

UNIVERSIDAD DE GRANADA
FACULTAD DE FARMACIA

Departamento de Bioquímica y Biología Molecular II



*ESTUDIOS DE ASOCIACIÓN DE
POLIMORFISMOS IMPLICADOS EN LA
OSTEOPOROSIS Y SEGUIMIENTO
FARMACOTERAPÉUTICO EN PACIENTES
CON FACTORES DE RIESGO DE FRACTURAS
DE CADERA*

TESIS DOCTORAL

KAREN PAULINA ROJO VENEGAS

GRANADA, JULIO 2011

Proyecto financiado por Fundación para la Investigación Biosanitarias Andalucía
Oriental-Alejandro Otero (FIBAO).

Editor: Editorial de la Universidad de Granada
Autor: Karen Paulina Rojo Venegas
D.L.: GR 4036-2011
ISBN: 978-84-694-6114-3



UNIVERSIDAD DE GRANADA
FACULTAD DE FARMACIA

*ESTUDIOS DE ASOCIACIÓN DE
POLIMORFISMOS IMPLICADOS EN LA
OSTEOPOROSIS Y SEGUIMIENTO
FARMACOTERAPÉUTICO EN PACIENTES
CON FACTORES DE RIESGO DE FRACTURAS
DE CADERA*

TESIS DOCTORAL

AUTOR

Karen Paulina Rojo Venegas.

DIRECTORES

Margarita Aguilera Gómez.
Miguel Ángel Calleja Hernández.
Maria José Faus Dader.

Granada, Julio 2011.

*“ESTUDIOS DE ASOCIACIÓN DE POLIMORFISMOS
IMPLICADOS EN LA OSTEOPOROSIS Y SEGUIMIENTO
FARMACOTERAPÉUTICO EN PACIENTES CON FACTORES
DE RIESGO DE FRACTURAS DE CADERA”*

Tesis que presenta Doña KAREN PAULINA ROJO VENEGAS, para optar al
Grado de Doctor.



Fdo: Karen Paulina Rojo Venegas

Granada, 15 de Julio 2011.

Los Directores de tesis:

Doña Margarita Aguilera Gómez, Doctora en Farmacia, Profesora e investigadora de la Universidad de Granada y Coordinadora de la Unidad de Farmacogenética del Hospital Universitario Virgen de las Nieves;

Don Miguel Ángel Calleja Hernández, Doctor en Farmacia, Jefe del Servicio de Farmacia del Hospital Universitario Virgen de las Nieves;

Doña María José Faus Dáder, Doctora en Farmacia, Catedrática de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Granada;

Certifican que el trabajo titulado:

“ESTUDIOS DE ASOCIACIÓN DE POLIMORFISMOS IMPLICADOS EN LA OSTEOPOROSIS Y SEGUIMIENTO FARMACOTERAPÉUTICO EN PACIENTES CON FACTORES DE RIESGO DE FRACTURAS DE CADERA”.

Ha sido realizado por Doña Karen Paulina Rojo Venegas, bajo nuestra dirección, en las Unidades de Farmacogenética y Gestión Clínica (área de pacientes externos) del Servicio de Farmacia, y con la colaboración de las áreas médicas de los servicios de Traumatología y Cirugía Ortopédica y Reumatología del Hospital Universitario Virgen de las Nieves.

Este proyecto de investigación, reúne los méritos suficientes para ser defendidos ante el tribunal correspondiente y optar al grado de Doctor.

Y para que así conste, se expide en Granada a 15 de Julio del 2011.

Dra. Margarita Aguilera Gómez.

Dr. Miguel Ángel Calleja Hernández.

Dra. María José Faus Dáder.

Editor: Universidad de Granada.
Autor: Karen Paulina Rojo Venegas.
D.L.:
ISBN:

A mi esposo Luis con mucho amor...

“...Donde haya un árbol que plantar, plántalo tú. Donde haya un error que enmendar, enmiéndalo tú. Donde haya un esfuerzo que todos esquivan, hazlo tú. Sé tú el que aparta la piedra del camino...”

Gabriela Mistral.

“...Si es verdad que soy poeta por la gracia de Dios —o del demonio- también es que lo soy por la gracia de la técnica y del esfuerzo...”

Federico García Lorca.

AGRADECIMIENTOS

AGRADECIMIENTOS

Me parece haber salido de mi querido Chile y haber llegado a mi hermosa ciudad de "Grana" tan solo ayer.....

Todo comenzó en el segundo año de carrera cuando les comenté a mis dos profesores y ahora grandes amigos Dr. Contreras y Dr. Queirolo la idea de hacer un doctorado.....ellos me decían constantemente "tranquila Karen que estamos seguro que pronto harás tu doctorado ".....para mí esa frase era imposible dimensionarla temporalmente. Hasta que no me di cuenta, cuando a finales de octubre del 2007 mis colegas y amigos de la universidad: Dra. Susana Stegen, Dra. Angélica Saavedra, Dr. Víctor Kerternich, Dra. Paula Díaz, Sra Brizy y cómo no, los "luchadores del ring" Dr. Contreras y Dr. Queirolo, me prepararon una gran despedida.... Muchas gracias amigos míos por la confianza, respaldo y buen compañerismo que recibí durante mi periodo como alumna y profesora en la universidad. Muchas gracias mi queridísimo amigo Dr. Contreras por su honestidad, sabios consejos y por estar siempre a mi lado.

Mis primeros pasos en la investigación comenzaron en diciembre del 2007 cuando llegue al Servicio de Farmacia del Hospital Universitario Virgen de las Nieves. Precisamente partí en el Hospital de Traumatología donde trabajé un año. Tuve la suerte de encontrarme a la Dra. Aznarte, en ese tiempo Jefa de Servicio de Farmacia, quien me convenció e instó en trabajar con el equipo de Traumatología en las terapias de pacientes ancianos pluripatológicos. Muchas gracias "Pili" por haberme apoyado siempre personal y desinteresadamente; gracias por tus consejos; gracias por haber confiado en mi profesionalidad y haberme apoyado con tu gran experiencia y trabajo en mis primeras publicaciones. Te agradezco también el haberme destinado tu tiempo para traducirme palabras y frases "granainas" que yo anotaba en un rinconcito de los informes tras las primeras entrevista con los pacientes ancianos hospitalizados.

En septiembre del año 2008, una vez acabado mi master, decidí realizar mi tesis doctoral en una prometedora unidad que recién estaba comenzando, unidad de Farmacogenética. Era todo tan nuevo e innovador, que hasta la jefa de la unidad era una chica joven jéjéjéjé que acabada de llegar para poner en marcha muchas ideas.... Recuerdo que le presenté humildemente pero muy segura mi proyecto de tesis que llevaba bajo el brazo... Recuerdo además asegurarle que haríamos muchas cosas juntas por la unidad... Creo que le "vendí" muy bien mi proyecto jéjéjéjéjéjé, ya que han pasado más de 3 años de inolvidables, gratificantes y hermosas experiencias junto a mi querida directora de tesis Margarita. Como no recordar los primeros inicios en la genética, y haberme enseñado amistosamente el ADN, polimorfismos, técnicas, y un sin fin de habilidades y metodologías, así como también haber contribuido a mejorar mi inglés y enseñarme frases ilustres relacionadas con esta linda área de la farmacogenética tales como "putative, harmonization, validation, etc" jéjéjéjéjéjé. Marga, muchas gracias por tu confianza, amistad, y como no tus alentadores y constantes palabras de "mimos". Gracias Marga por formarme como investigadora y enseñarme que la perseverancia da buenos frutos. Marga, te agradezco enormemente el tiempo que me has dedicado día a día. No olvidaré nunca cuando constantemente nos

quedábamos terminando los proyectos, papers, presentaciones, comunicaciones, etc hasta avanzadas hora de la noche. Durante todo este tiempo que me di cuenta que mientras más estrés tiene tu cerebro, más inspiración y por lo tanto mayor éxito teníamos en los trabajos jéjéjéjéjéjéjé. Marga, he tenido mucha suerte de conocerte y que hayas sido parte en mi etapa de investigación. Estoy muy contenta y orgullosa de haber trabajado, compartido y logrado tantas cosas juntas... me siento muy capaz profesionalmente y permíteme decirte: "ooooooooooma....lo logré jéjéjéjéjéjéjé... estoy convencida que las ganas que tenemos como fieles investigadoras nos mantendrá unidas, así que nuestra historia continuará".

Gracias Miguel Ángel Calleja por acogerme en el servicio de Farmacia y creer en la investigación como una de las herramientas necesarias en el ámbito profesional farmacéutico, y contribuir con las herramientas formativas para la investigación. Agradezco personalmente la confianza puesta en mí para llevar a cabo el desarrollo de este proyecto y darme la oportunidad de participar en nuevos retos profesionales.

Agradezco al grupo de Atención Farmacéutica, específicamente a María José Faus y Fernando Martínez, por ser los pioneros en incentivar me en el mundo del seguimiento farmacoterapéutico y haberme dado la oportunidad de ser participe de su grupo de investigación, y por haber confiado en mí para impartir clases en los cursos de doctorado.

Estoy convencida de que la perseverancia y logros de mis anhelos lo he obtenido del modelo de mis padres. Gracias por darme fuerza y animarme en conseguir mis objetivos. Gracias a mis hermanos Osvaldo, Lore y Daniella por estar conmigo y protegerme a pesar de la distancia. Gracias por darme hermosos sobrinitos: Osvaldito, Daniellita, a mis gemelas Florencia y Antonia, a Sofia, a mi ahijada Gugí y por último a Maxi. Muchas gracias por darme tanta alegría, risas, locuras y satisfacción; y espero que me entiendan porque su tía Karen no estuvo en sus cumpleaños, nacimientos, bautismo, primeros pasos y demás.

A mis padrinos, y primas por estar siempre conmigo y mi familia. Gracias por ser fans de mis logros.

A mi tía-abuela Irene por cuidarme y quererme como su nieta.

A tía Norma por estar con mi familia en los momentos más duros.

A la familia Canessa, a mis queridos suegros... Gracias por el apoyo incondicional y tratarme como una hija, por darme tanto cariño, que muchas veces se traducía en la alimentación con grandes platos de comidas por el afán de verme gordita jajajajajajajajaja. A mis cuñaditos por sus celebres chistes en continuas reuniones familiares hasta alta horas de la noche....que muchas de ellas las viví a distancias por famosos llamados telefónicos de madrugada jéjéjéjé.

Agradezco de todo corazón el apoyo y el cariño que recibí durante este tiempo de aquellas personas que fueron parte de este camino. Gracias a los que hacen posible el funcionamiento del servicio de farmacia: a los adjuntos "Meri-Meri", "Pili", Estrellita, Jorge, Alberto, Gonzalo, etc. A los residentes desde R1 al R4: "Monona", "Baby Girl", "Perrita Anita", "Adela-Nuria", Elena, etc...no se olviden de la frase "que manden bala". A las administrativas: "Charí-Conchí-Carmen", M^e Angustía. A cada una de las

auxiliares y técnicos de farmacia y personal de limpieza. Estoy muy agradecida de que me hayan enseñado muchas palabras y frases de la "lengua Andaluza". Recuerden siempre muchas de las palabras y palabrotas chilenas, y que han perdurado en el servicio....así que cuando vayas a Chile no tendrán problemas para pedir una "corchetera" y buscar un "pololo" chileno o pillarse el dedo y decir "chucha", etc.

Muchas gracias a mis compañeros de la unidad de farmacogenética:...a "la doctora Marisa" por la colaboración de esas atemorizadas pero acertadas correcciones en los manuscritos; por jugar con los genes e interpretarlos como didácticos resultados de laboratorio, y por sus bienvenidas barritas de cereales de las tardes jéjéjéjé. A Clarice, Cristian, Desi, Maribel, Quique, Bárbara, Mercedes y compañeros de la unidad de EECC: Gugy, Inma, África por haber compartido conmigo similares experiencias y apoyarme en los momentos de flaqueza y alegría.

Infinitas gracias a Manuela Exposito por ayudarme en el análisis estadística de mis trabajos. Con todas las veces que me has ayudado estoy segura de que ya estás una experta en polimorfismos genéticos asociados a los huesos jéjéjéjé.

Muchas gracias al personal de enfermería de los Servicios de Traumatología, Medicina Nuclear por colaborar desinteresadamente en este estudio. Agradezco especialmente el trabajo en equipo que consolidamos junto al Dr. García y su eficiente aux. de Enfermería "Reme". Mil gracias por atender gentilmente a mis pacientes de la fundación "ONG Karen" jéjéjéjé.

Agradezco el apoyo de FIBAO por financiar mi período de investigación, congresos, cursos, etc.

A mis amigas y amigos chilenos y españoles que siempre han estado animándome en este proyecto.

De todo corazón muchas gracias por haber participado en los momentos tristes y felices de esta etapa de mi vida.

He dejado para el final quien es para mí el primero en todo, y dedicarle por completo este trabajo como pilar fundamental de mi vida...A mi esposo, amigo, compañero y cómplice de mis batallas, al hombre que me ha hecho la mujer más feliz del mundo con su inteligencia, sabiduría, honestidad y simpatía. Gracias Luis por haber creído en mis sueños y hacerme sentir un orgullo para tí. "Pejito mío" hemos sido capaces de levantarnos de las situaciones y momentos más duros, a pesar de que teníamos la barrera de grandes distancia y largos periodos tiempo separados.... Agradezco a DIOS de que nos haya unidos y fortalecido como pareja y habernos guiado por el sendero correcto.

Amor mío, sin duda alguna, en este trabajo nos hemos doctorado ambos y que el sacrificio ha valido la pena. Sin embargo, nos queda por hacer junto un segundo postgrado y el más difícil e inigualable "La familia", pero a diferencia del anterior, en esto estaremos siempre juntitos jéjéjéjéjé. Te amo mucho...

Qué increíble...el doctorado ha llegado a su fin...Aún no puedo creer haber terminado esta anhelada etapa profesional. Sin embargo, esto es el comienzo de otra etapa y ha llegado la hora de abrir nuevos caminos. Los recordaré siempre, muchas gracias a todos y por todo...

By: Karen.

ÍNDICE

ÍNDICE

Abreviaturas y Acrónimos	VII
Lista de Tablas	IX
Lista de Figuras	XI
Lista de Anexos	XIII
Otros documentos	XV
1 RESUMEN	1
2 INTRODUCCIÓN	5
2.1 GENERALIDADES DE LA FRACTURA DE CADERA	9
2.1.1 Definición: Osteoporosis	9
2.1.2 Definición: Densidad mineral ósea (DMO)	10
2.1.3 Definición: Fractura por fragilidad o fracturas osteoporóticas	10
2.1.4 Importancia de las fracturas osteoporóticas	11
2.1.5 Características de las fracturas cadera	11
2.1.6 Tipos de fractura de cadera	12
2.1.7 Epidemiología de la fractura de cadera	14
2.1.7.1 Incidencia general	14
2.1.7.2 Incidencia global en España	15
2.1.7.3 Mortalidad	15
2.1.8 Impacto asistencial de la fractura de cadera	16
2.1.9 Impacto social y económico de la fractura de cadera	17
2.1.10 Segunda fractura de cadera	18
2.1.11 Características del paciente con fracturas de cadera	18
2.2 FACTORES DE RIESGO Y ESCALA DE VALORACIÓN.....	20
2.2.1 Factores de riesgo de fractura osteoporóticas	20
2.2.1.1 Factores de riesgo no modificables	20
2.2.1.2 Factores de riesgo modificables	21
2.2.2 Factores de riesgo de caídas	22
2.2.3 Medicamentos asociados a un mayor y a menor riesgo de caídas	23
2.2.4 Escalas de valoración del riesgo de fracturas	24
2.2.4.1 Escala de Framo	24
2.2.4.2 Escala de Black	24
2.2.4.3 Escala Women`s Health Initiative (WHI).....	25
2.2.4.4 Escala Fracture Risk Calculator	26
2.2.4.5 Escala de Fracture Risk Assessment tool (FRAX)	26
2.3 TRATAMIENTO DE LA OSTEOPOROSIS Y PREVENCIÓN DE FRACTURAS	29
2.3.1 Determinación diagnóstica específica para de la DMO en cadera.....	29
2.3.2 Tratamientos de las fracturas osteoporóticas.....	31
2.3.2.1 Medidas generales en el tratamiento de la osteoporosis y fracturas osteoporóticas. 31	
2.3.2.2 Medidas no farmacológicas	31
2.3.2.3 Medidas farmacológicas. Fármacos que afectan la calcificación y el recambio óseo: Calcio, Vitamina D, Antirresortivos, Anabólicos	32
2.3.2.4 Nuevas dianas Terapéuticas. Terapias antirresortivas: Denosumab, Odanacatib y Saracatinib	36
2.3.3 Tratamientos farmacológico en la prevención primaria y secundaria de fracturas de cadera	39
2.3.4 Duración del tratamiento farmacológico con bisfosfonatos	40
2.3.5 Razones de la diferente incidencia de osteoporosis en mujer y hombre	40
2.3.6 Tratamiento eficaz para la fractura de cadera en hombres.....	41

2.4 ATENCIÓN FARMACÉUTICA.....	43
2.4.1 Problemas Relacionado con la Medicación (PRM), Resultado Negativo asociado a la Medicación (RNM): necesidad, efectividad, seguridad	43
2.4.2 Seguimiento farmacoterapéutico (SFT)	45
2.4.3 Método Dáder	46
2.4.4 Proceso asistencial de fractura de cadera en el anciano	47
2.5 GENÉTICA Y FARMACOGENÉTICA	51
2.5.1 Enfermedades genéticas: monogénicas y poligénicas	51
2.5.2 Generalidades de la Farmacogenética	52
2.5.3 Aplicación de la Farmacogenética	54
2.5.4 Traslación clínica de la farmacogenética y el papel del farmacéutico	55
2.5.5 Genética de la Osteoporosis	57
2.5.6 Rutas metabólicas involucradas en la homeostasis del hueso y principales factores genéticos asociados.....	57
2.5.7 Búsqueda de polimorfismos (SNP) potenciales relacionados con la osteoporosis, DMO y fracturas osteoporóticas en genes candidatos y GWAS	59
2.5.8 Papel de los genes implicados en el riesgo de Osteoporosis y Fracturas	60
2.5.9 Farmacogenética de los tratamientos anti-resortivos	60
3. JUSTIFICACIÓN.....	63
4. OBJETIVOS.....	67
4.1.- Objetivos generales	69
4.2.- Objetivos específicos	69
5. GENERALIDADES RELATIVAS A PACIENTES Y MÉTODO DE ESTUDIO	71
5.1.- Pacientes y metodología en el SFT y valoración del riesgo de FC	73
5.2.- Pacientes y metodología en el estudio Farmacogenético	74
6. RESULTADOS.....	77
Publicaciones Científicas	79
6.1 Estudio 1: (Artículo original)	81
6.1.1 Título: <i>“Pharmacotherapy follow-up and conciliation of medication in hospitalized hip-fracture patients”</i> . <i>Atencion farmaceutica-European Journal of clinical Pharmacy 2009, 11(4): 232-239.</i>	83
6.1.2 Resumen/Abstract.....	83
6.1.3 Introduccion/Introduction	84
6.1.4 Materiales y Método/ Methods	84
6.1.5 Resultados/Results	85
6.1.6 Discusión/Discusion	87
6.1.7 Agradecimientos/Acknowledgement	88
6.1.9 Bibliografía/Reference.....	89
6.2 Estudio 2: (Artículo original)	91
6.2.1 Título: <i>“Factores de riesgo en una población anciana: escalas de evaluación para la prevención de fracturas de cadera”</i> . <i>Revista española de cirugía ortopédica y traumatología 2010; 54(3):167–173.</i>	93
6.2.2 Resumen	93
6.2.3 Introduccion	94
6.2.4 Materiales y Método	94
6.2.5 Resultados.....	95
6.2.6 Discusión	96

