0800250X>
396. Huber DM, Bendixen AC, Pathrose P, Srivastava S, Dienger KM, Shevde NK, et al. Androgens suppress osteoclast formation induced by RANKL and macrophage-colony stimulating factor. *Endocrinology* [Internet]. 2001 Sep [cited 2018 Feb 8];142(9):3800–8. Available from: <https://academic.oup.com/endo/article-lookup/doi/10.1210/endo.142.9.8402>
397. Palumbo C. A three-dimensional ultrastructural study of osteoid-osteocytes in the tibia of chick embryos. *Cell Tissue Res* [Internet]. 1986 [cited 2018 Feb 8];246(1):125–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3779795>
398. Bonewald LF. Osteocytes as dynamic multifunctional cells. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 2007 Nov 1 [cited 2018 Feb 8];1116(1):281–90. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1196/annals.1402.018>
399. Kamioka H, Honjo T, Takano-Yamamoto T. A three-dimensional distribution of osteocyte processes revealed by the combination of confocal laser scanning microscopy and differential interference contrast microscopy. *Bone* [Internet]. 2001 Feb [cited 2018 Feb 8];28(2):145–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11182371>
400. Verborgt O, Tatton NA, Majeska RJ, Schaffler MB. Spatial distribution of Bax and Bcl-2 in osteocytes after bone fatigue: complementary roles in bone remodeling regulation? *J Bone Miner Res* [Internet]. 2002 May 1 [cited 2018 Feb 8];17(5):907–14. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1359/jbmr.2002.17.5.907>
401. Verborgt O, Gibson GJ, Schaffler MB. Loss of osteocyte integrity in association with microdamage and bone remodeling after fatigue in vivo. *J Bone Miner Res* [Internet]. 2000 Jan 1 [cited 2018 Feb 8];15(1):60–7. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1359/jbmr.2000.15.1.60>
402. Aguirre JI, Plotkin LI, Gortazar AR, Millan MM, O’Brien CA, Manolagas SC, et al. A novel ligand-independent function of the estrogen receptor is essential for osteocyte and osteoblast mechanotransduction. *J Biol Chem* [Internet]. 2007 Aug 31 [cited 2018 Feb 8];282(35):25501–8. Available from: <http://www.jbc.org/lookup/doi/10.1074/jbc.M702231200>

403. Tomkinson A, Reeve J, Shaw RW, Noble BS. The death of osteocytes via apoptosis accompanies estrogen withdrawal in human bone. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 1997 Sep [cited 2018 Feb 8];82(9):3128–35. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem.82.9.4200>
404. Kaufman JM, Johnell O, Abadie E, Adami S, Audran M, Avouac B, et al. Background for studies on the treatment of male osteoporosis: state of the art. *Ann Rheum Dis* [Internet]. 2000 Oct [cited 2018 Feb 8];59(10):765–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11005775>
405. Hannan MT, Felson DT, Anderson JJ. Bone mineral density in elderly men and women: Results from the framingham osteoporosis study. *J Bone Miner Res* [Internet]. 2009 Nov 18 [cited 2018 Feb 8];7(5):547–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1615761>
406. LeBlanc ES, Nielson CM, Marshall LM, Lapidus JA, Barrett-Connor E, Ensrud KE, et al. The effects of serum testosterone, estradiol, and sex hormone binding globulin levels on fracture risk in older men. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2009 Sep [cited 2018 Feb 15];94(9):3337–46. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2009-0206>
407. Woo J, Kwok T, Leung JCS, Ohlsson C, Vandenput L, Leung PC. Sex steroids and bone health in older Chinese men. *Osteoporos Int* [Internet]. 2012 May 12 [cited 2018 Feb 15];23(5):1553–62. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21318439>
408. Meier C, Nguyen T V, Handelsman DJ, Schindler C, Kushnir MM, Rockwood AL, et al. Endogenous sex hormones and incident fracture risk in older men: the Dubbo Osteoporosis Epidemiology Study. *Arch Intern Med* [Internet]. 2008 Jan 14 [cited 2018 Feb 15];168(1):47–54. Available from: <http://archinte.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/archinternmed.2007.2>
409. Mellström D, Vandenput L, Mallmin H, Holmberg AH, Lorentzon M, Odén A, et al. Older Men With Low Serum Estradiol and High Serum SHBG Have an Increased Risk of Fractures. *J Bone Miner Res* [Internet]. 2008 Jun 2 [cited 2018 Feb 15];23(10):1552–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18518773>
410. Khosla S, Amin S, Singh RJ, Atkinson EJ, Melton LJ, Riggs BL. Comparison of sex steroid measurements in men by immunoassay versus mass spectroscopy and relationships with cortical and trabecular volumetric bone mineral density. *Osteoporos Int* [Internet]. 2008 Oct 13 [cited 2018 Feb 17];19(10):1465–71. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00198-008-0591-5>
411. Daniell HW, Dunn SR, Ferguson DW, Lomas G, Niazi Z, Stratte PT. Progressive osteoporosis during androgen deprivation therapy for prostate cancer. *J Urol* [Internet]. 2000 Jan [cited 2018 Feb 17];163(1):181–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10604342>
412. Leder BZ, LeBlanc KM, Schoenfeld DA, Eastell R, Finkelstein JS. Differential effects of androgens and estrogens on bone turnover in normal men. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2003 Jan [cited 2018 Feb 17];88(1):204–10. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2002-021036>
413. Falahati-Nini A, Riggs BL, Atkinson EJ, O’Fallon WM, Eastell R, Khosla S. Relative contributions of testosterone and estrogen in regulating bone resorption and formation in normal elderly men. *J Clin Invest* [Internet]. 2000 Dec 15 [cited 2018 Feb 17];106(12):1553–60. Available from: <http://www.jci.org/articles/view/10942>

414. Leder BZ, Finkelstein JS. Effect of aromatase inhibition on bone metabolism in elderly hypogonadal men. *Osteoporos Int* [Internet]. 2005 Dec 23 [cited 2018 Feb 17];16(12):1487–94. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00198-005-1890-8>
415. Burnett-Bowie S-AM, McKay EA, Lee H, Leder BZ. Effects of aromatase inhibition on bone mineral density and bone turnover in older men with low testosterone levels. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2009 Dec [cited 2018 Feb 17];94(12):4785–92. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2009-0739>
416. Tracz MJ, Sideras K, Boloña ER, Haddad RM, Kennedy CC, Uruga M V, et al. Testosterone use in men and its effects on bone health. A systematic review and meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2006 Jun [cited 2018 Feb 17];91(6):2011–6. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2006-0036>
417. Huggins C, Hodges C V. Studies on prostatic cancer. I. The effect of castration, of estrogen and androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate. *CA Cancer J Clin* [Internet]. [cited 2018 Feb 17];22(4):232–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4625049>
418. Shahinian VB, Kuo Y, Freeman JL, Orihuela E, Goodwin JS. Increasing use of gonadotropin-releasing hormone agonists for the treatment of localized prostate carcinoma. *Cancer* [Internet]. 2005 Apr 15 [cited 2018 Feb 17];103(8):1615–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15742331>
419. D’Amico A V, Manola J, Loffredo M, Renshaw AA, DellaCroce A, Kantoff PW. 6-month androgen suppression plus radiation therapy vs radiation therapy alone for patients with clinically localized prostate cancer: a randomized controlled trial. *JAMA* [Internet]. 2004 Aug 18 [cited 2018 Feb 19];292(7):821–7. Available from: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.292.7.821>
420. Roach M, Bae K, Speight J, Wolkov HB, Rubin P, Lee RJ, et al. Short-term neoadjuvant androgen deprivation therapy and external-beam radiotherapy for locally advanced prostate cancer: long-term results of RTOG 8610. *J Clin Oncol* [Internet]. 2008 Feb 1 [cited 2018 Feb 19];26(4):585–91. Available from: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2007.13.9881>
421. Walsh PC. Immediate hormonal therapy compared with observation after radical prostatectomy and pelvic lymphadenectomy in men with node-positive prostate cancer. *J Urol* [Internet]. 2000 Jul [cited 2018 Feb 19];164(1):246–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10896514>