6.2.7 Anexos	98
6.2.9 Bibliografía	99
6.3 Estudio 3: (Artículo de revisión)	101
6.3.1 Título: “ <i>Pharmacogenetics of osteoporosis-related bone fractures: moving towards the harmonization and validation of polymorphism diagnostic tools</i> ”. <i>Pharmacogenomics</i> 2010 11(9), 1287–1303	103
6.3.2 Resumen/Abstract.....	103
6.3.3 Introducción/Introduction	103
6.3.4 Contenidos de la revisión/Table of contents	104
6.3.5 Conclusión/Conclusion.....	114
6.3.6 Futuras perspectivas/Future perspective	115
6.3.7 Agradecimientos/Acknowledgement.....	115
6.3.8 Bibliografía/Reference.....	115
6.4 Estudio 4: (Capítulo de libro).....	121
6.4.1 Título: “ <i>Pharmacogenetics Advances of Osteoporosis-Related Bone Fractures</i> ”. <i>Book: Pharmacogenetics 2011; ISBN: 978-953-307-821-2. In press</i>	123
6.4.2 Carta de invitación/Certificate of invitation	123
6.4.3 Carta de aceptación/Letter of acceptance	124
6.4.4 Presentación del capítulo/Chapter presentation	125
6.4.5 Estructura del capítulo/Chapter structure	126
6.4.6 Introducción/Introduction.....	126
6.4.7 Contenidos de la revisión/Table of contents	127
6.5 Estudio 5: (Artículo original).....	131
6.5.1 Título: “ <i>Polimorfismos del gen VDR y el riesgo de fracturas osteoporóticas de cadera en una población adulta española</i> ”. <i>ARS Pharmaceutica</i> 2010; 51(3):193-201.....	133
6.5.2 Resumen/Abstract.....	133
6.5.3 Introducción	134
6.5.4 Materiales y Métodos	135
6.5.5 Resultados	137
6.5.6 Discusión.....	138
6.5.7 Agradecimientos.....	139
6.5.8 Bibliografía	140
6.6 Estudio 6: (Artículo original).....	143
6.6.1 Título: “ <i>Influence of VDR, DBP (GC) andCaSR gene polymorphisms on bone mineral density, compressive strength index and risk hip fracture in Caucasian population</i> ”. <i>Bone</i> 2011. <i>Under review</i>	145
6.6.2 Página de presentación del manuscrito/Title page.....	145
6.6.3 Resumen/Abstract.....	148
6.6.4 Introducción/Introduction	150
6.6.5 Materiales y Métodos/Methods	153
6.6.6 Resultados/Results	158
6.6.7 Discusión/Discusion	161
6.6.8 Limitaciones/Limitations	166
6.6.9 Agradecimientos/Acknowledgement.....	168
6.6.10 Bibliografía/Reference.....	169
6.6.11 Tablas.....	177
7. DISCUSIÓN GLOBAL	185
7.1 Discusión estudio 1: “ <i>Pharmacotherapy follow-up and conciliation of medication in hospitalized hip-fracture patients</i> ”.	187

7.2	Discusión estudio 2: <i>“Factores de riesgo en una población anciana: escalas de evaluación para la prevención de fracturas de cadera”</i>	188
7.3	Discusión estudio 3: <i>“Pharmacogenetics of osteoporosis-related bone fractures: moving towards the harmonization and validation of polymorphism diagnostic tools”</i>	190
7.4	Discusión estudio 4: <i>“Pharmacogenetics Advances of Osteoporosis - Related Bone Fracture</i>	191
7.5	Discusión estudio 5: <i>“Polimorfismos del gen VDR y el riesgo de fracturas osteoporóticas de cadera en una población adulta española”</i>	192
7.6	Discusión estudio 6: <i>“Influence of VDR, DBP (GC) and CaSR gene polymorphisms on bone mineral density, compressive strength index and risk hip fracture in Caucasian population”</i>	193
8.	PERSPECTIVAS FUTURAS	197
9.	CONCLUSIONES	201
10.	BIBLIOGRAFÍA	205

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS:

ADN: Ácido Desoxirribonucleico (DNA sigla en inglés Desoxyribonucleic acid)
AINES: Analgésico antiinflamatorio no esteroidal.
AT: Atención Farmacéutica.
Bp: Bases pair.
BF: Bisfosfonatos.
CASR: Calcium-Sensing Receptor.
CI: Consentimiento informado.
Cm: Centímetros.
COL1A1: Collagen, Type I, Alpha 1.
CSI: Índice de Resistencia compresiva (sigla del inglés Compressive Strength Index).
CYP2C8: Citocromo P450, familia 2, subfamilia C, polipéptido 8.
DBP: Vitamin D Binding Protein.
DE: Desviación estándar.
DEXA: Absorciometría de rayos X de doble energía.
DMO: Densidad mineral ósea.
DT: Desviación típica.
ESR- α : Receptor estrógeno alfa.
ESR- β : Receptor estrógeno beta.
F: Forward
FNa: Área del cuello femoral (sigla del inglés Femoral Neck area).
FC: Fractura de cadera.
FO: Fractura osteoporótica.
FR: Factores de riesgo.
FDPS: Farnesyl diphosphate synthase.
FNW: Ancho del cuello femoral (sigla del inglés Femoral Neck Width).
GWAS: Genome-wide association study.
HUVN: Hospital Universitario Virgen de las Nieves.
HRTVN: Hospital de Rehabilitación y Traumatología Virgen de las Nieves.
IBP: Inhibidor de la bomba de protones.
IF: Intervención farmacéutica.
IMC: Índice de masa corporal.
ITGB3: Integrin Beta Chain Beta 3.
Kg: Kilogramos.
LD: Linkage Disequilibrium.
LRP5: Low-density lipoprotein receptor-related protein 5.
LRP6: Low-density lipoprotein receptor-related protein 6.
MMP2: Matrix Metalloproteinase 2.
MO: Marcadores de recambio óseos
NICE: National Institute for Health and Clinical Excellence.
NIH: National Institute of Health.
OMS: Organización Mundial de la Salud (WHO siglas en inglés de World Health organization).
OPG: Osteoprotegerina.
OR: Odd Ratio.
PA: Principio activo.
PCR: Polymerase Chain Reaction.
PRM: Problemas Relacionados con Medicamentos.

PS: Problema de salud.
PTH: Hormona Paratiroidea (Paratohormona).
RANK: Receptor activador del factor nuclear κ B.
RANK-L: Ligando de receptor activador para el factor nuclear κ B.
RFLP: Restriction fragment length polymorphism (Polimorfismos de longitud de fragmentos de restriccion).
RNM: Resultados Negativos de la Medicación.
R: Reverse.
RR: Riesgo relativo.
rs: Secuencia de referencia (del inglés reference sequence)
SFT: Seguimiento Farmacoterapéutico.
SNP: Single nucleotide polymorphism (Polimorfismo de un solo nucleótido).
SOF: Study of Osteoporotic Fractures.
THR: Terapia hormonal de reemplazo.
VDR: Receptor de la Vitamina D.

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1: Probabilidad (%) de fractura de cadera en los próximos 10 años en mujeres, clasificados por edades y países.....	14
Tabla 2: Incidencias por cada 100.000 personas al año de FC en ancianos, clasificados por comunidades autónomas españolas	15
Tabla 3: Costes económico de fractura de cadera en Reino Unido, según el centro económico de salud del Reino Unido	18
Tabla 4: Factores de riesgo utilizados en la escala WHI con sus respectivas puntuaciones.....	25
Tabla 5: Efectos de los bifosfonatos administrados por vía oral sobre la DMO y fracturas	39
Tabla 6: Clasificación de resultados negativos a la medicación (necesidad, seguridad, efectividad) según el Tercer Consenso de Granada	44
Tabla 7: Porcentaje de eficacia al tratamiento, clasificados en principales drogas para un grupo seleccionado de áreas terapéuticas.....	54

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1: Imagen de la sección del estado mineral del hueso: (A) en estado normal y (B) con osteoporosis.....	9
Figura 2: Fractura de cadera por fragilidad ósea, producto de una caída desde posición de bipedestación.....	10
Figura 3: Partes de la articulación de la cadera (acetábulo, cabeza del fémur y fémur).....	11
Figura 4: Representación de una fractura de cadera izquierda: (A) Dibujo esquemático, (B) Imagen radiológica real obtenida del HRTVN	12
Figura 5: Clasificación de los diferentes tipos de fracturas de cadera. Diferencias regionales.....	12
Figura 6: Tipos de fracturas intracapsulares (fracturas cuello del fémur, según clasificación anatómica: (a) Fractura subcapital. (b) Fractura mediocervical. (c) Fractura basicervical.	13
Figura 7: Calculadora online del riesgo de Fractura, obtenida del Garvan Institute of medical Research	26
Figura 8: Calculadora online del riesgo de Fractura (FRAX), desarrollada por la OMS.....	27
Figura 9: Equipo para valoración de la densidad mineral ósea, a través de dosis baja de rayos.....	30
Figura 10: Estructura química de los BF nitrogenados y no nitrogenados	34
Figura 11: Mecanismo de acción de los BF nitrogenados.....	35
Figura 12: Fisiología de los osteoclastos y potenciales dianas terapéuticas	38
Figura 13: Clasificación de las enfermedades hereditarias (monogénicas y poligénicas). Grado de influencia genética y factores ambientales.....	51
Figura 14: Representación esquemática de la variabilidad en la respuesta al fármaco por efectos farmacocinéticos, farmacodinámicos y farmacogenéticos (Pharmgkb)	52
Figura 15: Esquema ilustrativo sobre como la variabilidad genética afecta en la respuesta a un determinado fármaco: seguro; seguro/no efectivo; no seguro/efectivo; no seguro/no efectivo.....	53
Figura 16: Representación de la aplicación clínica de un test genético	55
Figura 17: Representación esquemática de la ruta metabólica de los N-bifosfonatos y genes involucrados en una célula osteoclasticas.....	62

LISTADO DE ANEXOS

Anexo 1: Método Dáder adaptado al proceso asistencial	229
Anexo 2: Ficha de Seguimiento Farmacoterapéutico. Adaptado del método Dáder	230
Anexo 3: Planificación horaria del tratamiento habitual.....	237
Anexo 4: Consentimiento informado para seguimiento farmacoterapéutico	238
Anexo 5: Encuesta para valoración de factores de riesgo de pacientes con fractura de cadera	239
Anexo 6: Tríptico educativo para la prevención de fracturas de cadera.....	240
Anexo 7: Hoja de información para el paciente que participa en estudio farmacogenético.....	241
Anexo 8: Consentimiento informado farmacogenético.....	242
Anexo 9: Visualización de fractura de cadera mediante Radiografía convencional	243
Anexo 10: Tríptico de tratamiento farmacológico para la prevención de fracturas	244
Anexo 11: Ficha de parámetros epidemiológicos y clínicos para análisis de asociación farmacogenético: factores de riesgo, densitometría, metabolismo mineral óseo.....	245
Anexo 12: Datos clínicos: Densitometría y Analítica de metabolismo óseo	246
Anexo 13: Formulario de petición de estudio farmacogenético.....	247
Anexo 14: Resultado final del formulario de solicitud de estudio farmacogenético de la osteoporosis	248
Anexo 15: Informe de genotipado y polimorfismos asociados a la osteoporosis y tratamiento. Consejo Farmacogenético	249

OTROS DOCUMENTOS

Documento 1: Certificado de aprobación del Comité ético en Investigación Clínica del Hospital Universitario Virgen de las Nieves	250
Documento 2: Trabajos de producción científica: Asistencias a congresos y comunicaciones orales y/o póster	251

RESUMEN

RESUMEN

La osteoporosis es una de las patologías crónicas complejas más comunes en los países desarrollados, y la fractura de cadera (FC) es su principal consecuencia. Abarca importantes características desde el punto de vista de la morbilidad, mortalidad y coste hospitalario.

En los servicios quirúrgicos de traumatología, donde se atienden este tipo de pacientes, han aumentado drásticamente el número de ingresos y el porcentaje de mortalidad intrahospitalaria.

Existen muchos factores de riesgo de FC tales como osteoporosis, sexo, raza y edad avanzada. Este último factor, engloba a un grupo de pacientes pluripatológicos con variadas terapias farmacológicas habituales, que al prescribirle fármacos durante su estancia hospitalaria, podrían aumentar los problemas relacionados con la medicación en la efectividad, necesidad y seguridad, sin el adecuado seguimiento.

Por otra parte, la osteoporosis tiene un fuerte componente genético que podría modular la densidad mineral ósea (DMO), y la respuesta clínica de los tratamientos antiosteoporóticos, con resultados muy variables entre los individuos. Sin embargo, no está claro qué variables genéticas o polimorfismos genéticos de un único nucleótido (SNPs) estarían involucrados en los factores que determinan la morbilidad. Asimismo existe una limitada y escasa información de las herramientas y metodología genética a nivel de rutina hospitalaria para determinar estos SNPs.

A raíz de lo anterior, la finalidad de este proyecto ha sido evaluar y conciliar la farmacoterapia de los pacientes hospitalizados por FC para así evitar y/o disminuir resultados negativos de la medicación (RNM); determinar y cuantificar los factores de riesgo de fracturas de cadera; identificar polimorfismos de genes candidatos con un impacto en la osteoporosis y/o riesgo de fracturas osteoporóticas de cadera; y evaluar la influencia de estos SNPs en la DMO y riesgo de fractura.

Las metodologías utilizadas están basadas en el seguimiento farmacoterapéutico hospitalario por medio del método Dáder; la evaluación de los factores de riesgo a través de las escalas de valoración; y la detección de SNPs en determinados genes y su aplicación en clínica a partir de la utilización de herramientas de biología molecular y farmacogenética (FGt) de rutina.

Los resultados del desarrollo de los diferentes estudios serán presentados en forma de artículos de investigación (originales, revisiones y capítulo de libro).

En consecuencia, es relevante la detección precoz de RNM, a través de SFT focalizado principalmente por necesidad de medicación hospitalaria, realizado por la incorporación del fármaco en planta, así como también la actuación de manera preventiva en los factores de riesgo asociados a las fracturas osteoporóticas valoradas a través de las escalas Black y FRAX. Por otro lado, la identificación de rutas metabólicas y SNPs de los genes candidatos con impacto en la osteoporosis y su aplicación a la práctica clínica mediante la FGt, contribuirán en la optimización del tratamiento y recursos económicos, y prevención de fracturas osteoporóticas.

INTRODUCCIÓN

“El esqueleto, oculto a la vista y a menudo a la mente, es una masa formidable de tejido que supone alrededor del 9% del volumen del cuerpo y el 17% de su peso. La estabilidad y la inalterabilidad de los huesos secos y su persistencia durante cientos o incluso millones de años, después de que los tejidos blandos se hayan convertido en polvo, nos ofrecen una imagen falsa de lo que es el hueso en vida. Su fijeza tras la muerte está en franco contraste con su incesante actividad durante la vida” (Cooke, 1955).

2. INTRODUCCIÓN

2.1 GENERALIDADES DE LA FRACTURA DE CADERA

2.1.1 Definición: Osteoporosis.

Existe una definición de osteoporosis que podríamos calificar de oficial, acordada en una conferencia sobre el consenso de la National Institute of Health (NIH, 1993), que la describe como una "enfermedad generalizada del esqueleto caracterizada por baja masa ósea y alteración de la microarquitectura del hueso, con aumento de la fragilidad del mismo y consecuente tendencia a las fracturas"¹. En la figura 1 se muestra una imagen de hueso normal (A) y osteoporótico (B).

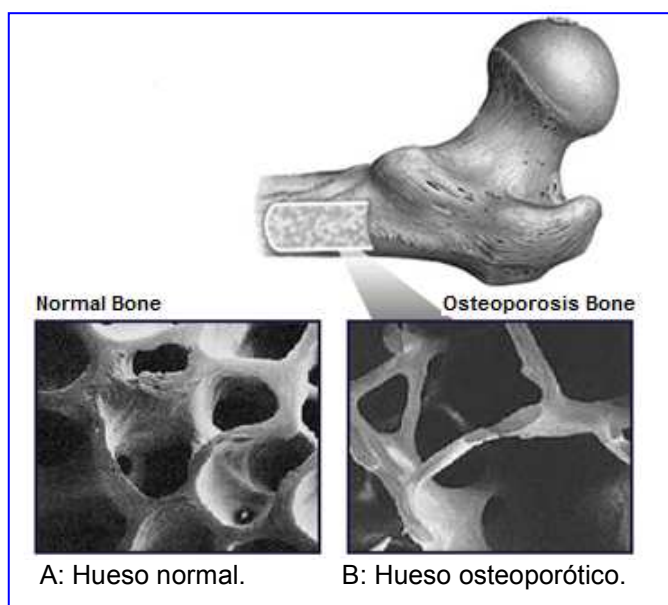


Figura 1: Imagen de la sección del estado mineral del hueso: (A) en estado normal y (B) con osteoporosis.

Actualmente en la definición de osteoporosis, se incluye el término de resistencia ósea insuficiente. La resistencia ósea refleja fundamentalmente la integración de densidad y calidad ósea. La densidad viene expresada como gramos de mineral por área o volumen, y en un individuo concreto viene determinada por el pico de masa ósea y por la cantidad de pérdida ósea. Las propiedades relacionadas con la calidad ósea son la tasa de recambio óseo, la geometría y la microestructura, el grado medio de mineralización, acúmulo de microlesiones y la relación matriz ósea y colágeno². Históricamente las definiciones han variado de acuerdo a la consideración de la masa ósea y la existencia de fracturas.

En la osteoporosis que, literalmente, significa "hueso poroso", a medida que los huesos se tornan más porosos y frágiles, aumenta considerablemente el riesgo de fracturas. La pérdida de hueso se produce de forma "silenciosa" y progresiva. No suele haber síntomas, hasta que se produce la primera fractura³.

En dichas definiciones se engloban conceptos como densidad mineral ósea (DMO), fragilidad y fracturas que definiremos a continuación.

2.1.2 Definición: Densidad Mineral Ósea:

La densidad mineral ósea (DMO) es la medida de la cantidad de minerales (por lo general, calcio y fósforo) que contiene cierto volumen de hueso⁴. La clasificación de la DMO se basa en una comparación de la DMO de un paciente con la media para una población adulta joven normal del mismo sexo y raza. Se asigna al paciente una "T-score" que es el número de desviaciones estándar (DE) por encima o por debajo de la DMO media para adultos jóvenes normales, como se indica a continuación^{5,6}:

Según el T-score, éstas se clasifican en:

- **DMO normal:** T score +2.5 y -1.0 DE. Es decir, la DMO del paciente se sitúa entre +2.5 DE por encima de la media en adultos jóvenes y una DE por debajo de la media en adultos jóvenes.
- **DMO baja (osteopenia):** T score entre -1,0 y -2,5 DE.
- **DMO baja (osteoporosis):** T score inferior a -2,5 DE.
- **Osteoporosis establecida (severa):** T score igual o inferior a -2,5 DE más presencia de fractura.

Estos criterios diagnósticos han sido diseñados para poblaciones mujeres postmenopáusicas y de raza blanca. Sin embargo, a principios del siglo XXI, estudios han sugerido que se aplique la misma definición en hombres, ya que podría tener la misma utilidad⁷ a pesar de que esto no está universalmente aceptado⁸.

2.1.3 Definición: Fractura por Fragilidad o Fracturas Osteoporóticas:

La OMS define la fractura por fragilidad como aquella fractura "provocada por lesiones que serían insuficientes para fracturar un hueso normal"^{5,9}. Una definición más clínica es aquella que se produce por traumatismos mínimos, como una caída desde una altura correspondiente a la posición de bipedestación o en ausencia de traumatismos identificables^{6,10,11}. En la figura 2 se muestra una fractura de cadera (FC) debido a la presencia de osteoporosis o fragilidad ósea.

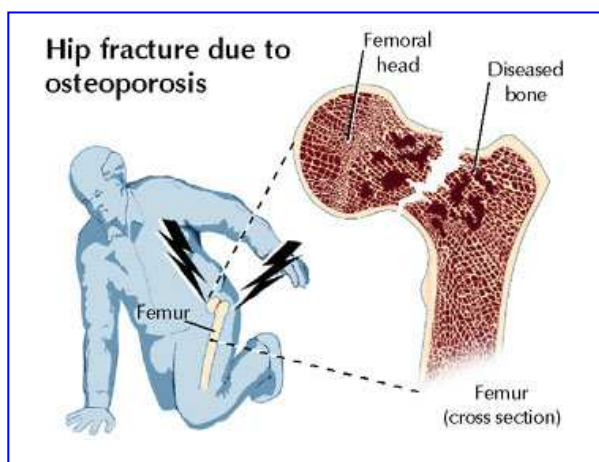


Figura 2: Fractura de cadera por fragilidad ósea, producto de una caída desde posición de bipedestación.

2.1.4 Importancia de las fracturas osteoporóticas.

Las fracturas osteoporóticas (FO), constituyen una de las complicaciones más graves de la osteoporosis, una enfermedad extremadamente prevalente que afecta tanto a hombres como a mujeres, pero con mayor incidencia en las mujeres¹².

Se estima que aproximadamente 75 millones de personas padecen esta enfermedad en Europa y en los Estados Unidos y que aproximadamente la mitad de las mujeres de raza blanca de estos países sufrirán una fractura relacionada con la osteoporosis en algún momento de sus vida^{13,14}.

La fractura de la extremidad proximal del fémur, habitualmente conocida como FC, constituye la complicación clínica más grave de la osteoporosis, tanto por su morbilidad como por su enorme consumo de recursos sanitarios que genera, así como, y no menos importante, por su elevada mortalidad¹⁵.

Casi siempre las FC son consecuencia de una caída, por lo general hacia atrás o hacia un lado, y requieren tratamiento quirúrgico. Este tipo de patologías es más frecuente en ancianos, lo cual confieren a este grupo de pacientes una especial predisposición a presentar complicaciones médicas graves relacionadas con las fracturas¹⁶.

2.1.5 Características de la fractura de cadera:

La cadera es una articulación que está conformada por el acetábulo, la cabeza del fémur y el extremo proximal del fémur¹⁷ (Figura 3). Con el término genérico “fractura de cadera”, se describen las fracturas que ocurren en la extremidad proximal del fémur. La FC es una ruptura del hueso del muslo justo debajo de la articulación de la cadera.