422. van Andel G, Bottomley A, Fosså SD, Efficace F, Coens C, Guerif S, et al. An international field study of the EORTC QLQ-PR25: a questionnaire for assessing the health-related quality of life of patients with prostate cancer. *Eur J Cancer* [Internet]. 2008 Nov [cited 2018 Feb 19];44(16):2418–24. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0959804908005790>
423. Shahinian VB, Kuo Y-F, Freeman JL, Goodwin JS. Risk of the “Androgen Deprivation Syndrome” in Men Receiving Androgen Deprivation for Prostate Cancer. *Arch Intern Med* [Internet]. 2006 Feb 27 [cited 2018 Feb 19];166(4):465. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16505268>
424. Alibhai SMH, Breunis H, Timilshina N, Marzouk S, Stewart D, Tannock I, et al. Impact of androgen-deprivation therapy on cognitive function in men with nonmetastatic prostate

- cancer. *J Clin Oncol* [Internet]. 2010 Dec 1 [cited 2018 Feb 19];28(34):5030–7. Available from: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2010.30.8742>
425. Joly F, Alibhai SMH, Galica J, Park A, Yi Q-L, Wagner L, et al. Impact of androgen deprivation therapy on physical and cognitive function, as well as quality of life of patients with nonmetastatic prostate cancer. *J Urol* [Internet]. 2006 Dec [cited 2018 Feb 19];176(6 Pt 1):2443–7. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002253470601932X>
  426. Cherrier MM, Aubin S, Higano CS. Cognitive and mood changes in men undergoing intermittent combined androgen blockade for non-metastatic prostate cancer. *Psychooncology* [Internet]. 2009 Mar [cited 2018 Feb 19];18(3):237–47. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/pon.1401>
  427. Sarosdy MF, Schellhammer PF, Soloway MS, Vogelzang NJ, Crawford ED, Presti J, et al. Endocrine effects, efficacy and tolerability of a 10.8-mg depot formulation of goserelin acetate administered every 13 weeks to patients with advanced prostate cancer. *BJU Int* [Internet]. 1999 May [cited 2018 Feb 19];83(7):801–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10368200>
  428. Karling P, Hammar M, Varenhorst E. Prevalence and duration of hot flushes after surgical or medical castration in men with prostatic carcinoma. *J Urol* [Internet]. 1994 Oct [cited 2018 Feb 19];152(4):1170–3. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8072086>
  429. Irani J, Salomon L, Oba R, Bouchard P, Mottet N. Efficacy of venlafaxine, medroxyprogesterone acetate, and cyproterone acetate for the treatment of vasomotor hot flushes in men taking gonadotropin-releasing hormone analogues for prostate cancer: a double-blind, randomised trial. *Lancet Oncol* [Internet]. 2010 Feb [cited 2018 Feb 19];11(2):147–54. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1470204509703389>
  430. Loprinzi CL, Dueck AC, Khojraty BS, Barton DL, Jafar S, Rowland KM, et al. A phase III randomized, double-blind, placebo-controlled trial of gabapentin in the management of hot flashes in men (N00CB). *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol* [Internet]. 2009 Mar 7 [cited 2018 Feb 19];20(3):542–9. Available from: <https://academic.oup.com/annonc/article-lookup/doi/10.1093/annonc/mdn644>
  431. Traish AM, Guay AT. Are androgens critical for penile erections in humans? Examining the clinical and preclinical evidence. *J Sex Med* [Internet]. 2006 May [cited 2018 Feb 19];3(3):382–404; discussion 404–7. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1743609515313345>
  432. Aversa A, Isidori AM, De Martino MU, Caprio M, Fabbri E, Rocchietti-March M, et al. Androgens and penile erection: evidence for a direct relationship between free testosterone and cavernous vasodilation in men with erectile dysfunction. *Clin Endocrinol (Oxf)* [Internet]. 2000 Oct [cited 2018 Feb 19];53(4):517–22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11012578>
  433. Kostis JB, Jackson G, Rosen R, Barrett-Connor E, Billups K, Burnett AL, et al. Sexual Dysfunction and Cardiac Risk (the Second Princeton Consensus Conference). *Am J Cardiol* [Internet]. 2005 Dec 26 [cited 2018 Feb 21];96(12):85–93. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16387575>
  434. Harrington JM, Schwenke DC, Epstein DR, Bailey DE. Androgen-Deprivation Therapy and Metabolic Syndrome in Men With Prostate Cancer. *Oncol Nurs Forum* [Internet]. 2014

- Jan 1 [cited 2018 Feb 21];41(1):21–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24368236>
435. Alberti KGMM, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* [Internet]. 2009 Oct 20 [cited 2018 Feb 21];120(16):1640–5. Available from: <http://circ.ahajournals.org/cgi/doi/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644>
436. Braga-Basaria M, Dobs AS, Muller DC, Carducci MA, John M, Egan J, et al. Metabolic Syndrome in Men With Prostate Cancer Undergoing Long-Term Androgen-Deprivation Therapy. *J Clin Oncol* [Internet]. 2006 Aug 20 [cited 2018 Feb 21];24(24):3979–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16921050>
437. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* [Internet]. 2001 May 16 [cited 2018 Feb 21];285(19):2486–97. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11368702>
438. Basaria S, Muller DC, Carducci MA, Egan J, Dobs AS. Hyperglycemia and insulin resistance in men with prostate carcinoma who receive androgen-deprivation therapy. *Cancer* [Internet]. 2006 Feb 1 [cited 2018 Feb 22];106(3):581–8. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/cncr.21642>
439. Smith JC, Bennett S, Evans LM, Kynaston HG, Parmar M, Mason MD, et al. The effects of induced hypogonadism on arterial stiffness, body composition, and metabolic parameters in males with prostate cancer. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2001 Sep [cited 2018 Feb 22];86(9):4261–7. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem.86.9.7851>
440. Dockery F, Bulpitt CJ, Agarwal S, Donaldson M, Rajkumar C. Testosterone suppression in men with prostate cancer leads to an increase in arterial stiffness and hyperinsulinaemia. *Clin Sci (Lond)* [Internet]. 2003 Feb 1 [cited 2018 Feb 22];104(2):195–201. Available from: <http://cs.portlandpress.com/cs/104/cs1040195.htm>
441. Montgomery RB, Mostaghel EA, Vessella R, Hess DL, Kalhorn TF, Higano CS, et al. Maintenance of intratumoral androgens in metastatic prostate cancer: a mechanism for castration-resistant tumor growth. *Cancer Res* [Internet]. 2008 Jun 1 [cited 2018 Feb 24];68(11):4447–54. Available from: <http://cancerres.aacrjournals.org/cgi/doi/10.1158/0008-5472.CAN-08-0249>
442. So A, Gleave M, Hurtado-Col A, Nelson C. Mechanisms of the development of androgen independence in prostate cancer. *World J Urol* [Internet]. 2005 Feb 27 [cited 2018 Feb 24];23(1):1–9. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00345-004-0473-1>
443. Locke JA, Guns ES, Lubik AA, Adomat HH, Hendy SC, Wood CA, et al. Androgen Levels Increase by Intratumoral De novo Steroidogenesis during Progression of Castration-Resistant Prostate Cancer. *Cancer Res* [Internet]. 2008 Aug 1 [cited 2018 Feb 24];68(15):6407–15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18676866>
444. Freedland SJ, Aronson WJ. Obesity and prostate cancer. *Urology* [Internet]. 2005 Mar [cited 2018 Feb 24];65(3):433–9. Available from:

<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0090429504009756>

445. Buschemeyer WC, Freedland SJ. Obesity and Prostate Cancer: Epidemiology and Clinical Implications. *Eur Urol* [Internet]. 2007 Aug [cited 2018 Feb 24];52(2):331–43. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17507151>
446. Cox ME, Gleave ME, Zakikhani M, Bell RH, Piura E, Vickers E, et al. Insulin receptor expression by human prostate cancers. *Prostate* [Internet]. 2009 Jan 1 [cited 2018 Feb 24];69(1):33–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18785179>
447. Hammarsten J, Högstedt B. Hyperinsulinaemia: a prospective risk factor for lethal clinical prostate cancer. *Eur J Cancer* [Internet]. 2005 Dec [cited 2018 Feb 24];41(18):2887–95. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0959804905007653>
448. Rubinow KB, Snyder CN, Amory JK, Hoofnagle AN, Page ST. Acute testosterone deprivation reduces insulin sensitivity in men. *Clin Endocrinol (Oxf)* [Internet]. 2012 Feb [cited 2018 Feb 24];76(2):281–8. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2265.2011.04189.x>
449. Smith MR, Lee H, Fallon MA, Nathan DM. Adipocytokines, obesity, and insulin resistance during combined androgen blockade for prostate cancer. *Urology* [Internet]. 2008 Feb [cited 2018 Feb 24];71(2):318–22. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0090429507020353>