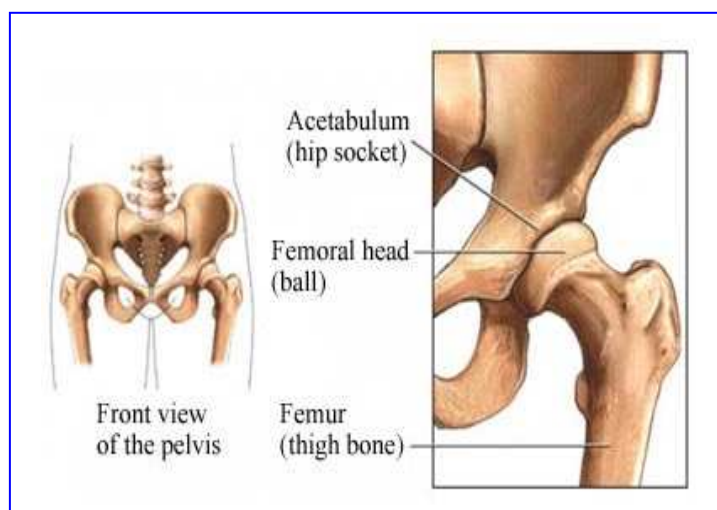
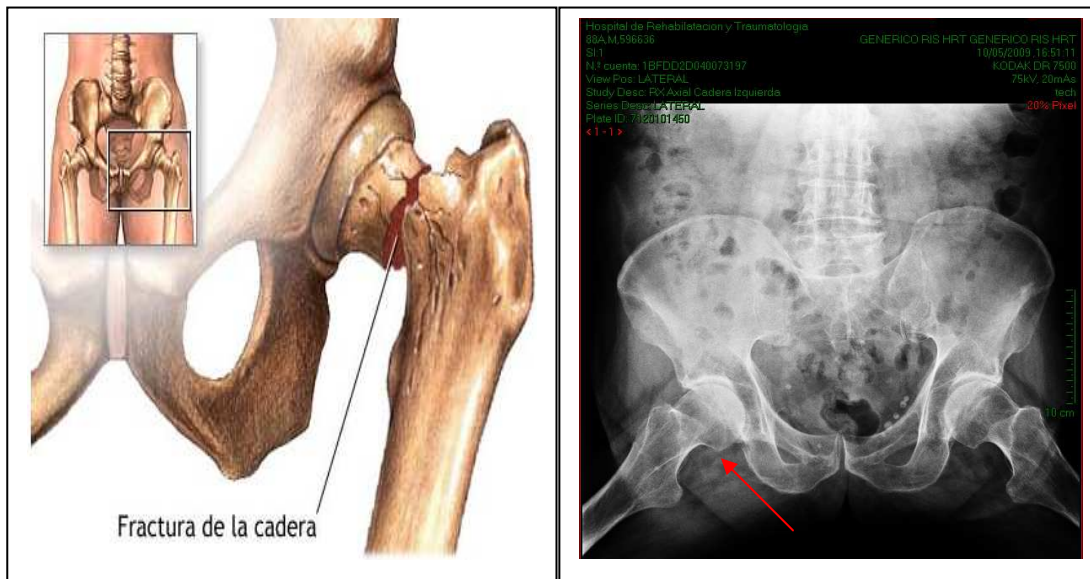


Figura 3: Partes de la articulación de la cadera (acetábulo, cabeza del fémur y fémur).

La mayoría de las FC ocurren en el fémur, una o dos pulgadas debajo de la porción esférica de la cadera^{3,17}. En la Figura 4, se representa una fractura de cadera mediante imágenes (Figura 4-a, Figura 4-b).



(a) (b)
 Figura 4: Representación de una fractura de cadera izquierda: (a) Dibujo esquemático, (b) Imagen radiológica real obtenida del HRTVN.

2.1.6 Tipos de fracturas de Cadera.

Los tipos de FC depende de la localización de la fractura en el fémur, pudiendo afectar a: cabeza femoral, cuello femoral y trocánteres^{18,19}. Las diferencias entre ellos son importantes porque cada uno recibe un tratamiento diferente. Es muy frecuente clasificarlas en 2 tipos: fracturas intracapsulares y fracturas extracapsulares (figura 5). Las fracturas intracapsulares (línea de fractura situada en el interior de la cápsula articular) son las fracturas de cabeza, denominada fractura capital (poco frecuente) y la fractura de cuello llamada fractura subcapital; mientras que las fracturas extracapsulares (línea de la fractura situada fuera de la cápsula) están las fracturas introcantéreas o pertrocantérea (fractura entre trocante mayor y menor), y fracturas subtrocantéreas (fractura ubicada debajo del trocánter menor)^{20,21}.

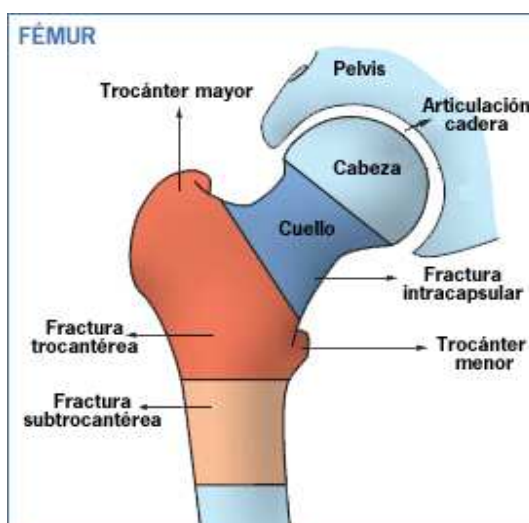


Figura 5: Clasificación de los diferentes tipos de fracturas de cadera. Diferencias regionales.

A su vez las fracturas del cuello del fémur (intracapsulares), se dividen en otras fracturas dependiendo de la localización anatómica^{20,21}: fractura subcapital, fractura transcervical y fractura basicervical (Figura 6).

Los distintos niveles de cada uno de estos tres tipos de fractura, van determinando un progresivo daño en la vascularización del cuello y la cabeza femoral. Así, en la medida que el rasgo de fractura va siendo más proximal (más cerca de la cabeza), mayor va siendo el número de arteriolas cervicales lesionadas; cuando el rasgo de fractura está ubicado en el plano subcapital puede tenerse la seguridad que la totalidad de los vasos nutricios de la cabeza femoral están comprometidos; la avascularidad de la epífisis es completa y la necrosis avascular es inevitable. La vascularización epifisiaria aportada por la arteriola del ligamento redondo es irrelevante²².

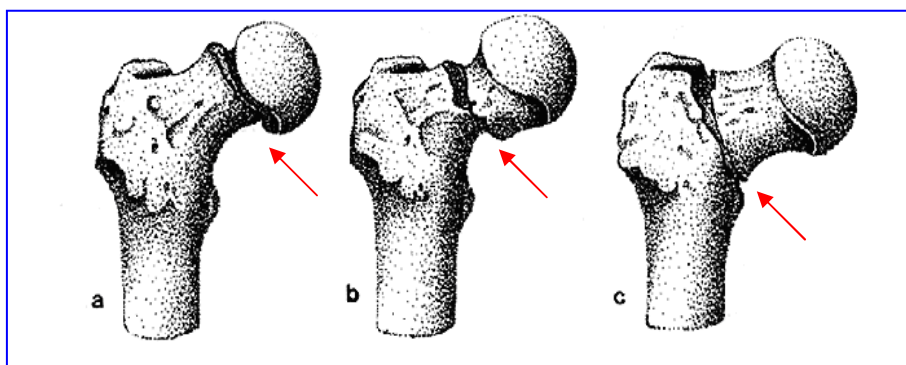


Figura 6: Tipos de fracturas intracapsulares (fracturas cuello del fémur, según clasificación anatómica: (a) Fractura subcapital. (b) Fractura mediocervical. (c) Fractura basicervical.

a.- **Fractura subcapital**: aquella producida en un plano inmediatamente inferior al del borde del cartílago de crecimiento; generalmente tiene una orientación algo oblicua, de modo que compromete un pequeño segmento del cuello del fémur. Son las más frecuentes.

b.- **Fractura transcervical (o medio cervical)**: el rasgo compromete la parte media del cuerpo del cuello femoral.

c.- **Fractura basicervical**: el rasgo de fractura coincide con el plano de fusión de la base del cuello en la cara interna del macizo trocantéreo.

2.1.7 Epidemiología de fracturas de cadera.

Las mujeres constituyen entre el 75 y 80% de la población que sufre las FC, debido al predominio de incidencia de osteoporosis en esta población (período posmenopáusico)^{23,24}. Este tipo de fractura puede producirse a cualquier edad, pero aproximadamente el 90% de los casos ocurren en personas de más de 64 años²⁵, siendo mínimo este porcentaje por debajo de los 50 años y alcanzando datos alarmantes por encima de los 80 años²⁶.

2.1.7.1 Incidencia general.

La incidencia de este tipo de fractura varía según las regiones geográficas y es mayor en las poblaciones blancas. El rango de incidencia ajustado por edad es más alto en los países Escandinavos que en Norteamérica y más bajo en los países del sur de Europa²⁷. El número absoluto de FC en cada región, viene determinado no solo por la composición étnica, sino también por el tamaño de la población y su distribución por edades. En Europa existe una correlación establecida entre el ratio de la incidencia estandarizada respecto de la edad tanto en hombres como en mujeres²⁸. En los datos publicados sobre la incidencia de FC a nivel mundial, se refleja una alta incidencia de FC en los países del norte de Europa y de América, con la excepción notable de Suecia, en comparación con los países europeos del sur y los países asiáticos²⁹. En la tabla 1, se describen las probabilidades (%) de FC en los próximos 10 años en mujeres clasificados por edades y países.

Tabla 1: Probabilidad (%) de fractura de cadera en los próximos 10 años en mujeres, clasificados por edades y países.

Nivel	País	50 años	60 años	70 años	80 años	Riesgo de FC a lo largo de la vida a partir de los 50 años.
Muy alta	Suecia	0,6	2,2	7,1	17,7	28,5
	Noruega	1,2	2,9	9,0	17,8	24,5
	USA	0,7	1,8	5,0	14,2	15,8
Alta	Canadá	0,4	1,5	4,7	13,7	14,0
	UK	0,4	1,3	5,0	12,8	14,0
Media	España	0,2	0,8	3,3	9,7	12,0
	Francia	0,2	0,8	2,6	9,1	12,7
Baja	Turquía	0,1	0,4	0,4	0,1	1,0
	Chile	0	0,2	0,6	0	0

En la actualidad se está detectando un incremento dramático en la incidencia de estas fracturas, debido a la mayor longevidad de la población sobre todo de mujeres. La expectativas en la reducción de las tasas de mortalidad para las mujeres mayores de 65 años durante la próxima década, llevará consigo un incremento de entre un 10 y 15% en la incidencia de FC³⁰.

A nivel mundial, se estima que el número de FC aumentará de 1,66 millones en 1990 hasta 6.260.000 en 2050^{31,32}. Esta estimación está realizada contando con que todas las tasas de incidencia permanezcan estables. Sin embargo, los autores señalan que en realidad esas tasas están aumentando en muchas partes del mundo. Si se tiene en cuenta que estos índices podrían crecer sólo en un 1% por año, calculan que en el 2050 se producirán de 4,5 a 8,2 millones de FC^{33,34}.

2.1.7.2 Incidencia global en España.

A pesar de que en España, el riesgo de FC a lo largo de la vida a partir de los 50 años es de un 12% (porcentaje que se encuentra dentro de la media), este valor va en aumento a medida que se avanza en la edad (Tabla 1).

Si se analizan la incidencia de FC para cada comunidad autónoma (Tabla 2), cuya incidencia global en personas mayores de 64 años es de 517 casos por cada 100.000 habitantes y año (270 casos por 100.000 varones ancianos y 695 por 100.000 mujeres ancianas), la comunidad Catalana tiene la mayor incidencia con 658 casos anuales, mientras que Cantabria con la menor incidencia con 221 casos por 100.000 habitantes. Particularmente en la comunidad Andaluza, que se posiciona en el sexto lugar, la incidencia promedio es de 531 casos por 100.000 habitantes y año, cuyo valor está por encima de la media nacional³⁵. Cabe destacar que en Andalucía se producen más de 5000 fracturas cada año y se estima una tasa de incidencia bruta anual de FC de 709/100.000 en mujeres mayores de 65 años, y de 282/100.000 en hombres mayores de la misma edad; semejantes a la media española³⁵.

Tabla 2: Incidencias por cada 100.000 personas al año de FC en ancianos, clasificados por comunidades autónomas españolas.

TASA DE INCIDENCIA POR COMUNIDADES AUTÓNOMAS	
COMUNIDAD AUTÓNOMA	TASA INCIDENCIA ^a
Cataluña	658
Navarra	601
La Rioja	582
Castilla La Mancha	552
Andalucía	531
Comunidad Valenciana	530
Madrid	492
Cantabria	482
Ceuta Y Melilla	473
Murcia	464
Extremadura	460
País Vasco	456
Asturias	450
Baleares	430
Castilla Y León	418
Galicia	382
Canarias	221
Promedio Nacional	517

^a por cada 100.000 personas/ año.

2.1.7.3 Mortalidad.

La FC tiene una importante repercusión desde el punto de vista de la mortalidad, y se ha relacionado con la elevada tasa de complicaciones potencialmente evitables, además de los efectos directos de la fractura. Estas complicaciones incluyen úlceras de decúbito, infecciones de vías respiratorias, infecciones de heridas y complicaciones tromboembólicas, entre otras³⁶.

Si bien las tasas de mortalidad disminuyeron desde los años 60 a los 80, desde entonces se ha mantenido más o menos estables. Esta disminución de la mortalidad puede ser fácilmente entendida si se tiene en cuenta que durante los años 50 y 60 la mayoría de los estudios que hacían referencia a tasas de mortalidad, se basaban en su mayoría en pacientes que no habían sido tratados quirúrgicamente³⁷.

Se estima que durante el año siguiente a la FC, la tasa de mortalidad es de un 30%^{38,39}, y de hasta un 40% al segundo año después de la fractura⁴⁰. Desde el punto de vista intrahospitalario, estudios en el ámbito nacional e internacional sitúan la mortalidad de la FC intrahospitalaria entre el 5 y 8%^{38,41,42} llegando incluso al 12% en España⁴³.

En España, la mortalidad media intrahospitalaria presenta una gran variabilidad entre Comunidades Autónomas que va desde 2,2% (Valenciana) al 8,3% (Aragón), siendo en Andalucía una mortalidad del 3,5%³⁵. Asimismo, se ha demostrado que una vez que el paciente es dado de alta, la mortalidad a los 30 días oscila entre el 4 y el 13%^{39,44,45,46} aumentando estos valores a los 6 meses entre el 14-30%^{38,44,45,46}.

Desde el punto de vista del sexo, estudios han demostrado que los mayores porcentajes de mortalidad se dan en el sexo masculino³⁰⁻⁴⁶.

2.1.8 Impacto asistencial de la fractura de cadera.

Todas las FC deben ser ingresadas en hospitales y casi todas son intervenidas quirúrgicamente. El tratamiento quirúrgico debe realizarse antes de las 24 horas⁴⁷. Posteriormente a la cirugía, las FC precisan de rehabilitación y cuidados crónicos en un porcentaje muy elevado.

Varios estudios han estimado que más del 20% de las camas de los servicios de traumatología, están ocupadas por pacientes sometidos a cirugías de cadera, y han demostrado que este tipo de fractura es causa de más días de hospitalización que los infartos de miocardio, diabetes o el cáncer de mama⁴⁸.

El número de días de estancias hospitalarias media de este tipo de pacientes han disminuido durante el tiempo. En los años 60 y 80 las estancias hospitalarias alcanzaban valores de 50 y 20-30 días respectivamente, lo cual aumentaba el coste asistencial y riesgo de mortalidad^{49,50}. En España, estudios han demostrado que entre los años 96 y 99 la media de las estancias hospitalarias fue de 16 días³⁵ y durante los años 2000 y 2002 la estancia media fue de 15 días⁵¹. Hoy en día, algunos trabajos han observado estancias promedios de 8 a 13 días^{52,53}. Esta reducción progresiva en el tiempo de estancias hospitalaria por una FC se debe principalmente a la mejora del tratamiento quirúrgico de estas fracturas, y a un programa de rehabilitación más activo que incluye la movilización precoz y la reeducación de la marcha en el postoperatorio inmediato. No obstante, se debe seguir trabajando en la medicación habitual de estos pacientes para evitar las descompensaciones conflictivas. Es necesario resaltar que en el ámbito asistencial, el retraso en las operaciones quirúrgicas en traumatología conduce a una mayor morbilidad, mortalidad, duración de la estancia hospitalaria y los costes totales⁵⁴.

2.1.9 Impacto social y económico de la fractura de cadera.

La FC es la quinta causa de desarrollo de incapacidad subaguda en varones mayores de 65 años, tras el ictus, insuficiencia cardiaca, cáncer y neumonía; y la primera entre las mujeres⁵⁵.

Los costos económicos de las FO incluyen costes directos (hospitalización y los cuidados posteriores) y los costes indirectos (incidencia de fracturas en las actividades habituales que incluyen los días de trabajo). Juntos, estos costes representan una carga económica enorme en la asistencia sanitaria y servicios sociales⁵⁶, debido a que los pacientes que sobreviven requieren de ingresos en hospitales u otras instituciones durante el año posterior a la fractura. Un estudio realizado en España (Asturias) demostró que el 20% de los pacientes ingresados con FC fueron trasladados a una residencia tras el alta hospitalaria⁵⁷. Otro estudio puso de manifiesto que de los pacientes que ingresan al hospital procedente de sus domicilios, solo el 66% de los supervivientes vuelven al mismo después de 3-4 semanas de tratamiento en el servicio de traumatología²³. Otro estudio demostró que más del 50% de las personas que sufren FC no recuperan su estado previo quedando gravemente incapacitados, perdiendo la autonomía que poseían previamente a la fractura y requiriendo la presencia de un cuidador que les ayude con las tareas cotidianas^{58,59}. En tanto, las pérdidas de productividad de los familiares de un paciente con FC es frecuente, cuyo coste no es evaluado, supone un importante impacto para las economías de los familiares de un paciente con FC. Por lo tanto, la FC trae como consecuencia un gran impacto social.

Por otra parte, existen grandes diferencias en los costes asociados de las FC según el país que se considere. Las variaciones no solo se deben a las diferencias de la economía, sino también por las variaciones en las hospitalizaciones y procedimientos empleados. Sin embargo, es muy difícil definir todos los costes asociados a tener en cuenta, y que en muchos casos estos valores estarían subestimados.

El coste mundial de las FC en 1990 se cifraba en \$ 34.800 millones. Este valor ha ido en significativo aumento, calculándose que alcance los \$ 131.500 billones de dólares en 2050^{60,61}.

En Estados Unidos el costo asociados para las FO en el 2002 fue de alrededor de \$18 billones anuales^{62,63}, mientras que en Europa este coste fue de alrededor de \$ 30 billones^{15,64}.

En Estados Unidos por un paciente típico con FC se gasta cerca de \$ 40000 en el primer año tras la fractura (costes directos médicos); y más de \$ 5000 al siguiente año⁶⁵. Otro estudio señaló que en EEUU el coste anual estimado en pacientes con FC estaría entre los \$10,3 y \$15,2 billones⁶⁶. En el Reino Unido durante el año 2002, se estimaron que los costes asociados a las FC por paciente eran de 37.119 euros, con un coste total que excedería los mil millones de euros (tabla 3)^{48,67}. En el caso de Suecia el coste anual asociado estaría alrededor en más de \$ 420 millones⁶⁸.

Tabla 3: Costes económico de fractura de cadera en Reino Unido, según el centro económico de salud del Reino Unido.

Categoría de Coste	Total (año/euros)	Por pacientes (año/euros)
Hospitalización	329.904.462	6.950
Ambulancia	5.925.804	250
Cuidados sociales	715.461.492	29.215
Atención primaria	7.388.161	239
Externos	1.149.940	466
Transporte	26.284	-
Total	1.059.859.143	37.119

Las estimaciones se han realizado para 47.471 fracturas anuales.

"The economic cost of hip fractures in the UK. Center for Health economics. University of York"⁶⁷. Datos adaptados.

En el caso de España, los costes directos se estiman en alrededor de €9000 por FC, lo que la sitúa en el segundo lugar de los países con mayor gasto dentro de Europa después de Francia con €9907⁶⁹. Y se espera que estos costes aumenten en los próximos años. Así lo señaló, la International Osteoporosis Foundation (IOF) del 2008, mostrando que estos costes parecen aumentar de manera independiente de la edad, esperando duplicarse en el año 2050⁷⁰. Algunos estudios han estimado un crecimiento en el número de FC del 310% en hombres y un 240% en las mujeres para el año 2025^{32,60}. Este aumento en la carga económica de las FC en los sistemas sanitarios de todo el mundo ha dirigido el interés hacia el análisis de factores de riesgo, posibilidad de prevención y optimización de costes asociados.

2.1.10 Segunda Fractura de cadera.

Una de las consecuencias más importantes tras sufrir una FC es el mayor riesgo de una segunda fractura. Un estudio observó que de las FC que habían ocurrido, en el 8,7% era una segunda FC y que el 83,3% eran mujeres. Además, los autores observaron que el riesgo era mucho más alto durante el primer año tras la fractura, especialmente en los primeros 3 meses⁷¹.