450. Belfiore A, Frasca F, Pandini G, Sciacca L, Vigneri R. Insulin Receptor Isoforms and Insulin Receptor/Insulin-Like Growth Factor Receptor Hybrids in Physiology and Disease. *Endocr Rev* [Internet]. 2009 Oct [cited 2018 Feb 24];30(6):586–623. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19752219>
451. Mulholland DJ, Tran LM, Li Y, Cai H, Morim A, Wang S, et al. Cell autonomous role of PTEN in regulating castration-resistant prostate cancer growth. *Cancer Cell* [Internet]. 2011 Jun 14 [cited 2018 Feb 24];19(6):792–804. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1535610811001644>
452. Kaarbø M, Mikkelsen OL, Malerød L, Qu S, Lobert VH, Akgul G, et al. PI3K-AKT-mTOR pathway is dominant over androgen receptor signaling in prostate cancer cells. *Cell Oncol* [Internet]. 2010 [cited 2018 Feb 24];32(1–2):11–27. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20203370>
453. Courtney KD, Corcoran RB, Engelman JA. The PI3K Pathway As Drug Target in Human Cancer. *J Clin Oncol* [Internet]. 2010 Feb 20 [cited 2018 Feb 24];28(6):1075–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20085938>
454. Laughlin GA, Barrett-Connor E, Bergstrom J. Low serum testosterone and mortality in older men. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2008 Jan [cited 2018 Feb 27];93(1):68–75. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2007-1792>
455. Hak AE, Wittelman JCM, de Jong FH, Geerlings MI, Hofman A, Pols HAP. Low levels of endogenous androgens increase the risk of atherosclerosis in elderly men: the Rotterdam study. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2002 Aug [cited 2018 Feb 27];87(8):3632–9. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem.87.8.8762>
456. Wu FCW, von Eckardstein A. Androgens and coronary artery disease. *Endocr Rev* [Internet]. 2003 Apr [cited 2018 Feb 27];24(2):183–217. Available from:

<https://academic.oup.com/edrv/article-lookup/doi/10.1210/er.2001-0025>

457. Keating NL, O'Malley AJ, Freedland SJ, Smith MR. Diabetes and cardiovascular disease during androgen deprivation therapy: observational study of veterans with prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* [Internet]. 2012 Oct 3 [cited 2018 Feb 27];104(19):1518–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23210129>
458. Roach M, Bae K, Speight J, Wolkov HB, Rubin P, Lee RJ, et al. Short-term neoadjuvant androgen deprivation therapy and external-beam radiotherapy for locally advanced prostate cancer: long-term results of RTOG 8610. *J Clin Oncol* [Internet]. 2008 Feb 1 [cited 2018 Feb 27];26(4):585–91. Available from: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2007.13.9881>
459. Efsthathiou JA, Bae K, Shipley WU, Hanks GE, Pilepich M V, Sandler HM, et al. Cardiovascular mortality after androgen deprivation therapy for locally advanced prostate cancer: RTOG 85-31. *J Clin Oncol* [Internet]. 2009 Jan 1 [cited 2018 Feb 27];27(1):92–9. Available from: <http://ascopubs.org/doi/10.1200/JCO.2007.12.3752>
460. Kaufman JM, Johnell O, Abadie E, Adami S, Audran M, Avouac B, et al. Background for studies on the treatment of male osteoporosis: state of the art. *Ann Rheum Dis* [Internet]. 2000 Oct [cited 2018 Mar 1];59(10):765–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11005775>
461. Daniell HW. Osteoporosis after orchiectomy for prostate cancer. *J Urol* [Internet]. 1997 Feb [cited 2018 Mar 1];157(2):439–44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8996327>
462. Diamond T, Campbell J, Bryant C, Lynch W. The effect of combined androgen blockade on bone turnover and bone mineral densities in men treated for prostate carcinoma: longitudinal evaluation and response to intermittent cyclic etidronate therapy. *Cancer* [Internet]. 1998 Oct 15 [cited 2018 Mar 1];83(8):1561–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9781950>
463. Wei JT, Gross M, Jaffe CA, Gravlin K, Lahaie M, Faerber GJ, et al. Androgen deprivation therapy for prostate cancer results in significant loss of bone density. *Urology* [Internet]. 1999 Oct [cited 2018 Mar 1];54(4):607–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10510915>
464. Wei JT, Gross M, Jaffe CA, Gravlin K, Lahaie M, Faerber GJ, et al. Androgen deprivation therapy for prostate cancer results in significant loss of bone density. *Urology* [Internet]. 1999 Oct [cited 2018 Mar 4];54(4):607–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10510915>
465. Maillefert JF, Sibia J, Michel F, Saussine C, Javier RM, Tavernier C. Bone mineral density in men treated with synthetic gonadotropin-releasing hormone agonists for prostatic carcinoma. *J Urol* [Internet]. 1999 Apr [cited 2018 Mar 4];161(4):1219–22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10081873>
466. Stoch SA, Parker RA, Chen L, Bublely G, Ko Y-J, Vincelette A, et al. Bone Loss in Men with Prostate Cancer Treated with Gonadotropin-Releasing Hormone Agonists <sup>1</sup>. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2001 Jun [cited 2018 Mar 4];86(6):2787–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11397888>
467. Berruti A, Dogliotti L, Terrone C, Cerutti S, Isaia G, Tarabuzzi R, et al. Changes in bone mineral density, lean body mass and fat content as measured by dual energy x-ray absorptiometry in patients with prostate cancer without apparent bone metastases

- given androgen deprivation therapy. *J Urol* [Internet]. 2002 Jun [cited 2018 Mar 4];167(6):2361–7; discussion 2367. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11992038>
468. Bruder JM, Ma JZ, Basler JW, Welch MD. Prevalence of osteopenia and osteoporosis by central and peripheral bone mineral density in men with prostate cancer during androgen-deprivation therapy. *Urology* [Internet]. 2006 Jan [cited 2018 Mar 4];67(1):152–5. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0090429505010113>
  469. Kiratli BJ, Srinivas S, Perkash I, Terris MK. Progressive decrease in bone density over 10 years of androgen deprivation therapy in patients with prostate cancer. *Urology* [Internet]. 2001 Jan [cited 2018 Mar 4];57(1):127–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11164157>
  470. Diamond T, Campbell J, Bryant C, Lynch W. The effect of combined androgen blockade on bone turnover and bone mineral densities in men treated for prostate carcinoma: longitudinal evaluation and response to intermittent cyclic etidronate therapy. *Cancer* [Internet]. 1998 Oct 15 [cited 2018 Mar 5];83(8):1561–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9781950>
  471. Diamond TH, Winters J, Smith A, De Souza P, Kersley JH, Lynch WJ, et al. The antiosteoporotic efficacy of intravenous pamidronate in men with prostate carcinoma receiving combined androgen blockade: a double blind, randomized, placebo-controlled crossover study. *Cancer* [Internet]. 2001 Sep 15 [cited 2018 Mar 5];92(6):1444–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11745221>
  472. Smith MR, McGovern FJ, Zietman AL, Fallon MA, Hayden DL, Schoenfeld DA, et al. Pamidronate to Prevent Bone Loss during Androgen-Deprivation Therapy for Prostate Cancer. *N Engl J Med* [Internet]. 2001 Sep 27 [cited 2018 Mar 5];345(13):948–55. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11575286>
  473. Maillefert JF, Sibilia J, Michel F, Saussine C, Javier RM, Tavernier C. Bone mineral density in men treated with synthetic gonadotropin-releasing hormone agonists for prostatic carcinoma. *J Urol* [Internet]. 1999 Apr [cited 2018 Mar 5];161(4):1219–22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10081873>
  474. Daniell HW, Dunn SR, Ferguson DW, Lomas G, Niazi Z, Stratte PT. Progressive osteoporosis during androgen deprivation therapy for prostate cancer. *J Urol* [Internet]. 2000 Jan [cited 2018 Mar 5];163(1):181–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10604342>
  475. Mittan D, Lee S, Miller E, Perez RC, Basler JW, Bruder JM. Bone loss following hypogonadism in men with prostate cancer treated with GnRH analogs. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 2002 Aug [cited 2018 Mar 5];87(8):3656–61. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem.87.8.8782>