2.1.11 Características del paciente con fractura de cadera.

En el último siglo en esta sociedad, las mejoras en las condiciones socioeconómicas, unidas a los avances tecnológicos, incluyendo los ocurridos en el campo de la salud, tanto en el ámbito preventivo de la salud pública como también a nivel de diagnóstico y farmacoterapéutico, han generado un cambio a gran escala desde el punto de vista de la demografía, con una baja tasa de natalidad y de mortalidad, lo que conlleva a un envejecimiento poblacional. También ha ocurrido un cambio a nivel epidemiológico, con una variación en las enfermedades en la incidencia y la prevalencia. La edad del paciente supone una menor capacidad de adaptación funcional a las distintas situaciones y una menor tolerancia al estrés de cualquier tipo, siendo de esperar que la posterior recuperación en estos pacientes sea más lenta que en pacientes de menor edad.

Varios factores hacen que el control peri-operatorio de las personas mayores con FC sea un desafío importante:

1.- Disminución de las reservas fisiológicas generales: la principal característica diferencial de la enfermedad aguda en el anciano, es su tendencia a la incapacidad, debido a una alteración en la reserva funcional orgánica y en los mecanismos de control homeostático. Esto afecta particularmente a los sistemas cardiovascular, respiratorio, excretor (sobre todo renal), neurológico, mental y endocrino, así como también los mecanismos que controlan el mantenimiento del balance de fluidos y electrolitos, la continencia y la presión sanguínea⁷².

2.- Incidencia de afecciones médicas de tipo crónico: existe una alta incidencia de enfermedades crónicas en la población anciana, cuya media está en un rango de 6 enfermedades crónicas por paciente⁷³ tales como: diabetes, demencia, anemia, enfermedades cardio y cerebro vasculares, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), parkinson; más o menos controladas o compensadas en el momento de la fractura y que contribuyen a aumentar la situación de equilibrio inestable. Incluso utilizando una definición restrictiva, la prevalencia de pacientes pluripatológicos llega a situarse entre el 21 y 72% de los pacientes atendidos en los servicios de medicina interna y con una edad media en torno a los 70 años⁷⁴. El control de esas afecciones puede estar alterado por completo debido a los cambios fisiopatológicos agudos asociados con la FC y requiere un tratamiento cuidadoso pre y postoperatorio.

3.- Polimedicación: Debido a la elevada comorbilidad en la mayoría de estos pacientes, los convierte en consumidores de diferentes medicamentos de forma simultánea. A la medicación crónica de los pacientes, se suma el tratamiento farmacológico intrahospitalario, lo que supone un riesgo aumentado de sufrir problemas relacionados a la medicación y resultados negativos a la medicación. Estudios han demostrado que la media de medicamentos diarios que consumen los pacientes ancianos está entre 4 y 8^{75,76,77}, con un consumo máximo de 18 fármacos distintos al día⁷⁷. Es por ello que el control y seguimiento de la farmacoterapia del paciente se convierte en un punto esencial dentro de la actividad asistencial.

4.- Consecuencias de la fracturas de cadera: entre las principales consecuencias incluyen: dolor, inmovilidad, hipovolemia, deshidratación, hipoxemia, sin embargo durante la estancia hospitalarias se generan complicaciones tales como úlceras por presión, infecciones urinarias, trombosis venosas profundas⁵³, que requieren todas ellas una evaluación cuidadosa y tratamiento adecuado si se quiere reducir la morbilidad, la mortalidad y la dependencia futura.

La interacción de una patología aguda sobre una serie de enfermedades crónicas, la agresión quirúrgica y anestésica, junto con unos antecedentes de reservas reducidas, explica el riesgo sumamente elevado de presentar complicaciones potencialmente serias en este grupo de pacientes. Consecuencia directa de todo esto, es que el nivel asistencial requerido para el tratamiento efectivo de estos pacientes exige la implicación y coordinación de un equipo multidisciplinar de diversos especialistas médicos, farmacéuticos, enfermeros, fisioterapeutas y asistentes sociales.

2.2 FACTORES DE RIESGO Y ESCALA DE VALORACIÓN.

Los factores de riesgo (FR) de osteoporosis pueden definirse como aquellas variables, estado o condición asociado con un mayor riesgo de padecer la enfermedad⁷⁸, y sobre todo una de sus consecuencias determinantes: la fractura.

Es muy valiosa la exploración de los factores que determinan cómo se adquiere o cómo se pierde hueso, como influyen en su calidad o resistencia y cómo se disponen para influir sobre el sentido del equilibrio de un individuo con tendencia a la fractura, en otras palabras, cómo participa el ambiente.

La probabilidad individual de padecer una fractura osteoporótica está condicionada por múltiples factores. De hecho, cada localización específica de fractura tiene un perfil de FR determinado. Generalmente no actúan de forma aislada, sino que es la combinación de varios de ellos lo que aumenta significativamente el riesgo de fractura y puede ser útil para seleccionar a individuos a los que realizar una densitometría ósea e incluso para decidir el inicio del tratamiento farmacológico⁴³.

Por su interés en la práctica diaria, es necesario comentar alguno de los FR con mayor detenimiento, agrupándolos en dos categorías: factores que originan un aumento de la fragilidad ósea y aquellos factores relacionados con las caídas.

2.2.1 Factores de riesgo de fracturas de fracturas osteoporóticas^{79,80,81,82,83,84,85}.

Esta categoría a su vez se subdivide en *factores intrínsecos*, y por consiguiente no modificables como: la edad, sexo, fracturas previas, historia familiar de fracturas, raza blanca; y los factores modificables: índice de masa corporal (IMC) bajo, DMO baja, hábitos tóxicos (tabaco, alcohol, cafeína), baja actividad física, baja ingesta de calcio y vitamina D, otros factores⁸⁶.

Factores de riesgo no modificables:

- **Edad y sexo.** En los distintos estudios existe discordancia en atribuir a la edad un determinado riesgo relativo de osteoporosis y fractura. En el Estudio de Fracturas Osteoporóticas (Study of Osteoporotic Fractures-SOF) se pudo comprobar que por cada 10 años de incremento en la edad, el riesgo de FC aumenta 2,9 veces. El riesgo de FC aumenta 13 veces entre los 60 y los 80 años, mientras que la DMO desciende sólo lo suficiente como para ser responsable del incremento en el riesgo de fractura al cuádruplo²⁹. En otro estudio se estableció que la probabilidad a 10 años de cualquier fractura osteoporótica (antebrazo, húmero, vertebral o de cadera) aumenta 8 veces en las mujeres y 5 veces en los varones al pasar de los 45 a los 85 años⁸⁷. La mujer es el grupo poblacional más susceptible de padecer osteoporosis, principalmente en los años cercanos y posteriores a la menopausia. A partir de los 50 años la tasa de incidencia de FC es mayor en la mujer que en el varón en una relación 3:1^{16,23}.

- **Fracturas previas después de los 50 años** (muñecas, vértebras, cadera). Una fractura por fragilidad previa sitúa a la persona ante un mayor riesgo de sufrir otra fractura. Se estima que el aumento del riesgo es de 1,5 a 9,5 veces,

dependiendo de las características del paciente (edad en el momento de la valoración, del número de fracturas previas y del lugar anatómico de la nueva fractura)⁸⁸.

- **Historia familiar de FC.** Este factor se ha relacionado principalmente con el riesgo de FC. Debido a que la influencia genética (genoma) sobre el riesgo de osteoporosis es multifactorial, no sólo debe considerarse el antecedente de FC en familiares de sexo femenino (madre y abuela), sino también en familiares varones de primero y segundo grados. Los estudios genéticos han demostrado activamente una asociación entre la DMO y riesgo de fracturas.

- **Raza blanca:** Los estudios han demostrado un incremento de las FC en latitud norte y con las variaciones estacionales. Una explicación plausible podría ser la baja exposición al sol en países nórdicos y el ángulo de inclinación de los rayos solares, el cual no estimula una buena formación de vitamina-D e incrementa el riesgo de fracturas⁸⁹.

Factores de riesgo modificables:

- **IMC bajo.** El peso corporal es un importante FR de fracturas. Estudios han demostrado que el bajo peso o menor de 60 kilos, genera mayor absorción de energía del traumatismo por los tejidos blandos. Este efecto, se ha atribuido a la relación positiva que existe con la DMO. Una talla baja también se ha implicado como factor de riesgo de FO. Por otro lado, las mujeres con un IMC $\leq 19.5 \text{ kg/m}^2$ tienen mayor riesgo.

- **DMO baja.** La masa ósea es la expresión cuantitativa más importante y la variable aislada que mejor predice el riesgo de FO en la mujer posmenopáusica. No obstante, cabe destacar que el objetivo no es incrementar la DMO, sino disminuir la incidencia de la fractura. El riesgo de fractura aumenta aproximadamente al doble por cada DE de disminución de la DMO. Este riesgo varía en función de la técnica empleada, de la localización y del tipo de fractura. En el caso de la fractura vertebral, el riesgo aumenta 1,8 veces por cada DE de disminución de la DMO en el cuello femoral.

- **Tabaco.** En mujeres posmenopáusica fumadoras activas, se ha demostrado una menor DMO que en las no fumadoras y un aumento de fracturas en todas las localizaciones^{90,91,92}.

- **Consumo de alcohol.** La ingesta moderada de alcohol muestra efecto protector de la DMO en mujeres posmenopáusicas, sin embargo la ingesta de más de 4 copas al día conlleva a incrementar el riesgo de FC^{93,94}.

- **Cafeína.** Esta sustancia psicoactiva incrementa la pérdida urinaria de calcio y disminuye su absorción intestinal. La ingesta de bebidas que contienen cafeína se asocia con una menor DMO. El estudio SOF mostró que la ingesta diarias de cafeína es un FR significativo para la FC⁹⁵.

- **Baja actividad física.** Se ha demostrado que en mujeres premenopáusicas como posmenopáusicas, los ejercicios combinados aeróbicos de impacto y de

resistencias aumentan la DMO. Un estudio de cohorte demostró que mujeres que practicaban ejercicio físico regular, en comparación con mujeres sedentarias, tenían entre un 20 y 40% menos de riesgo de fractura^{96,97}.

- **Baja ingesta de calcio y vitamina D.** Bajo niveles de calcio y vitamina D estaría vinculado a mayor riesgo de osteoporosis y fracturas osteoporóticas.

- **Caídas.** La tendencia a las caídas es el factor más importante, ya que el 95% de la FC se asocia a una caída. Se estima que un 15-30% de las personas mayores de 65 años se caen al menos 1 vez al año⁹⁸.

Otros factores modificables:

- Fármacos (benzodiazepinas, anticonvulsivantes, litio, heparina, glitazonas, inhibidores de la bomba de protones)^{99,100,101,102,103}.

- Enfermedades: Artritis reumatoide, osteoporosis, enfermedades intestinales, hipertiroidismo, diabetes mellitas.

- Dificultad para andar en tandem.

- Diámetro de pantorrilla pequeño.

2.2.2 Factores de riesgos de caídas^{81,82,98,104}.

Los datos sobre este tipo de factores proceden en su mayoría de estudios prospectivos como el estudio EPIDOS^{105,106}

- Mayores de 80 años.

- Antecedentes de frecuentes caídas o de caídas con fractura en el último año.

- Defecto visual.

- Deterioro disminuido.

- Deterioro cognitivo o demencia.

- Depresión.

- Debilidad muscular.

- Incapacidad para levantarse de una silla sin ayuda, para estar de pie al menos durante 4 horas al día, o para dar paseos.

- Dificultad en la movilidad, marcha y equilibrio.

- Dificultad para las actividades cotidianas.

- Uso de medicamentos sedantes, antiarrítmicos, entre otros.

- Alteraciones osteomusculares (artrosis, problemas en los pies)

- Obstáculos ambientales en domicilio.

- Enfermedades o condiciones asociadas con riesgo de caídas: enfermedad de Parkinson, alcoholismo y vértigo, entre otros.

2.2.3 Medicamentos asociados a un mayor y a menor riesgo de caídas^{99,100,101,104,107}

Mayor riesgo:

- Uso de psicotrópicos (benzodiacepinas); anticonvulsivantes; litio; heparina; corticoides; inhibidores de la bomba de protones (omeprazol...); glitazonas (rosiglitazonas, pioglitazonas...) están asociados a mayor riesgo de caídas.

Menor riesgo:

- Uso de tiazidas. Su papel protector se atribuye a que disminuyen la excreción renal de calcio. Sin embargo, estudios observacionales han demostrado resultados inconsistentes para la DMO y del riesgo de fracturas. Actualmente los diuréticos no presentan indicación para la osteoporosis¹⁰⁸.

- Uso de terapia hormonal sustitutiva (THS). El tratamiento hormonal disminuye el riesgo de FC, sin embargo debido al limitado mantenimiento de su efecto en el tiempo y al desfavorable efecto riesgo-beneficio no se recomienda como tratamiento de primera línea⁸³.

2.2.4 Escalas de valoración del riesgo de fracturas.

Como profesionales de la salud dedicados al estudio, prevención y tratamiento de la osteoporosis deseamos detectar a los pacientes en riesgo para centrar en ellos esfuerzos diagnósticos y terapéuticos antes de que su complicación, la fractura, aparezca.

En los últimos años se han hecho esfuerzos considerables para desarrollar técnicas de detección de la población en riesgo, puesto que por suerte, existen medidas diagnósticas, preventivas y terapéuticas eficaces. Además, en los últimos años se ha tomado conciencia de que las fracturas pueden aparecer en sujetos sin criterios densitométricos de osteoporosis y, a la inversa, se ha constatado la existencia de pacientes con criterios densitométricos de osteoporosis que no sufren fracturas. Así, mediante la integración de información aportada por diferentes FR de osteoporosis, se disponen hoy de herramientas que permiten el cálculo del riesgo absoluto de fractura en los próximos años. Estas herramientas denominadas Escalas de Valoración del Riesgo de Fracturas, serán adecuadas para decidir la necesidad de pruebas diagnósticas adicionales o para iniciar un tratamiento específico.

A partir de los datos de cohortes, se han generado modelos de predicción de una fractura en el futuro^{98,109} y han evaluado la asociación de determinados factores de riesgo con la capacidad de predicción. A continuación, se detallará cada una de las escalas de valoración existentes con sus respectivos factores de riesgo utilizados para evaluar el riesgo de fracturas:

2.2.4.1 Escala de Framo:

Para utilizar esta escala, se necesitan considerar los siguientes FR⁸¹:

- I. Edad \geq 80 años.
- II. Peso $<$ 60 kg.
- III. Necesita los brazos para levantarse de la silla.
- IV. Fractura previa después de los 40 años.

Basta que el paciente cumpla 2 o más de estos factores de riesgo para que sea considerado “paciente de alto riesgo”. Sin embargo, esta escala al no estar validada es de poco pero práctico uso.

2.2.4.2 Escala de Black:

La escala de Black (Black Fracture Index) se desarrolló a partir del SOF, cuyos resultados han creado un modelo de predicción a 5 años de FC, fracturas vértebra o no-vertebrales en pacientes con DMO conocida y no conocida. Los FR utilizados en esta escala son^{81,83,110}:

- I. Edad
- II. Fractura $>$ 50 años (puntuación: 0-1)
- III. Fractura materna de cadera $>$ 50 años (puntuación: 0-1)
- IV. Peso $<$ 57 Kg (puntuación: 0-1)
- V. Tabaquismo (puntuación: 0-1)
- VI. Necesita brazos para levantarse de la silla (puntuación: 0-1)
- VII. DMO cadera

La puntuación de cada uno de los factores de riesgo es: “0” si no cumple; y “1” si cumple. No obstante, en el caso de la edad (Tabla A) y DMO (Tabla B) se asocia otra puntuación que se muestra en las siguientes tablas:

Tabla A: Puntuación según la edad del paciente para la valoración del riesgo de fractura de cadera.

Edad (años)	< 65	65-69	70-74	75-79	80-84	>85
Puntuación	0	1	2	3	4	5

Tabla B: Puntuación según la densidad mineral ósea (DMO) del paciente para la valoración del riesgo de fractura de cadera.

DMO (T- score)	> -1	entre -1 y -2	entre -2 y -2,5	< -2,5
Puntuación	0	2	3	4

Puntuación final: ≥ 4 (sin DMO): alto riesgo; ≥ 6 (con DMO): alto riesgo

Para esta escala, basta que el paciente obtenga una puntuación final ≥ 4 (sin DMO) para que sea “paciente de alto riesgo”. Por el contrario, si se dispone de la DMO, la puntuación debe ser ≥ 6 para ser considerado “paciente de alto riesgo”. Este modelo es uno de los más empleados en el cálculo del riesgo absoluto de fractura a 5 años en mujeres posmenopáusicas mayores de 65 años no tratadas con fármacos antirresortivos. Permite el cálculo del riesgo de fractura basado en factores clínicos, independientemente del valor de DMO o incluyendo éste. Esta escala está validada solo en población femenina, por lo tanto no se recomienda el empleo de este índice en varones, ni tampoco se recomienda en pacientes con osteoporosis secundaria.

2.2.4.3 Escala Women’s Health Initiative (WHI).

Esta escala consiste en un algoritmo predictivo en la aparición de FC a 5 años, obtenidos a partir de mujeres postmenopáusicas de una cohorte observacional del estudio WHI y validada en este mismo¹¹¹. Los FR utilizados con su respectiva puntuación se representa en la tabla 4. Dependiendo de la puntuación final, se evalúa la probabilidad (%) del riesgo de una posible FC¹¹¹.

Tabla 4: Factores de riesgo utilizados en la escala WHI con sus respectivas puntuaciones.

Factores de riesgo	Puntuación
Edad	0,5 por año >50
Auto percepción del estado de salud	0-3
Talla por cada pulgada	0,5 por pulgada >64
Peso por cada libra	1 por libra <200
Fractura después de los 50 años	0-2
Raza/etnia	3
Actividad física	1
Tabaquismo	0-3
Antecedentes familiares de FC	0-1
Uso de corticoides	3
Uso de antidiabéticos	2

2.2.4.4 Escala Fracture Risk Calculator.

Esta escala ha sido elaborada y validada por el programa “Osteoporosis and Bone Biology” del Garvan Institute of Medical Research (Sydney, Australia) y que puede ser aplicada tanto en hombre como en mujeres¹¹². Los FR que utilizan esta escala se muestran en la figura 7, y está disponible como calculadora online en la dirección www.fractureriskcalculator.com.

FRACTURE RISK CALCULATOR

Fill out the following to estimate your fracture risk

Full Name (optional)

Sex? Male Female

Age

Fractures since the age of 50 (excluding major trauma, e.g. car accidents)

Falls over last 12 months

Do you have a Bone Mineral Density (BMD) measurement? Yes No

T-scores ?

OR

Densitometer by DXA GE Lunar by DXA Hologic

Actual BMD g/cm³

Disclaimer

The results produced by our calculator should serve as a guide only. If concerned about your fracture risk, it is also important to consult your doctor or a bone specialist.

I have read and understand the disclaimer

Calculate Risk Factor →

Figura 7: Calculadora online del riesgo de Fractura, obtenida del Garvan Institute of medical Research.

2.2.4.5 Escala Fracture Risk Assessment Tool: FRAX.

En la actualidad, la escala FRAXTM es la herramienta más utilizada debido a que está validada tanto en hombre como en mujeres y ha sido propuesta por la OMS. Por este motivo esta escala será detallada en mayor profundidad.

El uso de la DMO de forma aislada en el diagnóstico de la Osteoporosis informa solo de una parte del riesgo de fractura que es claramente multifactorial. Asimismo, carece de una adecuada precisión diagnóstica, y tiene una baja sensibilidad, ya que muchas de las fracturas osteoporóticas aparecen en mujeres sin criterios densitométricos de osteoporosis¹¹³.

La inclusión de la información aportada por los FR independientes de la DMO mejora la sensibilidad para cualquier valor elegido de la especificidad¹¹⁴. Con la información aportada por estudios prospectivos poblacionales se ha podido demostrar y validar en otras poblaciones que, en el caso de FC, el gradiente de riesgo asociado a la presencia de factores de riesgo clínicos es similar a la de la densitometría como única fuente de información. Esto implica

que la valoración del riesgo puede mejorarse con la integración de los FR clínicos, tanto si se dispone de valores de DMO como si no.

Es preciso conocer el riesgo absoluto de fractura del paciente, puesto que resulta más informativo sobre el riesgo real de sufrir una fractura en los siguientes años y, además resulta un concepto fácil y sencillo para los pacientes y los clínicos que otras medidas (T-score, el riesgo relativo)¹¹⁵.

Con este objetivo, la Universidad de Sheffield con auspicio de la OMS identificaron FR a partir de 9 cohortes poblacionales prospectivas: Rotterdam Study, European Vertebral Osteoporosis Study (más tarde denominada European Prospective Osteoporosis Study (EVOS/EPOS), Canadian Multicentre Osteoporosis Study (CAMOS), así como los estudios Rochester, Scheffield, Dubbo Osteoporosis Epidemiology Study (DOES), una cohorte de Hiroshima y dos de Gothenburg.