  476. Preston DM, Torr ns JI, Harding P, Howard RS, Duncan WE, Mcleod DG. Androgen deprivation in men with prostate cancer is associated with an increased rate of bone loss. *Prostate Cancer Prostatic Dis* [Internet]. 2002 Dec 18 [cited 2018 Mar 5];5(4):304–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12627216>
  477. Bruder JM, Ma JZ, Basler JW, Welch MD. Prevalence of osteopenia and osteoporosis by central and peripheral bone mineral density in men with prostate cancer during androgen-deprivation therapy. *Urology* [Internet]. 2006 Jan [cited 2018 Mar 5];67(1):152–5. Available from:

<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0090429505010113>

478. Clarke BL, Ebeling PR, Jones JD, Wahner HW, O'Fallon WM, Riggs BL, et al. Changes in quantitative bone histomorphometry in aging healthy men. *J Clin Endocrinol Metab* [Internet]. 1996 Jun [cited 2018 Mar 5];81(6):2264–70. Available from: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jcem.81.6.8964862>
479. Dawson NA. Bisphosphonates: their evolving role in the management of prostate cancer-related bone disease. *Curr Opin Urol* [Internet]. 2002 Sep [cited 2018 Mar 5];12(5):413–28. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12172429>
480. Winquist E, Berry S. Re: A Randomized, Placebo-Controlled Trial of Zoledronic Acid in Patients With Hormone-Refractory Metastatic Prostate Carcinoma. *JNCI J Natl Cancer Inst* [Internet]. 2004 Aug 4 [cited 2018 Mar 5];96(15):1183–1183. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15292391>
481. Singh M, Nagrath AR, Maini PS. Changes in trabecular pattern of the upper end of the femur as an index of osteoporosis. *J Bone Joint Surg Am* [Internet]. 1970 Apr [cited 2018 Mar 5];52(3):457–67. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/5425640>
482. Kiratli BJ, Srinivas S, Perkash I, Terris MK. Progressive decrease in bone density over 10 years of androgen deprivation therapy in patients with prostate cancer. *Urology* [Internet]. 2001 Jan [cited 2018 Mar 5];57(1):127–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11164157>
483. Shahinian VB, Kuo Y-F, Freeman JL, Goodwin JS. Risk of Fracture after Androgen Deprivation for Prostate Cancer. *N Engl J Med* [Internet]. 2005 Jan 13 [cited 2018 Mar 5];352(2):154–64. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15647578>
484. Shao Y-H, Moore DF, Shih W, Lin Y, Jang TL, Lu-Yao GL. Fracture after androgen deprivation therapy among men with a high baseline risk of skeletal complications. *BJU Int* [Internet]. 2013 May [cited 2018 Mar 5];111(5):745–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23331464>
485. Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 1999. *CA Cancer J Clin* [Internet]. [cited 2018 Mar 7];49(1):8–31, 1. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10200775>
486. Marzouk S, Naglie G, Tomlinson G, Duff Canning S, Breunis H, Timilshina N, et al. Impact of Androgen Deprivation Therapy on Self-reported Cognitive Function in Men with Prostate Cancer. *J Urol* [Internet]. 2018 Mar 22 [cited 2018 Mar 7]; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29477720>
487. Díaz Convalía EJ, Cano-García MDC, Miján-Ortiz JL, Arrabal-Martín M, Arrabal-Polo MÁ, Cózar-Olmo JM. Androgen deprivation therapy in prostate cancer and risk of developing renal calculi: Results of a case-control study. *Med Clin (Barc)* [Internet]. 2017 Jun 7 [cited 2018 Jul 30];148(11):495–7. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0025775317300921>
488. Diaz-Convalia E, Arrabal-Polo MA, Cano-Garcia M del C, Dominguez-Amillo A, Canales-Casco N, Arrabal-Martin M. Risk of renal stone formation in patients treated with luteinising hormone-releasing hormone analogues for prostate cancer: importance of bone metabolism and urine calcium. *Int Urol Nephrol* [Internet]. 2018 Mar 27 [cited 2018 Aug 17];50(3):419–25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29374814>
489. Diaz Convalía E.J, Arrabal Martín M, Arrabal Polo M.A, Miján Órtiz J.L, Cózar Olmo J.M.

Alteración de la excreción urinaria de calcio en pacientes sometidos a deprivación androgénica por cáncer de próstata. Resultados preliminares de un estudio piloto. Arch.Esp.Urol. 2018;71(7).