Con la información obtenida se creó una herramienta para el cálculo del riesgo absoluto de FO en los siguientes 10 años (FRAXTM) basadas en factores de riesgos predictivos y ajustado por la tasa de fracturas osteoporóticas de diferentes países.

Como valor añadido, este cálculo se puede hacer sin conocer el valor predictivo de la DMO. Los FR utilizados para cada paciente se describen en la figura 8. Esta herramienta de evaluación de riesgo de Fracturas está disponible como calculadora online en la dirección web¹¹⁶: <http://www.sheffield.ac.uk/FRAX>.

FRAX[®] Herramienta de Evaluación de Riesgo de Fractura desarrollada por la Organización Mundial de la Salud (OMS)

Inicio Herramienta de Cálculo Tablas FAQ Referencias Español

Herramienta de Cálculo

Por favor responda las preguntas siguientes para calcular la probabilidad de fractura a diez años sin DMO o con DMO.

País: **España** Nombre/ID: Sobre los Factores de riesgo

Cuestionario:

1. Edad (entre 40-90 años) o fecha de nacimiento
 Edad: A M D
 Fecha de Nacimiento:

2. Sexo Hombre Mujer

3. Peso (kg)

4. Estatura (cm)

5. Fractura Previa No Sí

6. Padres con fractura de cadera No Sí

7. Fumador Activo No Sí

8. Glucocorticoides No Sí

9. Artritis Reumatoide No Sí

10. Osteoporosis Secundaria No Sí

11. Alcohol, 3 o más dosis por día No Sí

12. DMO de Cuello Femoral
 Seleccione DXA

Weight Conversion
 Pounds Kgs

Height Conversion
 Inches Cms

Figura 8: Calculadora online del riesgo de Fractura (FRAX), desarrollada por la OMS.

Este modelo tiene indiscutibles ventajas, como por ejemplo: la disponibilidad tanto de tablas para descargar en la web como de una calculadora online que en unos pocos segundos permite obtener un valor del riesgo absoluto. Además este modelo, contempla todas las causas de muertes así como el impacto de los FR de osteoporosis sobre otras causas de muertes (por ejemplo: tabaco y la muerte cardiovascular). No obstante, también presenta sus debilidades, ya que en la mayoría de los estudios poblacionales puede haber un sesgo de respuesta al incluir a los pacientes más enfermos y con mayor riesgo de fracturas.

Las principales críticas al modelo de FRAXTM se dirigen a su uso como herramienta para establecer criterios de indicación de tratamientos o de evaluación densitométrica.

Mas allá del previsible efecto del modelo sobre el reembolso de las densitometrías y de los tratamientos y el impacto que esto tendría sobre ciertas compañías; lo que parece claro de momento, es la ausencia de estudios que hayan mostrado prospectivamente la precisión de instrumento y, lo que no es menos importante, la incapacidad mostrada hasta la fecha para demostrar la eficacia de los fármacos antiosteoporóticos de que disponemos en sujetos seleccionados sólo en base a FR o incluso en sujetos con FR con osteopenia. Además, para algunos la mayoría predictiva de los modelos con factores de riesgo es escasa, especialmente en el caso de FC en mayores de 70 años y en fracturas no vertebrales¹¹⁷. No obstante, la herramienta FRAXTM es un claro avance en el reconocimiento del riesgo absoluto como factor clave para guiar a médicos y a pacientes en la toma de decisiones como la necesidad de pruebas complementarias accesorias o la indicación y necesidad de tratamientos farmacológicos.

2.3 TRATAMIENTO DE LA OSTEOPOROSIS Y PREVENCIÓN DE FRACTURAS.

2.3.1 Determinación diagnóstica específica para de la densidad mineral ósea en cadera.

Tal como se ha mencionado anteriormente, la osteoporosis es una enfermedad que se caracteriza por llevar al paciente a un estado de alto riesgo de sufrir una fractura ósea. Aunque varios son los factores que participan en su etiopatogenia, la masa ósea (como expresión cuantitativa de hueso), es uno de los más importantes. Pero la importancia de la masa ósea no solo radica en su participación en la etiopatogenia de la osteoporosis, sino por tratarse de un factor fácilmente medible con técnicas que han demostrado una gran precisión, exactitud y sensibilidad¹¹⁸.

La DMO como término referido a la medición de masa ósea, es en la actualidad uno de los factores más estudiados y conocidos gracias al desarrollo de la Absorcimetría Radiológica de Doble Energía (siglas en inglés DEXA) (Figura 9). El motivo principal por el que la DEXA es actualmente la técnica más aceptada, reconocida y ampliamente utilizada en el manejo de la osteoporosis, es por su demostrada capacidad de predecir de forma objetiva el riesgo de fracturas osteoporóticas: cadera, vertebrales y antebrazo^{119,120}, pero no discrimina adecuadamente entre las personas que presentaran una fractura y las que no, debido a su baja sensibilidad (pero elevada especificidad)^{121,122,123}.

También existen otros métodos diagnósticos indirectos tales como:

a.- Radiografías convencionales: no han mostrado ser un método sensible ni específico a los cambios de la masa ósea. La detección de los cambios consistentes se objetiva tardíamente, cuando la pérdida de la masa ósea representa alrededor del 30-50% del total¹²⁴. La radiografía convencional objetiva por ejemplo los aplastamientos de vértebras, lo que permite confirmar la presencia de fracturas vertebrales previas, o también evidenciar las FC¹²⁵.

b.- Marcadores de recambio óseo (MO): son sustancias químicas presentes en el suero y la orina que indican las tasas de recambio óseo (fosfatasa alcalina, osteocalcina, procolágeno, hidroxiprolina, etc). La mayoría de los métodos que evalúan los MO presentan una importante variabilidad debido a múltiples factores (edad, sexo, raza, determinadas enfermedades y medicamentos, dieta, ejercicio físico, estación del año, momento del día. Las características de los instrumentos y los diferentes proveedores que realizan las mediciones pueden afectar a los resultados finales^{79,126}. Los estudios concluyen que ningún marcador ni grupos de marcadores identifican adecuadamente a las mujeres que según la densitometría presentan una DMO baja y que la concordancia entre ambas pruebas es muy baja. Además los MO no muestran resultados consistentes sobre el riesgo de predecir fracturas. Asimismo la baja sensibilidad y especificidad de los MO no permite que éstos sean útiles en la selección de pacientes subsidiarios de tratamiento^{79,126,127}.

c.- Ultrasonidos (US): mide otros parámetros estructurales del hueso relacionados con la calidad ósea, mientras que el DEXA mide la cantidad ósea, por lo que este método podría identificar a una población de riesgo diferente a la que el DEXA identifica¹²⁸, sin embargo una de sus limitaciones es la escasa información disponible en mujeres menores de 65 años y su escasa precisión.

Además, estas revisiones indican que no existen estudios que justifiquen la utilización de los US para la toma de decisiones terapéuticas^{79,129}.

Todas estas técnicas no están indicadas como métodos de diagnóstico y seguimiento de la osteoporosis^{3,6,79,80}.

Debido a que la indicación para la realización del DEXA en los pacientes está limitada al ámbito solo de la Atención Especializada, esta metodología diagnóstica solo debería indicarse en los siguientes casos⁸¹:

- I. Mujeres entre 60 y 69 años, sin causas de osteoporosis secundarias, sin fracturas por fragilidad y con 3 o más FR*.
- II. Mujeres mayores de 70 años, sin causa de osteoporosis secundarias, sin fracturas por fragilidad y con 2 o más FR*.
- III. Mujeres menores de 75 años con fracturas previas.
- IV. Hombres mayores de 50 años con fracturas previas por fragilidad.

* Los FR principalmente son: peso < 57kg (IMC<19 ó 22); fractura materna >50 años; fumador actual; deterioro función física.



Figura 9: Equipo para valoración de la densidad mineral ósea, a través de dosis baja de rayos.

La evidencia disponible no apoya la necesidad de monitorizar la DMO en los 2 primeros años de tratamiento. Dado el coeficiente de variabilidad de las exploraciones del DEXA en columna lumbar y en el cuello femoral, parece razonable realizar las mediciones cada 2 años¹²¹. En este sentido, se ha demostrado que las mujeres que tras el primer año de tratamiento tienen una disminución en la DMO, que a partir del segundo año presentan un aumento de la DMO¹³⁰. Estos datos refuerzan la idea de que no es necesario monitorizar el tratamiento antes del segundo año.

Revisiones sistemáticas concluyen que el DEXA del cuello femoral es el mejor predictivo de las FC y es comparable con otras mediciones del antebrazo para predecir las fracturas en otras localizaciones. Asimismo, señalan que un resultado dentro del rango de osteoporosis, estaría asociado a un aumento de la probabilidad de FC a corto plazo y fracturas vertebrales¹²¹.

2.3.2 Tratamientos de las fracturas osteoporóticas.

2.3.2.1 Medidas generales en el tratamiento de la osteoporosis y fracturas osteoporóticas.

La prevención de la osteoporosis a lo largo de la vida puede repartirse en cuatro períodos:

- 1) Durante la niñez y adolescencia se pueden tomar medidas para optimizar la masa ósea pico que está genéticamente programada, fundamentalmente a través de la nutrición y el ejercicio.
- 2) Durante la edad adulta, una vez obtenida la masa ósea pico, lo importante es evitar factores secundarios, relacionados principalmente con la absorción de los alimentos, la irregularidad de los ciclos menstruales o el uso de medicamentos que puedan disminuir ese pico de masa ósea.
- 3) En la menopausia, se deben tomar medidas activas si ésta aparece a una edad precoz, antes de los 45 años. En la menopausia normal, asegurar una ingesta de calcio y actividad física adecuados.
- 4) En el envejecimiento, se deben mantener niveles adecuados de vitamina D e ingesta de calcio, actividad física regular y adoptar medidas ambientales que protejan al anciano de sufrir caídas.

Las medidas que a continuación se proponen estarán relacionadas con los periodos 3 y 4.

2.3.2.2 Medidas no farmacológicas.

Como se verá más adelante en el apartado de Factores de Riesgo, las FC son provocadas principalmente como consecuencia de una caída. Por lo tanto, para prevenir la aparición de una nueva fractura, la reducción del riesgo de caídas, es el objetivo fundamental.

La prevención de las caídas es un tema importante que con frecuencia no es suficientemente valorado por el médico y el paciente. Por lo tanto, se deben identificar los pacientes con alto riesgo de caídas por factores extrínsecos y ambientales. Este grupo de pacientes debe estar bien informado sobre las medidas que deben adoptar para prevenir las caídas.

Considerando este objetivo, se recomiendan en este grupo de pacientes las siguientes medidas preventivas encaminadas a evitar la pérdida de masa ósea y prevenir las caídas:^{14,10,11,79,81,82,83,84}

- Programa de fortalecimiento muscular y reentrenamiento del equilibrio, individualizado y en el hogar; caminatas de una hora al día; ejercicios grupales, especialmente si incluye Tai Chi u ejercicios aeróbicos con desplazamientos.
- Evaluación y modificación de los riesgos en el hogar: no tener en el domicilio alfombras deslizantes, escalones y cables sueltos; extremar el cuidado en el aseo personal; evitar subirse a sillas o banquetas; tener buena iluminación y pasamanos; usar calzado cómodo sin tacón.
- Corregir deficiencias sensoriales como la visión. En caso necesario, acelerar la cirugía de cataratas.
- Retirar la medicación psicotrópica. El médico de familia debe intentar un programa de retirada de benzodiazepinas.

- No existe evidencia firme de la utilidad de los protectores de cadera en la prevención de caídas, aunque es recomendable usarlo en ancianos asilados, un grupo de población con elevado riesgo de caída¹³¹.
- Utilizar medios para caminar si fuera necesario (bastón, andadores).
- Evitar el consumo de tabaco y alcohol. El alcohol disminuye la absorción intestinal de calcio e incrementa el catabolismo de los estrógenos. Por su parte, el alcohol provoca un efecto inhibitorio directo sobre los osteoblastos. Además, puede condicionar la malnutrición, déficit de vitamina D.
- Vitamina D + calcio. En los adultos se recomienda una ingesta de calcio de 1.500 mg/día, si no se consigue con la dieta, pueden utilizarse suplementos orales con calcio (carbonato de calcio u otras sales). Además se requieren valores adecuados de vitamina D para una óptima absorción intestinal del calcio. Una persona adulta debe ingerir 600-800 UI/día, pero son escasos los alimentos naturales ricos en vitamina D; entre ellos destacan los pescados grasos, aceites de pescado y algunos vegetales o cereales. Por ello, la deficiencia subclínica de vitamina D es frecuente y puede contribuir al desarrollo de osteoporosis, lo que hace necesario suplementar a los grupos de riesgo, como ancianos, mal nutridos o con trastornos de la absorción intestinal, institucionalizados, con baja exposición solar, o en tratamiento prolongado con antiepilépticos o glucocorticoides¹³².

2.3.2.3 Medidas farmacológicas. Fármacos que afecta la calcificación y el recambio óseo: Calcio, Vitamina D, Antirresortivos, Anabólicos.

Debido a que el objetivo principal del tratamiento de la osteoporosis es evitar las fracturas, los tratamientos farmacológicos disponibles deberían en la medida de lo posible satisfacer esta necesidad y no solo aumentar la DMO. En primer lugar hay que destacar que asegurar el cumplimiento del tratamiento es quizás la medida de seguimiento más importante que debe hacer el clínico¹³³, ya que se ha visto que el cumplimiento es menor del 50% de los pacientes en el primer año y del 80% después de tres años de tratamiento¹³⁴.

- Calcio, Vitamina D, antirresortivos y anabólicos en las FC:

Calcio asociado con Vitamina D:

Las necesidades de aporte óptimo de calcio recomendado por el NIH para mujeres postmenopáusicas se sitúan en los 1500 mg diarios de calcio elemento. Es importante considerar que no todas las sales de calcio contienen el mismo calcio elemento; para calcular el calcio farmacológico administrado debe tenerse en cuenta el contenido de calcio necesario para conseguir 1g de calcio elemento según esté en forma de carbonato (2,5 g); citrato (3,7 g); pidolato (7 g); lactogluconato (7,7 g); gluconato (11 g)¹³⁵.

Estudios han demostrado que el suplemento de calcio en mujeres postmenopáusicas, tras 2 o más años de tratamiento, tenían un efecto positivo en la DMO lumbar y de cadera, pero la reducción de FC no eran significativa^{85,136}. Otros señalan que tienen un pequeño efecto en la DMO de la cadera^{137,138} y que por si solo no reduce significativamente el riesgo de FC¹³⁸.

En el caso de la vitamina D, una hormona esencial para la correcta fisiología ósea en la formación y mineralización de la matriz ósea. La vitamina

D₂ (calciferol) ingerida en la dieta, o la D₃ (colecalfiferol), sintetizada en la piel, son hidroxiladas en el hígado para formar 35-Hidroxicolecalciferol, para así aumentar el transporte de calcio intestinal y la movilización de calcio en el hueso¹³⁹. Debido a que la cantidad de vitamina D que se ingiere de los alimentos no es suficiente, es recomendable que para mujeres postmenopáusicas con déficit de vitamina D, dar una dosis diaria oral de 700 a 800 UI. Estudios han señalado que la administración de vitamina D oral (700-800UI) por si solo aparentemente reduce el riesgo de fracturas vertebrales pero no las FC^{140,141}, ni de cualquier otro tipo en personas ancianas¹⁴². En vista de lo anterior, algunos trabajos han realizado estudios asociando ambos suplementos, y han concluido y recomendado dar calcio (1-1.2g) asociado con vitamina D (700-800UI), debido a un efecto positivo en la disminución en la DMO y caídas y por lo tanto en el riesgo de FC y vértebras en hombres y mujeres de 65-85 años institucionalizados o no^{143,144,145,146,147}.

Antirresortivos y Anabólicos:

En las últimas 2 décadas, las opciones terapéuticas disponibles para el tratamiento de la osteoporosis, prevención de las fracturas y la reducción de la mortalidad se ha incrementado drásticamente con el desarrollo de los agentes antirresortivos y anabólicos¹⁴⁸.

Los *agentes antirresortivos* aumentan la resistencia ósea al disminuir el número de unidades multicelulares óseas. Este efecto reduce la resorción y evita mayores daños estructurales del hueso trabecular al reducir la porosidad cortical. Los agentes antirresortivos incluyen bifosfonatos (Alendronato, risedronato, clodronato, etidronato, ibandronato y zaledronato), Raxolifeno, Estrogenos y Calcitonina.

Por otra parte los *agentes anabólicos*, aumenta la resistencia ósea al aumentar la masa ósea debido a un aumento en el número de unidades multicelulares óseas, con lo cual se logra que la fase de formación sea mayor que la de resorción^{149,150}. Los agentes anabólicos incluyen la Teriparatida (fragmento activo (1-34) de la hormona paratiroidea humana) y posiblemente Ranelato de estroncio, el cual induciría una combinación de efecto modesto en la formación y resorción de hueso.

- Bifosfonatos:

Los bifosfonatos (BF) son actualmente la clase más ampliamente usados y aprobados como inhibidores del recambio óseo. Su principal acción es inhibir la resorción ósea mediada por los osteoclastos. Los BF reducen el recambio óseo disminuyendo el número de sitios de remodelado activo donde tiene lugar la resorción excesiva¹⁵¹.

Se ha propuesto que dos mecanismos moleculares distintos son los responsables de los efectos de estos fármacos en la función osteoclástica¹⁵². Por una parte están los BF que no contienen nitrógeno como por ejemplo: etidronato y clodronato que alteran la función de las células para metabolizar a análogos citotóxicos, ATP-bisfosfonatos; y por otra parte los BF que contienen nitrógeno como el alendronato, risedronato ácido, ibandronato y zoledrónico, que han demostrado tener un mayor poder antirresortivo que los BF que no

contienen nitrógeno. La Figura 10 muestra las estructuras químicas de los BF nitrogenados y no nitrogenados.

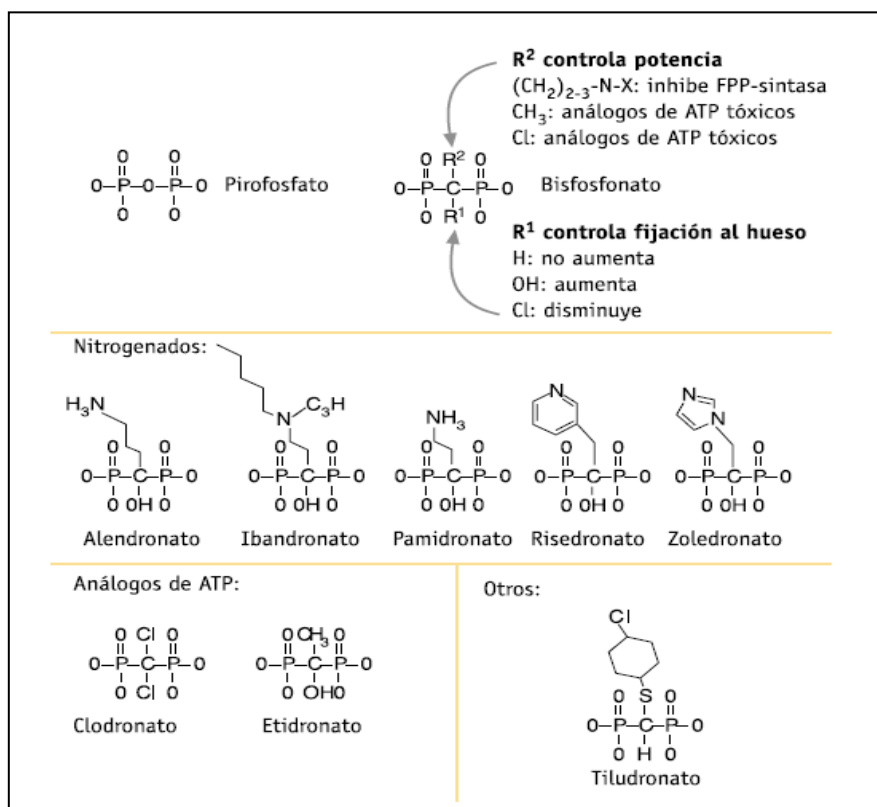


Figura 10: Estructura química de los Bifosfonatos nitrogenados y no nitrogenados.

El mecanismo de acción de los BF nitrogenados, es a través de su unión a farnesil pirofosfato sintetasa, inhibiendo la actividad enzimática intracelular de la vía del mevalonato (3-hidroxi-3-metilglutaril CoA reductasa) y detiene la producción necesaria de esteroides, colesterol y lípidos (Figura 11). La pérdida de estos compuestos intracelulares conduce a una disminución postraduccional en la modificación de las proteínas clave (Rab, Rac y Rho). La regulación de la actividad celular central de los osteoclastos es interrumpida, y finalmente se produce, la apoptosis de los osteoclastos. Este mecanismo de acción parece estar limitado a los osteoclastos y se cree que es debido a la unión del fármaco a la hidroxiapatita en los huesos, con la consecuente ingestión celular que ocurren estrictamente con los osteoclastos durante la resorción ósea¹⁵³.

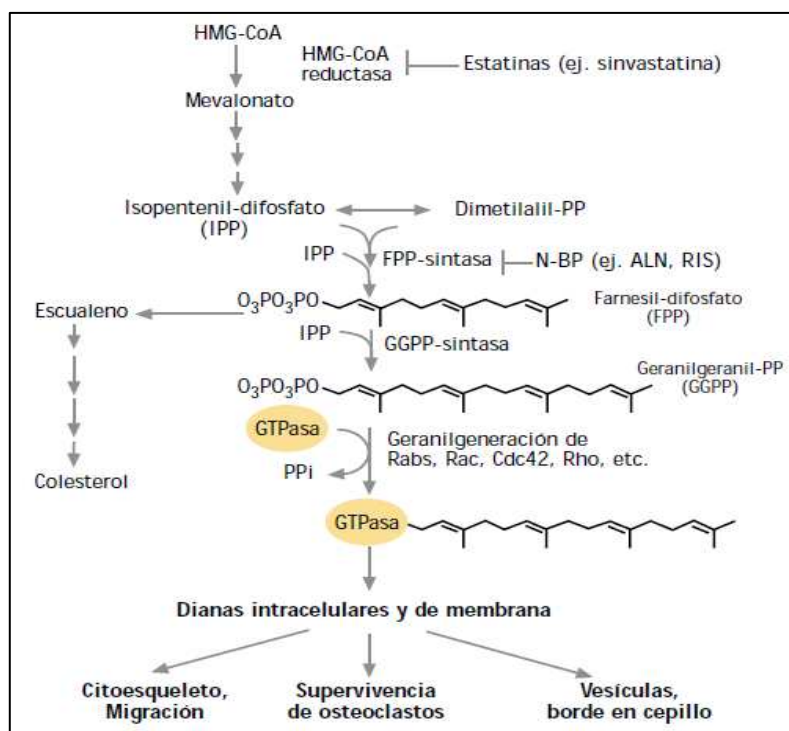


Figura 11: Esquema del mecanismo de acción de los bifosfonatos nitrogenados.

- Raloxifeno:

El raloxifeno, un modulador selectivo del receptor estrogénico, perteneciente a la familia de los benzotiofenos, inhibe competitivamente a 17- β estradiol en los receptores de estrógenos. La unión de raloxifeno en el receptor de estrógenos, da lugar a un cambio en el propio receptor y evita la unión de la proteína co-reguladora y la activación del bloqueo del receptor de estrógenos¹⁵⁴. El raloxifeno bloquea la activación del factor de crecimiento β -3, aumentando la tasa de apoptosis de los osteoclastos y la diferenciación de los osteoblastos, disminuyendo la resorción ósea y la regulación del remodelado óseo¹⁵⁵.

- Terapia hormonal de reemplazo:

La terapia hormonal de reemplazo (TRH), como el estradiol 17- β (estrógeno), actúa en el hueso a través de 2 vías: directa e indirectamente. La acción indirecta de los estrógenos implica la regulación del factor de crecimiento y la producción de citoquinas en los osteoblastos, que a su vez regulan la diferenciación y actividad de los osteoclastos, mientras que la acción directa actúa directamente en la resorción ósea osteoclástica¹⁵⁶.

- Calcitonina:

La calcitonina es un péptido hormonal endógeno producido en la glándula tiroides. La liberación de calcitonina se aumenta por la elevación de los niveles de calcio en la sangre. Se ha demostrado in vitro, que en bajas concentraciones, la calcitonina produce un rápido, aunque transitorio, cambio

en la estructura del citoesqueleto de los osteoclastos activos. Este cambio estructural, genera osteoclastos ineficaces, pero no causa apoptosis de las células osteoclásticas, si no que conduce a una reducción de la resorción ósea. Se ha informado de que los efectos de la calcitonina son más evidentes en el hueso trabecular que en hueso cortical, que es probablemente debido al aumento de recambio óseo en el hueso trabecular¹⁵⁷.

- **Teriparatida:**

La teriparatida, es el fragmento activo (1-34 amino) de la hormona paratiroidea humana endógena (o paratohormona-PTH) que se prepara por recombinación genética. La teriparatida funciona de manera similar a la hormona endógena, regulando el metabolismo de calcio y fósforo en los huesos y riñones.

La teriparatida, pautada en dosis intermitentes, actúa como un agente anabólico óseo, estimulando la función de los osteoblastos, incrementando la absorción de calcio gastrointestinal, y aumentando la reabsorción tubular renal de calcio. Cuando se alcanza una dosis continua alta, se estimula la función osteoclástica. Por lo tanto, la teriparatida puede incrementar o disminuir la masa ósea dependiendo de la dosis administrada¹⁴⁹.

- **Ranelato de Estroncio:**

El ranelato de estroncio tiene una combinación de un modesto efecto anabólico y antirresortivo, aumentando el colágeno y la síntesis de proteínas no colágenas, mejorando así la diferenciación preosteoblástica, inhibiendo la diferenciación osteoclástica y reduciendo la función osteoclástica¹⁵⁸.

2.3.2.4 Nuevas dianas Terapéuticas. Terapias antirresortivas: Denosumab, Odanacatib y Saracatinib.

Denosumab:

Denosumab es nuevo principio activo ha salido al mercado, aunque aun en evaluación en el mercado europeo¹⁵⁹. Este es un anticuerpo monoclonal completamente humano para el ligando de receptor activador para el factor nuclear K-B (sigla en inglés RANKL), un esencial mediador en la resorción ósea osteoclástica ubicado en la superficie de membrana de osteoblastos¹⁶⁰. El RANKL juega un papel importante en la patogénesis de la osteoporosis posmenopáusica; en la pérdida ósea asociada a otros trastornos esqueléticos; y en los daños estructurales en la artritis reumatoide^{161,162}, donde el denosumab ha demostrado alentadores resultados en pacientes con osteoporosis y artritis reumatoide¹⁶³.

En varios ensayos clínicos se ha demostrado el impacto positivo del Denosumab en pacientes con baja DMO y/o pacientes osteoporóticos. Un estudio en fase II, controlado y aleatorizado realizado en mujeres postmenopáusicas norteamericanas con T-score entre -1 y -2.5 en columna lumbar, demostró que denosumab de 60mg cada 6 meses aumentaba significativamente la DMO en columna lumbar y cadera total en comparación con el placebo ($p < 0.0001$) y redujo significativamente los MO¹⁶⁴. De igual

manera, un estudio randomizado, aleatorizado realizado en mujeres postmenopáusicas norteamericanas con T-score entre -1.8 y -4 en columna lumbar y -1.8 y -3.5 en fémur proximal, se demostró que con dosis de 60mg de denosumab cada 6 meses, se incrementó la DMO y se disminuyó los MO en comparación con el placebo¹⁶⁵. Además, otro estudio de fase II en mujeres postmenopáusicas con osteoporosis (T-score -2.5 y -4 en columna lumbar o cadera total) que recibieron denosumab 60mg cada 6 meses, demostró una disminución significativa en la incidencia de fracturas vertebrales y de cadera en comparación con el placebo¹⁶⁶.

Otros estudios han comparado la eficacia del denosumab con alendronato sobre la DMO y MO. Un estudio multicéntrico de fase III, realizado en mujeres postmenopáusicas con baja DMO, se les asignó aleatoriamente en proporción 1:1 alendronato 70mg/ día y denosumab 60mg/ 6 meses respectivamente, demostrando una ganancia de DMO significativamente superior y una mayor reducción de los MO en comparación con alendronato¹⁶⁷. Asimismo, un estudio multicéntrico, randomizado realizado en mujeres postmenopáusicas osteopénicas u osteoporóticas en tratamiento con alendronato al menos 6 meses¹⁶⁸. En este estudio, se demostró que el cambio a denosumab provocaba en las mujeres un incremento en la DMO a nivel lumbar, cadera total, cuello femoral y radio distal, y una reducción significativa en el remodelado óseo comparado con aquellas mujeres que continuaron el tratamiento con alendronato.

Odanacatib:

Sobre la base del concepto que la proteasa catepsina K tiene un papel importante en la degradación enzimática del hueso, el uso de inhibidores de la catepsina K, ha surgido como un enfoque terapéutico novedoso. Una alta especificidad y afinidad por la catepsina K en otras catepsinas (D, A y S) que se expresan ampliamente, sobre todo en la piel, fue crucial para esta clase de compuestos. Odanacatib es actualmente el inhibidor de la más avanzada de la catepsina K bajo investigación clínica¹⁶⁹.

En estudios en fase 1, el odanacatib a dosis oral de 50 mg y 100 mg una vez a la semana reduce las concentraciones séricas del marcador de resorción ósea CTX en un 62%; y la administración diaria de odanacatib (10 mg) redujo las concentraciones séricas de CTX en un 81%¹⁷⁰.

En un estudio en fase 2¹⁷¹, los efectos de dosis orales semanales de odanacatib se evaluaron en 399 mujeres con osteoporosis posmenopáusica. Después de 24 meses, odanacatib (50 mg) aumentó la DMO en la columna lumbar en un 5,7% y en cadera total en un 4,1% en comparación con el placebo. Cabe destacar que un subconjunto de 32 mujeres sometidas a biopsias óseas mostró que el tratamiento con odanacatib resultó en una reducción moderada y transitoria de los marcadores de formación ósea sin la supresión de la tasa de formación ósea.

En la actualidad, un estudio en fase 3 está en marcha con más de 16000 mujeres posmenopáusicas para evaluar la eficacia antifractura de odanacatib (NCT00529373).

Saracatinib:

La proteína quinasa Src es altamente expresado en los osteoclastos y media de múltiples vías que regulan la actividad de los osteoclastos. La deficiente de src en ratones ha provocado osteopetrosis.

El efecto del deterioro de las funciones osteoclástica en ratones deficientes en la quinasa src a promovido la exploración de su efecto sobre el esqueleto.

En estudio de fase 1¹⁷², saracatinib (AZD0530) fue evaluado en 59 hombres jóvenes sanos, demostrando una disminución de las concentraciones séricas del marcador óseo CTX en un 88% y la excreción urinaria del marcador NTX en un 67% (250 mg) después de 25 días. Las concentraciones de los marcadores de formación ósea en el grupo saracatinib fueron similares a los del grupo placebo. Saracatinib se está estudiando en estudios en fase 2 para el osteosarcoma (NCT00752206) y metástasis óseas (NCT00558272), pero no para la osteoporosis.

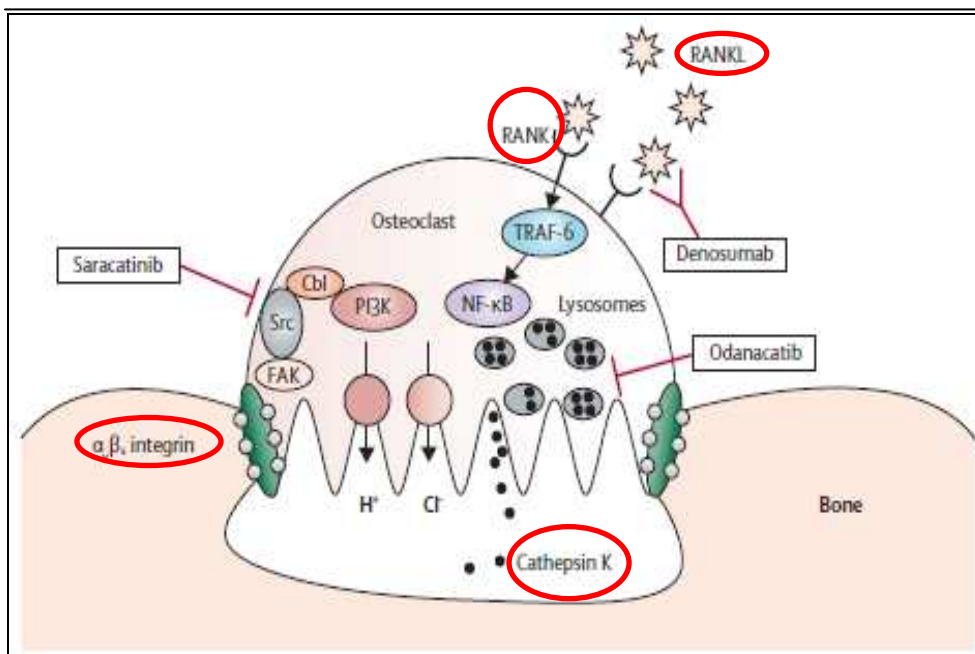


Figura 12: Fisiología de los osteoclastos y potenciales dianas terapéuticas. Con la ayuda de la integrina αβ3, los osteoclastos se adhieren a la superficie ósea. Las bombas de protones y los canales de cloruro generan un microambiente ácido que es esencial para la actividad catalítica de las enzimas osteoclástica como la catepsina K. Odanacatinib inhibe la catepsina K, una proteasa lisosomal que degrada colágenos. Tirosina quinasa src desempeña un papel crucial en la actividad de los osteoclastos y puede ser inhibida por saracatinib. RANKL actúa como regulador esencial en la diferenciación de los osteoclastos. El denosumab evita la unión de RANKL a su receptor RANK. (Adaptado de Rachner et al 2011)

2.3.3 Tratamientos farmacológicos en la prevención primaria y secundaria de fracturas de cadera.

Es indispensable recordar que además del tratamiento farmacológico, se adopten hábitos de vida saludable y medida higiénico dietéticas que favorezcan la calidad de vida del paciente. Desde el punto de vista farmacológico, los BF han demostrado tener un impacto positivo en la prevención primaria y secundaria en las FC^{173,174}. En la tabla 5 se ejemplifica el efecto de los BF sobre la DMO y fracturas.

La capacidad que tienen los BF para inhibir la resorción ósea hace que sean útiles en el tratamiento de la osteoporosis y la prevención de FC por fragilidad ósea. De los BF que se administran por vía oral y que más impacto ha tenido es el principio activo Alendronato o Acido Alendrónico, cuya administración es de manera continua, bien en una dosis diaria de 10 mg, o bien en una dosis semanal única de 70 mg¹⁷⁵. Evidencias científicas^{173,174}, recomiendan tras amplios estudios con los fármacos disponibles para la osteoporosis, el uso de Alendronato como primera elección en mujeres postmenopáusicas con osteoporosis y/o riesgo de fracturas; o bien mujeres mayores de 75 años solo con riesgo de fracturas. El alendronato reduciría el riesgo de fracturas vertebrales, no vertebrales y de cadera tanto primaria como secundarias^{10,173,174,176,177}, además de ser mejor coste/efectivo como principio activo^{173,174}. Es necesario considerar que no está confirmado al no haber evidencias de eficacia del uso de Alendronato en mujeres mayores de 80 años¹⁷⁸. Además, un metanálisis demostró que el Alendronato reduce el riesgo de FC, así como también las vertebrales en pacientes con osteoporosis^{179,180}. En otro meta-análisis, cuyo estudios comparaban varios BF, se concluyó que el Alendronato demostró un importante efecto beneficioso en la prevención secundaria de cualquier fractura osteoporótica, con una reducción significativa en la cadera. A pesar de lograr un reducción en la prevención primaria de FC, los valores no fueron significativos, aunque si las de vértebras¹⁸¹.

Debido a que muchos pacientes osteoporóticos presentan deficiencias de calcio y vitamina D, es recomendable administrar estos elementos junto a alendronato ya que han demostrado mejor respuesta terapéutica^{85,173,174}.

Por otra parte, otros estudios han demostrado que si existe contraindicación en el uso de Alendronato, no es tolerado o la respuesta es insatisfactoria, se recomienda el tratamiento de Zaledronato inyectable anual^{173,174}.

Tabla 5: Efecto de los bifosfonatos administrados por vía oral en la DMO y fracturas.

Bisfosfonatos	Administración	DMO columna	DMO cadera	Fracturas vertebrales	Fracturas cadera
Etidronato	Intermitente	+	+	+	-
Alendronato	Diario	+	+	+	+
	Semanal	+	+	NA	+
Residronato	Diario	+	+	+	+
	Semanal	+	+	NA	NA
Ibandronato	Diario	+	+	+	NA
	Intermitente	+	+	+	NA
Pamidronato	Diario	+	+	+	NA
Clodronato	Diario	+	+	+/-	NA

(+: Efecto positivo; -: no efecto; NA: no analizado).

2.3.4 Duración del tratamiento farmacológico con bisfosfonatos.

La mayor parte de los ensayos clínicos se han prolongado durante 3 años^{182,183}. Es en ese período cuando se produce la mayor ganancia de masa ósea. Puesto que los BF se acumulan en la matriz ósea, su efecto persiste durante bastante tiempo después de suspendida su administración. Además, a diferencia de lo que ocurre con otros fármacos antiresortivos, tras la suspensión de los BF no se experimenta una aceleración del recambio óseo, sino que los marcadores de remodelado se mantienen en niveles bajos durante 1-2 años. Por tanto, atendiendo a razones de coste-efectividad y de comodidad de los pacientes, parece razonable suspender temporalmente el fármaco tras 3-4 años de tratamiento y reiniciarlo después de un período de descanso de 1-2 años. No obstante, en los pacientes más graves es razonable prolongar la administración durante más tiempo, pudiendo conseguir una cierta ganancia de masa ósea durante los 5 a 10 años¹⁸⁴.

2.3.5 Razones de la diferente incidencia de osteoporosis en mujeres y hombres.

La osteoporosis es una enfermedad tradicionalmente considerada propia de la mujer. Sin embargo, con ella ocurre algo similar, aunque a la inversa, a lo que sucede con la enfermedad vascular: tradicionalmente considerada femenina, hoy se sabe que también tiene importancia en el sexo masculino.

Las razones de la diferente incidencia de osteoporosis en ambos sexos son varias, y pueden sistematizarse en dos grandes grupos: factores óseos y factores extraóseos.

1.- Factores óseos:

Se clasifican en dos tipos: diferencias cuantitativas y diferencias cualitativas.

Existen dos razones para que haya diferencias cuantitativas. La primera, el hecho de que al finalizar el desarrollo, el varón posee una masa ósea mayor (en un 25-30%) que la de la mujer. Debe precisarse que esta mayor masa ósea, cuando se divide por el mayor volumen del esqueleto masculino, proporciona una densidad similar. Cuando la masa ósea no se refiere al volumen, sino al área, como ocurre con los resultados proporcionados por la DEXA, se obtiene en el varón un valor de un 10-15% superior. En todo caso, al ser mayor el tamaño del esqueleto del varón, su resistencia es también mayor. La segunda razón de que existan diferencias cuantitativas entre ambos sexos es la de que el hombre no experimenta un fenómeno equivalente al de la menopausia que, por la brusca depleción hormonal que supone, determina una pérdida ósea acelerada en la mujer^{185,186}.

Las diferencias cualitativas tienen que ver con las diferencias en la remodelación (recambio) y la modelación óseas entre ambos sexos. En el recambio óseo, como ya hemos comentado previamente, la osteoporosis postmenopáusica es una osteoporosis de alto recambio, mientras que la osteoporosis del varón, en su forma idiopática, no lo es. La existencia de un aumento de recambio óseo significa la presencia de un mayor número de

unidades de remodelación ósea, lo que tiene dos tipos de consecuencias. En primer lugar, ya que cada unidad constituye un espacio carente de hueso, y, por tanto, un lugar de menor resistencia, el incremento de su número disminuye la resistencia de las estructuras óseas en que se asientan. En segundo lugar, ya que cada unidad conduce a pérdida de masa ósea una vez que se encuentra en balance negativo (lo que ocurre a partir de, aproximadamente, los 40 años), la presencia de un número excesivo de ellas, actuando continuamente, determina una acumulación de pérdida de masa ósea, que se traduce en la perforación y desaparición de las trabéculas. En definitiva, en la mujer se produce una desconexión trabecular, con presencia en las trabéculas conservadas de lugares de menor resistencia. En la osteoporosis idiopática del varón, dado que el recambio óseo es menor, simplemente se produce un adelgazamiento de las trabéculas, sin desconexión de las mismas, y el número de lugares de menor resistencia debidos a las unidades de remodelación también es menor. En cuanto a las diferencias en la modelación ósea, no repercuten fundamentalmente sobre el hueso trabecular, como ocurría con las de la remodelación, sino sobre el cortical. Efectivamente, en ambos sexos se produce a lo largo de la vida en los huesos tubulares una resorción endocavitaria, que tiende a adelgazar la cortical, junto a una aposición ósea subperióstica, que tiende a compensar lo anterior. Sin embargo, la formación de hueso en la superficie externa es inferior en la mujer que en el hombre, lo que acentúa las diferencias en la masa ósea y en la resistencia esquelética¹⁸⁷.

2.- Factores extra-óseos:

Desde este punto de vista deben considerarse dos aspectos: la mayor longevidad de la mujer y su mayor tendencia a las caídas¹⁸⁸.

El hecho de que la mujer alcance edades superiores a las del hombre supone un mayor tiempo de exposición al padecimiento de fracturas. Buena muestra de la importancia de este fenómeno es el hecho, ya comentado, de que, mientras la relación mujer/varón de FC en términos absolutos es de aproximadamente 3, tras corregir por la edad, la relación es de sólo de 2.

Respecto a las caídas, por razones no bien esclarecidas, y a igualdad de edad, la mujer tiende a caerse más que el hombre, lo que, lógicamente, la pone más veces en situación de riesgo de fractura.

2.3.6 Tratamiento eficaz para la fractura de cadera en hombres.

A diferencia de lo que ocurre en el tratamiento de la osteoporosis femenina, no se disponen de estudios concluyentes respecto al tratamiento de la osteoporosis del varón. La mayor parte de los trabajos realizados no han tenido como objetivo primario la fractura, sino la masa ósea, y son de tamaño muestral muy pequeño. Por otra parte, con frecuencia no se han seleccionado poblaciones de estudio homogéneas, de manera que no podemos asegurar a qué tipo de osteoporosis masculina cabe aplicar los resultados. Todo ello hace que, en gran medida, basemos nuestra conducta terapéutica respecto a la osteoporosis del varón en extrapolaciones desde lo conocido en la mujer.

No obstante, el tratamiento de la osteoporosis en los hombres consiste fundamentalmente en identificar y tratar las causas específicas de pérdida ósea, manteniendo una dieta balanceada con una ingesta adecuada de calcio y vitamina D y realizar un ejercicio físico adecuado o un programa de terapia física.

De acuerdo a los diferentes estudios realizados en varones osteoporóticos se proponen las siguientes medidas farmacológicas^{10,189,190,191,192}.

- Utilizar suplemento de Calcio (600g-1.2g/día) y Vitamina D (400-800UI) si la ingesta en la dieta no es óptima.

- El Alendronato ha demostrado mejor efectividad, ya que provoca un aumento de la masa ósea y una reducción del riesgo de fracturas en los hombres con osteoporosis. La dosis de Alendronato es 10mg al día¹⁹³.

- Otros bifosfonatos no son recomendados, sin embargo algunos expertos consideran que el Risedronato puede darse como alternativa cuando no toleran el Alendronato^{173,174,194}.

- En el caso de hombres osteoporóticos muy mayores o frágiles se deberán tomar las medidas para disminuir el riesgo de caídas y reducir el impacto de dichas caídas¹⁹⁵.

2.4 ATENCIÓN FARMACÉUTICA.

Es conocido que los medicamentos no siempre alcanzan los objetivos terapéuticos, ya sea porque no es efectiva en el paciente o porque provoca la aparición de nuevos problemas de salud^{196,197,198}.

Los medicamentos pueden conseguir el objetivo terapéutico para los que fueron prescritos, y en farmacoterapia este hecho también supone un daño al paciente.

Este amplio abanico de problemas de salud relacionados con la necesidad, efectividad y seguridad de la farmacoterapia, han quedado agrupados bajo la denominación de *Problemas Relacionados con la Medicación (PRM)*. Aunque este término ya había sido utilizado anteriormente, no fue hasta el año 1990 cuando fue definida y clasificada de forma exhaustiva¹⁹⁹.

Bajo este concepto, se incluyeron todas posibles interferencias en los resultados esperados y que están relacionadas con la medicación. Además quedaron incluidos los fracasos en la consecución de los resultados farmacoterapéuticos esperados.

2.4.1 Problemas Relacionado con la Medicación (PRM), Resultado Negativo asociado a la Medicación (RNM): necesidad, efectividad, seguridad.

Desde que se definió los PRM, el debate acerca de la idoneidad y significado de este término sigue abierto, y hasta la fecha no se ha conseguido un término único que se ve manifestado en la gran variedad de denominaciones en los artículos científicos publicados en esta materia.

A raíz de lo anterior, en el año 2002 el consenso de Granada sobre PRM¹⁹⁷, definió estas entidades clínicas y las clasificó. En él se estableció que los PRM son: “problemas de salud, entendidos como resultados clínicos negativos, derivados de la farmacoterapia que, producidas por diversas causas, conducen a la no consecución del objetivo terapéutico o a la aparición de efectos no deseados”. Propuso una clasificación de PRM en 6 tipos, agrupados en 3 categorías: Necesidad, Efectividad y Seguridad.

En el año 2005, un grupo de expertos realizaron una revisión del concepto de PRM y sus relaciones con otros términos²⁰⁰ ya que según explican los autores, el término PRM ha sido ampliamente usado para describir un concepto que no es particularmente específico. Muchas de las definiciones y clasificaciones de PRM que actualmente existen en el mundo mezclan elementos del proceso, es decir, las causas que pueden producir los resultados negativos de la farmacoterapia, con otros que no son sino resultados clínicos propiamente dichos.

Es por esto, y ante la necesidad de adoptar un término que identifique claramente los resultados negativos asociados al uso de los medicamentos y distinguirlos de otros elementos del proceso, un grupo de expertos propusieron sustituir el termino PRM por *Resultados Negativos asociados a la Medicación (RNM)*^{200,201}.

A consecuencia de lo anterior, en el 2001 por parte del Ministerio de Sanidad y consumo, se publicó un Documento de Consenso sobre Atención Farmacéutica (AF), en el que se definieron los conceptos relacionados con la

AF²⁰². En el año 2004 el Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos de España, convocó un Foro sobre AF, con el objetivo fundamental de desarrollar el documento de consenso sobre AF del 2001.

El resultado de este Foro publicó un Documento sobre conceptos y definiciones de PRM y RNM²⁰³. En este documento se definió los PRM como *aquellas situaciones que en el proceso de uso de medicamentos causan o pueden causar la aparición de un resultado negativo asociado a la medicación (RMN)*. Los PRM son elementos del proceso que suponen para el usuario de medicamento un mayor riesgo de sufrir RNM. Y definió a los RNM, como *los resultados en la salud del paciente no adecuados al objetivo de la farmacoterapia y asociados al uso de medicamentos*.

Se define como “sospecha de RNM”, la situación en la cual el paciente está en riesgo de sufrir un problema de salud asociado al uso de medicamentos, generalmente por la existencia de uno o más PRM, a los que podemos considerar como factores de riesgo de este RNM. Lo anterior, hizo necesario realizar una revisión del Segundo Consenso de Granada sobre PRM. Por lo tanto, el Tercer Consenso de Granada sobre PRM y RNM¹⁹⁸, asumió que los PRM eran causas de RNM y aceptó las definiciones anteriormente propuestas por el Foro para ambos conceptos.

La clasificación de RNM según el Tercer Consenso de Granada se recoge en la Tabla 6:

Tabla 6: Clasificación de resultados negativos a la medicación (necesidad, seguridad, efectividad) según el Tercer Consenso de Granada.

CATEGORÍAS	TIPOS DE RNM	DEFINICIÓN
NECESIDAD	Problemas de Salud no tratados	El paciente sufre un problema de salud asociado al no recibir una medicación que necesita.
	Efecto de medicamento innecesario	El paciente sufre un problema de salud asociado al recibir una medicación que necesita.
EFECTIVIDAD	Inefectividad no cuantitativa	El paciente sufre un problema de salud asociado a una inefectividad no cuantitativa de la medicación.
	Inefectividad cuantitativa	El paciente sufre un problema de salud asociado a una inefectividad cuantitativa de la medicación.
SEGURIDAD	Inseguridad no cuantitativa	El paciente sufre un problema de salud asociado a una inseguridad no cuantitativa.
	Inseguridad cuantitativa	El paciente sufre un problema de salud asociado a una inseguridad cuantitativa.

Debe considerarse que:

- Un medicamento es necesario cuando ha sido prescrito o indicado para un problema de salud concreto que presenta el paciente.
- Un medicamento es inefectivo cuando no alcanza suficientemente los objetivos terapéuticos esperados.
- Un medicamento es inseguro cuando produce o empeora algún problema de salud.
- Un resultado negativo de la medicación se considera cuantitativo cuando depende de la magnitud de un efecto.

Cuando aparece un RNM se afecta de manera sustancial la calidad de vida del paciente. Cuando el paciente está ingresado en un hospital, estos aspectos cobran especial relevancia, no sólo porque afectan a la salud del paciente, sino porque afecta igualmente al proceso asistencial en su efectividad y eficiencia.

En vista de que los riesgos de los medicamentos no solo se limitan a reacciones adversas, y que éstas son una parte de los resultados negativos posibles de la medicación, determinados autores han estudiado esta problemática en su totalidad obteniendo resultados dispares, pero que arrojan luz sobre la magnitud de este fenómeno.

Estudios han demostrado que en hospitales Europeos la prevalencia de PRM en pacientes hospitalizados es de alrededor de un 71%^{204,205}. En el caso de las urgencias hospitalarias, se observaron que las consultas eran causadas por un 19% de PRM o RNM²⁰⁶, llegando en algunos casos al 33%²⁰⁷.

Estudios realizados en hospitales Españoles, han demostrado PRM con una media entre los 2.7 y 4.9 por pacientes, con una tasa de resolución desde el 32 al 42.6%^{208,209}, e incluso con hasta el 98%, asociados principalmente a RNM de necesidad²¹⁰.

Es muy importante considerar, la relación existente entre la aparición de estos RNM y determinados factores o características intrínsecas del paciente como la edad avanzada, la existencia de patologías concomitantes, la polimedicación. Asimismo, la existencia de determinados medicamentos en el tratamiento del paciente también puede condicionar la aparición de RNM durante la hospitalización como por ejemplo los antitrombóticos, los antiinflamatorios no esteroidales, los analgésicos opioides, los diuréticos y los fármacos cardiovasculares.

En consecuencia, el uso de medicamentos genera esta problemática en forma de resultado negativo, lo que requiere estrategias validas en los distintos ámbitos asistenciales para resolverlos e incluso prevenirlos, mejorando con ello la seguridad del paciente. La actuación coordinada que requiere la comunicación y trabajo diario en equipo entre médicos, farmacéuticos y otros miembros de la salud es un requisito previo y necesario para mejorar la seguridad del paciente y ofrecer un servicio eficaz y de calidad.

2.4.2 Seguimiento Farmacoterapéutico.

El documento de Consenso sobre Atención Farmacéutica de 2001²⁰², definió al Seguimiento Farmacoterapéutico *como la práctica profesional en la que el farmacéutico se responsabiliza de las necesidades del paciente relacionadas con los medicamentos. Esto se realiza mediante la detección, prevención y resolución de problemas de relacionados con la medicación (PRM). Este servicio implica un compromiso, y debe proveerse de forma continuada, sistematizada y documentada, en colaboración con el propio paciente y con los demás profesionales del sistema de salud, con el fin de alcanzar resultados concretos que mejoren la calidad de vida del paciente.*

A pesar de que varias clasificaciones han considerado que los PRM se refieren a detectar, prevenir y resolver los resultados negativos de los pacientes, asociados al medicamento o a la falta de éste, muchas de las clasificaciones de PRM que actualmente existen en el mundo mezclan

elementos del proceso, es decir, las causas que pueden producir los resultados negativos de la farmacoterapia, con otros que no son sino resultados clínicos propiamente dichos. Por lo tanto, fue necesaria una modificación de la definición del SFT que adapte el acuerdo alcanzado²⁰³ sobre los conceptos PRM y RNM (ambas definiciones fueron descritas en los apartados anteriores).

El SFT responde a los principios básicos de los procesos asistenciales en los que se refiere a trabajo en equipo, con la mayor evidencia científica, centrada en el paciente y que pretende dar continuidad a la asistencia en un aspecto relevante como es el uso de los medicamentos con el fin de obtener el máximo beneficio de los mismos.

Con el SFT se consigue el objetivo de gestionar riesgos y se contribuye a la seguridad del paciente en la utilización de medicamentos; se trata de intervenir y resolver el problema de salud del paciente²¹¹.

Varios estudios han publicado que para prevenir los errores de medicación asistenciales, la incorporación del profesional farmacéutico en los equipos asistenciales para el control de los tratamientos y su participación activa en todos los procesos de utilización del medicamento es una estrategia de prevención fundamental^{212,213}.

El SFT reúne estos requisitos en cuanto a que es una actividad que puede definirse con claridad y efectividad si se aplicara ampliamente, y por lo tanto tendría un impacto positivo en la seguridad del paciente en términos de morbimortalidad y puede realizarse en distintos ámbitos y tipos de pacientes.

El cumplimiento de estos criterios, convierte al SFT en una práctica candidata para ser instaurada en los hospitales para mejorar la seguridad en el uso de los medicamentos y con ello, la seguridad asistencial. De hecho, el Plan Estratégico de Política Farmacéutica para el Sistema Nacional de Salud²¹⁴ ya lo incorpora dentro de sus recomendaciones para asegurar una mejora sustancial de la calidad de la prestación farmacéutica, considerándolo “un procedimiento válido para gestionar y reducir los riesgos que la utilización de medicamentos puede ocasionar en la salud de los pacientes por la inseguridad e inefectividad de los mismos”.

Con lo anterior, puede afirmarse que trabajar en seguridad del paciente en su relación con el medicamento, es la aportación del farmacéutico, a través de la AF²⁰² y en concreto a través del SFT. Para identificar, prevenir y resolver RNM es necesario contar con una metodología estandarizada, que permita registrar y evaluar para la mejora continúa.

El SFT como cualquier otra actividad sanitaria, necesita para ser realizada con la máxima eficiencia, de unos procedimientos de trabajo protocolizados y validados a través de la experiencia y que permita una evaluación del proceso y sobretodo de los resultados.

2.4.3 Método Dáder.

El Método Dáder fue desarrollado por el grupo de Investigación en Atención Farmacéutica de la Universidad de Granada en el año 2002, como una técnica para hacer SFT²¹⁵. Esta herramienta utilizada en distintos países, se basa en la obtención de la historia farmacoterapéutica del paciente (problemas de salud que presenta y medicamentos que utiliza), cuyos datos permiten la realización del *Estado de Situación* del paciente, *Fase de Estudio*

de estos problemas de salud y medicamentos, *Fase de evaluación* del Estado de situación obtenido en una fecha determinada, identificando los posibles resultados negativos a la medicación²¹⁶, y por último, la Fase de Intervención Farmacéutica para prevenir o resolver los resultados negativos obtenidos.

El Método Dáder nació para ser aplicado en el ámbito de la farmacia comunitaria, y tras demostrar su eficacia como método de detección y resolución de RNM, la aplicación en otros ámbitos no se ha hecho esperar. Así existen experiencias en salas de hospitalización de diferentes servicios hospitalarios, en centros de atención primaria, en residencias de ancianos, etc, que han constatado la eficacia de este método haciendo en cada caso leves modificaciones del mismo para adaptarlos a las particularidades de cada lugar

204-213

2.4.4 Proceso asistencial de fracturas de cadera en el anciano.

Una de las características del SFT es la capacidad de generalización, es decir, poder ser aplicable en distintos ámbitos y distintos tipos de pacientes, siendo además la universalidad uno de sus objetivos.

En el planteamiento de este proyecto de investigación, se hizo necesario seleccionar el tipo de pacientes al que se le iba a realizar el SFT, siempre dentro del marco de un proceso asistencial que estuviese en funcionamiento en el hospital donde se iba a llevar a cabo el estudio, el Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada.

La disminución de la variabilidad en la práctica clínica que persigue la instauración de un proceso asistencial, asegura la igualdad de ciudadanos y prácticas en general entre los pacientes que se integren en un mismo proceso. Esto hace posible o facilita la medición de una intervención concreta en pacientes que estén dentro de un proceso asistencial, ya que la “repetitividad del proceso” minimiza la variabilidad del resto de factores influyentes.

La fractura de cadera (FC) en el anciano es uno de los procesos asistenciales desarrollados y puesto en marcha en los hospitales andaluces que puede permitir su evaluación dado el grado de implementación²¹⁷. Este fue uno de los 20 primeros procesos asistenciales que se abordaron en Andalucía, tras ser seleccionados de entre un total de 70 por criterios específicos como:

- Alta prevalencia.
- Lista de espera.
- Impacto social.
- Coste elevado.
- Casuística más frecuente.
- Aportación del valor añadido a los usuarios.
- Factibilidad para abordar el proceso.

En el HUVN de Granada, este proceso asistencial se implantó en el año 2002, siendo uno de los primeros procesos asistenciales en el hospital.

Por su parte, y tal como lo describe la bibliografía, los FR de la aparición de RMN comentados anteriormente, convierte a los ancianos con FC en un paciente susceptible a sufrir RMN durante su ingreso hospitalario, al reunir en la mayoría de los casos los factores de riesgo que predisponen a ello, como son la edad avanzada, existencia de patologías concomitantes, polimedicación, etc. También es un candidato óptimo por su mayor riesgo de sufrir RMN que

existe ante el estrés agudo que supone una FC y el enfrentamiento a una intervención quirúrgica de tal magnitud. El proceso asistencial de FC en el anciano comprende desde la prevención y asistencia hospitalaria hasta su reinmersión familiar y/o social.

“Antes pensábamos que nuestro futuro estaba en las estrellas. Ahora sabemos que está en nuestros genes” (James Watson).

2.5 GENÉTICA Y FARMACOGENÉTICA.

2.5.1 Enfermedades genéticas: monogénicas y poligénicas.

Las enfermedades genéticas en el ser humano pueden ser de dos tipos: enfermedades monogénicas o enfermedades poligénicas²¹⁸. Las enfermedades monogénicas o mendelianas, llamadas así debido a que se transmite en la descendencia según las leyes de Mendel, generalmente son causadas por un defecto o mutación en un sólo gen. En cambio, en las enfermedades poligenéticas o también llamadas actualmente “complejas”, el patrón Mendeliano no se observa y sólo se diagnostican clínica y/o bioquímicamente en la edad adulta²¹⁹.

Las enfermedades poligénicas, están típicamente influenciadas por mutaciones en varios genes, así como también afectadas por factores ambientales que interactúan con estos factores genéticos.

En la figura 13, se describen ejemplos de las enfermedades genéticas: monogénicas y poligénicas, resumiendo el grado de influencia genética y los factores ambientales (estilo de vida), así como también el test diagnóstico utilizado.

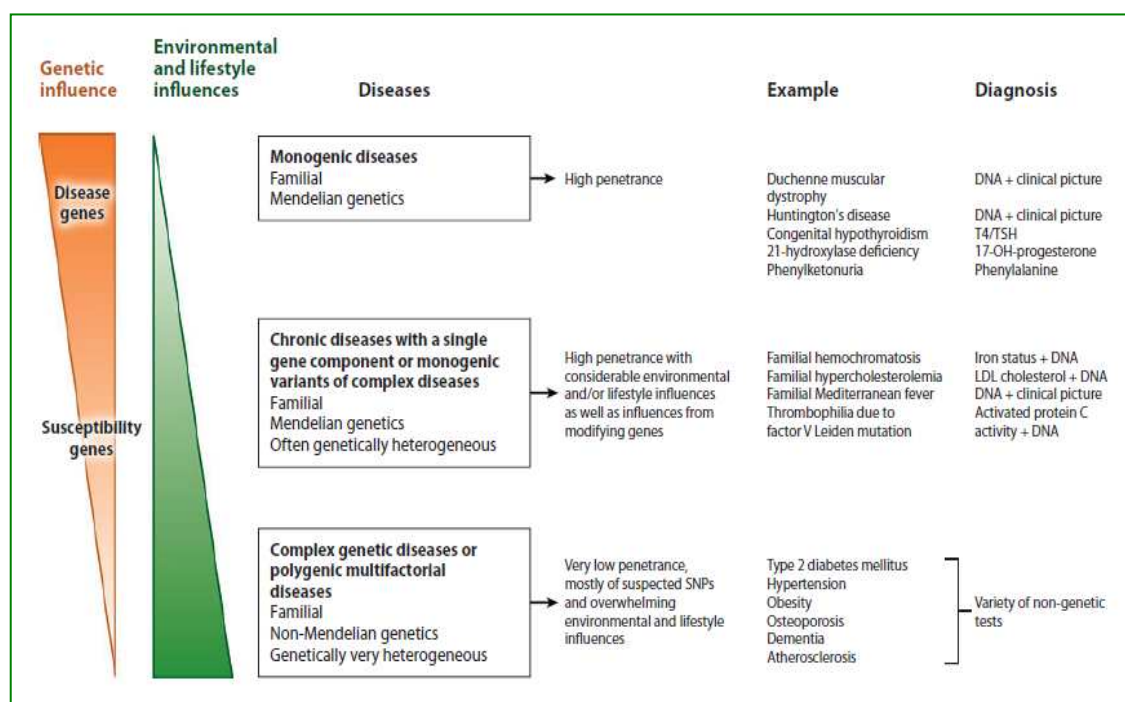


Figura 13: Clasificación de las enfermedades hereditarias (monogénicas y poligénicas). Grado de influencia genética y factores ambientales. Adaptado de Lambert S, et al.²²⁰

Las enfermedades poligenéticas como la Diabetes y la Osteoporosis, poseen características intermedias o denominadas endofenotipos (como los niveles de glucosa y la densidad mineral ósea), que también tienen un fuerte componente genético. No obstante, la identificación de los factores genéticos que subyacen de las enfermedades complejas y la aclaración de su arquitectura genética, ha sido un problema debido a la complejidad de los fenotipos y las limitadas herramientas moleculares disponibles para identificar estos factores genéticos²²⁰. El perfil genético de un individuo no solo puede

tener relación con la causa de la patología, sino también con el progreso de la misma y con los efectos de su tratamiento.

2.5.2 Generalidades de la Farmacogenética.

La frase “una talla para todos”, es aplicable para los trajes, sin embargo no para los fármacos. Durante muchos años, los profesionales de la salud han aplicado el enfoque clásico para la determinación de la prescripción de dosis de medicamentos en sus pacientes.

La gran mayoría de los agentes farmacológicos usados hoy en día están simplemente basados en el peso del paciente. No obstante, los farmacéuticos siempre han estado a la vanguardia en el énfasis de la importancia de la terapia farmacológica individual. Por ejemplo en la farmacocinética, los farmacéuticos consideran los muchos factores que pueden influir sobre la eliminación de drogas en los pacientes, que incluye: el flujo sanguíneo, la edad, el cuerpo, la grasa, etc (figura 14). Sin embargo, no se ha considerado un componente clave de lo que convierte a un paciente en un individuo único, es su “etiqueta genética”, que hasta la actualidad no se ha dado su ajuste importante.

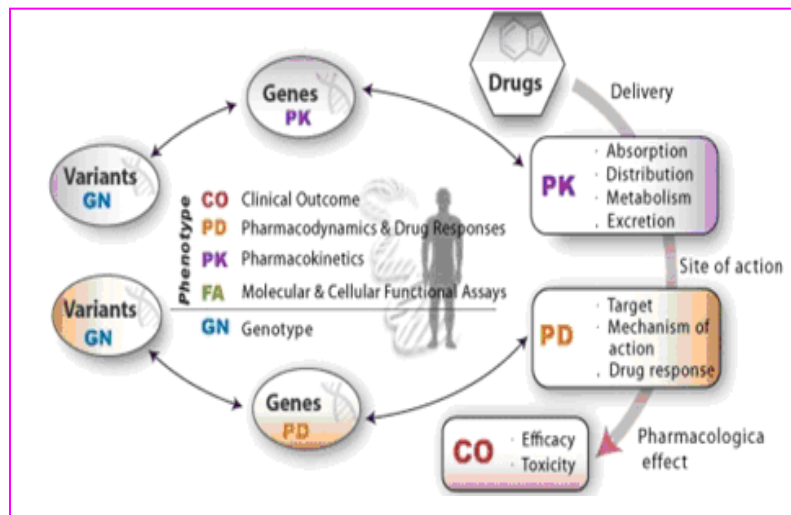


Figura 14: Representación esquemática de la variabilidad en la respuesta al fármaco por efectos farmacocinéticos, farmacodinámicos y farmacogenéticos (Pharmgkb).

A pesar de que la farmacología y la genética son ciencias que datan desde hace bastante tiempo, las primeras observaciones clínicas relacionadas con el impacto de la genética en la disposición de los fármacos y su efecto, fueron observados en los años 50. Durante esos años, llamativos artículos, describieron la existencia de variabilidades genéticas en la actividad de las enzimas metabólicas^{221,222}. Sin embargo, en el año 1959, Fredich Vogel fue el primero que acuñó la definición de Farmacogenética (FGt)²²³.

Actualmente la FGt se define como el estudio de las variaciones genéticas presentes en genes candidatos implicados en la respuesta de los fármacos en los procesos farmacocinéticos o farmacodinámicos²²⁴. A menudo tiende a confundirse con la farmacogenómica, la cual estudia las bases genéticas y moleculares de las enfermedades con la finalidad de identificar nuevas dianas terapéuticas y marcadores periféricos para su diagnóstico y pronóstico²²⁵.

El objetivo final de esta disciplina es identificar variables genéticas que ayuden a predecir el riesgo individual de un paciente en desarrollar un efecto adverso o a desarrollar resistencia a un determinado tratamiento para poder realizar terapias más individualizadas y por lo tanto más eficaces y menos tóxicas²²⁶. La figura 15, sintetiza de manera sencilla como la variabilidad genética puede afectar a la respuesta a un determinado fármaco.

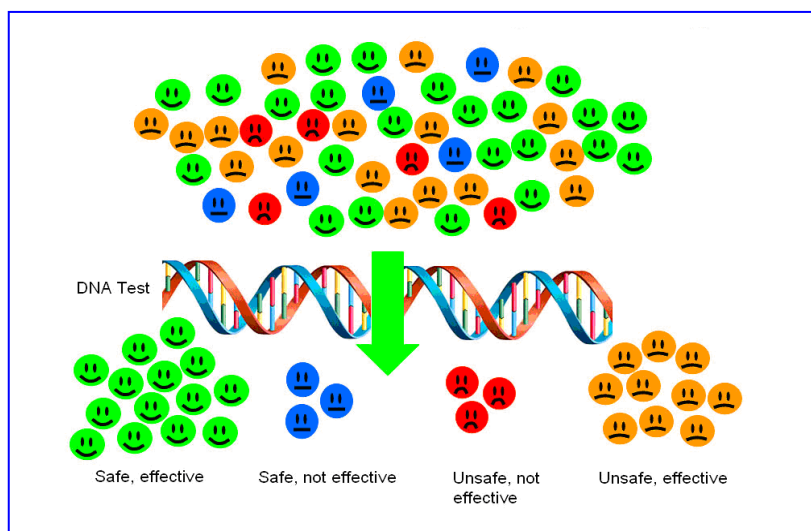


Figura 15: Esquema ilustrativo sobre como la variabilidad genética afecta en la respuesta a un determinado fármaco: seguro; seguro/no efectivo; no seguro/efectivo; no seguro/no efectivo.

Cuando se obtuvo finalmente el mapa del genoma humano en el año 2003^{227,228}, la NIH estableció una Red de Investigación Farmacogenética (PGRN) (del inglés, Pharmacogenetics Research Network), cuyos objetivos fundamentales estaban basados en: 1) examinar la asociación entre la variación genética y la respuesta al fármaco; 2) convertirse en un recurso a través del cual las investigaciones en el campo de la farmacogenómica pudieran interactuar y compartir conocimientos, herramientas y datos; y 3) crear una base de datos disponibles, a través del cual los investigadores y otros profesionales puedan acceder a la información libremente de acuerdo a la relación entre varios fenotipos y genotipos (www.pharmgkb.org)²²⁹.

De las variaciones genéticas descritas en el objetivo 1, las más comunes son aquellas que afectan a una sola base, denominado *polimorfismo de un solo nucleótido* (del inglés, Single Nucleotide Polymorphism, SNP). Este tipo de variación representa aproximadamente un 90% del total de variaciones del genoma humano, y ocurre con una frecuencia mayor del 1%^{230,231}. Estos polimorfismos que se encuentran disponibles en las bases de datos genéticas (pharmgkb), están identificados por un número de referencia con las siglas “rs” (del inglés, Reference SNP)²³².

Además, existen grupos de SNPs vecinos en un mismo cromosoma cuyos alelos muestran diferentes patrones de desequilibrio de ligamiento o LD (del inglés, Linkage Disequilibrium). En ocasiones, la presencia de un alelo en un determinado locus (posición específica dentro de un cromosoma) conlleva una elevada probabilidad de que otro alelo particular esté presente en un sitio vecino del mismo cromosoma. Estos alelos relacionados se heredan en bloque denominados haplotipos²³³. Los haplotipos aunque pueden contener un gran número de SNPs, se pueden identificar utilizando un número reducido de

éstos, lo que permite maximizar el contenido de información, reduciendo el número de análisis, tanto en los estudios de ligamento como en los de asociación.

2.5.3 Aplicación de la Farmacogenética.

Para que un medicamento sea aprobado para su uso, este debe ser apropiadamente seguro, y efectivo. Esta evaluación se hace en base a datos de estratificación poblacionales. Sin embargo es muy raro que un fármaco sea seguro y efectivo cien por cien. La variabilidad inherente entre los individuos tiene un efecto significativo en la calidad y costes de la farmacoterapia y la salud general.

El uso seguro y efectivo de un agente terapéutico para un paciente es el propósito de todos los profesionales de la salud. La llegada de la medicina personalizada permite que este propósito sea más específico, es decir, permita determinar qué paciente es más probable de responder mejor al fármaco, en cuáles será inapropiado, o bien en que régimen de dosis debe estar el fármaco^{234,235,236}. Además, para un mismo objetivo terapéutico, las diferencias entre los pacientes a las respuestas de los fármacos son diferentes. Estudios han indicado que la efectividad de los fármacos en importantes patologías estaría entre el 25-80%^{228,237}. Además entre 770.000 y 2 millones de casos de reacciones adversas a fármacos ocurre en Estados Unidos cada año, dejando al menos 100.000 muertes y un costo de más de \$5.6 millones por hospital^{238,239}.

En la tabla 7, se resumen las eficacias de los fármacos por área terapéutica. Estos datos muestran el alto porcentaje de pacientes respondedores a fármacos como los inhibidores de la Cox-2, frente a la baja respuesta para tratamiento del Cáncer (25%) y la Osteoporosis (48%). Por su parte, algunos de los pacientes considerados no respondedores podrían tener algún beneficio y en algunos de los pacientes considerados respondedores podrían incluso manifestar síntomas indeseables.

Tabla 7: Porcentaje de eficacia al tratamiento, clasificados en principales drogas para un grupo seleccionado de áreas terapéuticas.

Área terapéutica	Tasa de eficacia (%)
Analgésicos (Cox-2)	80
Depresión	62
Asma	60
Arritmias cardíacas	60
Esquizofrenia	60
Diabetes	57
Migraña (aguda)	52
Migraña (profilaxis)	50
Artritis reumatoide	50
Osteoporosis	48
Hepatitis C	47
Incontinencia	40
Oncología	25

Con esta premisa, mejores opciones terapéuticas se deberían hacer para maximizar la probabilidad de eficacia al tratamiento y minimizar el riesgo de reacciones adversas. La figura 16 muestra esquemáticamente como un test farmacogenético puede ser aplicado²⁴⁰.

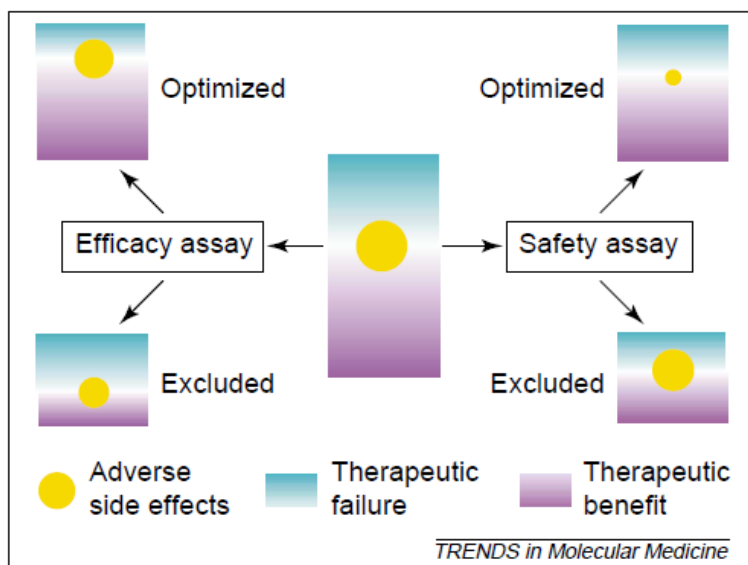


Figura 16: Representación de la aplicación clínica de un test genético. En la población general (centro), algunos individuos que están tomando un determinado medicamento tendrán un beneficio terapéutico (púrpura) y algunos no (azul). Además, algunos individuos tendrán una característica de efectos adversos (amarillo). Los análisis farmacogenéticos determinarán si un paciente es más o menos bien adaptado al medicamento en base a los resultados del genotipado. En algunos casos, podrían ser ambos a la vez, la eficacia y la seguridad basada en ensayos. Adaptado de Spear B, et al.²⁴⁰

Las diferencias en la respuesta a un determinado fármaco, incluyendo las reacciones adversas, puede deberse a factores: ambientales, fisiológicos, patofisiológicos y factores genéticos²⁴¹. En este último factor, las múltiples alteraciones genéticas (polimorfismos) pueden localizarse en las siguientes etapas²⁴²: procesos bioquímicos en la metabolización de las drogas, citocromo p-450 (fase 1 y 2); Receptores del fármaco; Transportadores del fármaco; Dianas terapéuticas (drug target); y genes de susceptibilidad a la enfermedad, entre otros. De tal manera, que para evaluar la respuesta global a una medicamento deben también considerarse la farmacocinética y farmacodinamia del fármaco.

2.5.4 Traslación clínica de la farmacogenética y el papel del farmacéutico.

La FGt es probablemente uno de los grandes acontecimientos de la era post genómica y uno de los cuales ha cambiado la frase "una medicación sirve para todos", al concepto de "medicamentos personalizados o hechos a medida"²⁴³.

Todos los profesionales de la salud específicamente los farmacéuticos pueden jugar un papel fundamental en asegurar que la información FGt sea difundida adecuada y eficazmente en el sistema sanitario²⁴⁴.

El farmacéutico como educador, los jefes de servicios, y otros profesionales de la salud pueden trasladar a la práctica el concepto de

medicamentos personalizados basados en las características genéticas del paciente^{244,245,246,247,248}.

En el ámbito de la clínica y la educación del paciente, es donde el farmacéutico puede tener un impacto más inmediato, ya que dentro de los profesionales de la salud, el farmacéutico está más formado en el área de la farmacología, farmacocinética y farmacodinamia de los fármacos²⁴⁹.

Aunque no está claramente definido en la literatura, el farmacéutico ejerce funciones únicas y dinámicas en la FGt, que incluyen: la participación como consultor en el ámbito hospitalario, asesoramiento genético, la gestión de la seguridad de medicamentos, intérprete de la información, el desarrollo de metodologías de investigación en colaboración con el científico y la implementación del trabajo en laboratorio de pruebas FGt en la práctica clínica.

En la actualidad, el farmacéutico clínico ejerce una forma de terapia individualizada cuando consideran los variados factores que pueden alterar la farmacocinética del fármaco y de qué manera afecta al paciente, adaptando la medicación en base a la función hepática, función renal, edad, peso, uso de medicamentos concomitantes, etc. Por lo tanto, el utilizar otro rasgo específico, denominado perfil genético, no debe parecer ajeno o extraño para el farmacéutico. Es necesario señalar, que el farmacéutico no necesita ser un experto en la biología molecular o genetista para tener la capacidad de aplicar la farmacogenómica o FGt, sino que necesita formación en el manejo y terminología global de esta área de estudio.

A pesar de lo anterior, aún se requiere hacer más esfuerzo para implementar la FGt en la rutina clínica y para esto, es necesario realizar estudios con grandes poblaciones que realicen asociaciones genéticas relacionadas con una enfermedad en particular a través de marcadores del genoma completo, como los denominados Genoma Wide Association Study (GWAS)^{250,251} y utilizar las bases de datos como las que se encuentran en Internacional Hapmap^{252,253}. Además se requieren que estos nuevos datos farmacogenéticos sean validados en las diferentes poblaciones de estudio^{254,255}.

Por parte del Sistema Nacional de Salud Español ha existido un interés por poner en práctica esta herramienta y se han puesto como objetivo implementar la Farmacogenética para el año 2020²⁵⁶. Con la traslación de la FGt a la práctica clínica, los costes en la farmacoterapia van a reducirse, ya que se podrían evitar efectos adversos con la consecuente reducción de los ingresos y atención de las urgencias hospitalarias, se reducirán los errores terapéuticos y se mejorará la eficacia de los fármacos^{248,257}.

A continuación se profundizará en la farmacogenética de una de las patologías complejas más prevalentes en la población adulta como es la osteoporosis, y con una de sus principales invalidantes e irreversibles consecuencias, la fractura osteoporóticas de cadera, con resultados farmacogenéticos controvertidos.

2.5.5 Genética de la Osteoporosis.

La osteoporosis es una enfermedad compleja (poligénica, multifactorial) que involucra además de los factores ambientales un fuerte componente genético²⁵⁸. Estudios han revelado que la presencia de antecedentes maternos de fractura se relaciona con un mayor riesgo de fractura en las hijas^{259,260}. Sin embargo, la evidencia más clara deriva de los estudios de la DMO en gemelos, donde la heredabilidad de la DMO es elevada, cuya estimación comprende entre un 50-80%^{261,262,263}. De manera que, aunque los estudios en gemelos pueden sobrevalorar la heredabilidad, parece claro que una parte considerable de la variación de los valores de la DMO puede explicarse por factores genéticos, mientras que el resto se debería a factores ambientales. Ello implica que deben existir “genes de DMO”, cuyas variaciones determinarían las diferencias interindividuales en la DMO. Dichas diferencias pueden manifestarse de forma diversa; por ejemplo, como diferencias en el pico de DMO alcanzado tras completar el período de crecimiento, o como diferencias en la velocidad de pérdida de masa ósea con la edad.

Diferentes estudios apuntan que algunos factores ambientales pueden modificar notablemente el efecto de los factores genéticos sobre el hueso. Entre ellos, cabe pensar, por ejemplo, en la dieta, el ejercicio y la exposición al sol. Mientras que los factores genéticos permanecen constantes a lo largo de la vida, los factores ambientales tienden a cambiar, lo que puede producir diferentes “niveles de expresión” de la susceptibilidad genética. Así, el envejecimiento va asociado con un deterioro del estado funcional que suele llevar a una menor actividad física, menor exposición solar, cambios en la dieta, etc. Ello puede hacer que algunas susceptibilidades genéticas se manifiesten sólo en etapas avanzadas de la vida, cuando la exposición a esos factores ambientales se hace deficiente.

A la vista de los comentarios anteriores, no es de extrañar que la osteoporosis sea considerada como un rasgo genético “complejo”. Esa complejidad es compartida por otros procesos frecuentes, que tienen un cierto componente genético y que a menudo están relacionados con la edad, como la diabetes, la esquizofrenia, la artrosis o el cáncer. “Complejo” significa que el proceso es multifactorial y multigénico. Así, los FR de tipo genético (esto es, ciertos alelos o variantes génicas) serán transmitidos de generación en generación, pero su expresión fenotípica dependerá de la interacción con otros genes y con factores ambientales.

2.5.6 Rutas metabólicas involucradas en la homeostasis del hueso y principales factores genéticos asociados.

El reconocimiento de que varios aspectos de la homeostasis del hueso están fuertemente determinadas por factores genéticos, ha dado lugar a una intensa búsqueda de genes específicos asociados con estas características cualitativas y cuantitativas de hueso y riesgo de fracturas osteoporóticas. En cada caso los primeros pasos han sido identificar y verificar una relación entre un gen y la DMO²⁶⁴.

Actualmente, muchos genes candidatos han sido investigado como herramienta valiosa para su asociación con la DMO y riesgo de fracturas osteoporóticas. Sin embargo, la emoción que rodea los primeros estudios de

variación alélica, a menudo ha continuado en controversia, debido a la falta de replicación independiente, posiblemente debido a la falta de poder estadístico y resultados falso-positivos^{265,266}.

Los genes que participan en las vías comunes han sido descritos como relacionados con el riesgo de osteoporosis, riesgo de fracturas (cadera y vertebrales) y valores de la DMO. Estas variantes genéticas podrían afectar la homeostasis y la estructura ósea, y por consiguiente los valores de la DMO. Dado los estudios disponibles de diferentes revisiones y considerando la importancia clínica de la osteoporosis, para este proyecto elegimos centrarnos en las vías y genes más estudiados en relación con la DMO y el riesgo de fracturas osteoporóticas.

En este contexto, una de estas vías activas es la denominada vía de señalización Wnt, que participa fuertemente en el proceso de formación y resorción ósea, y que incluye a las proteínas transmembrana, LRP5 y LRP6²⁶⁷. Otra proteína de membrana llamada ITGB3, es vital para la maduración de los osteoclastos y por lo tanto para la resorción ósea²⁶⁸.

La vía de la osteoclastogénesis también está involucrada en el proceso de remodelación ósea, a través de la actividad de la OPG, RANK y RANK-L²⁶⁹. Estos dos últimos en esta vía de señalización aumentan el número de osteoclastos, la supervivencia y la actividad, mientras que la OPG actúa como un competidor para la unión al receptor RANKL y por lo tanto la inhibición de su actividad^{269,270}.

Del mismo modo, el metabolito activo de la vitamina D ($1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$) juega un papel fundamental en el metabolismo óseo por su unión a su receptor denominado VDR. Este último regula la homeostasis del calcio a través de la unión y translocación nuclear de la $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{D}_3$ para regular el recambio óseo y aumenta la absorción intestinal de calcio²⁷¹.

Por otra parte, el colágeno es un componente importante de las proteínas estructurales del cuerpo, y el colágeno de tipo 1 alfa 1 (COL1A1) es el componente de mayor tamaño y más abundante de todas las proteínas del tejido óseo, y las mutaciones en su estructura o regulación están asociadas con la osteoporosis²⁷².

Asimismo, la síntesis de estrógenos también es esencial para la adquisición y mantenimiento de la masa ósea, sobre todo en las mujeres²⁷³. Las funciones fisiológicas de los estrógenos se realizan cuando estos se unen a los receptores α y β (ESR- α , ESR- β), siendo el impacto biológico final expresado tanto en los osteoblastos y los osteoclastos²⁷⁴.

Por último, farnesil difosfato sintetasa (FDPS), enzima clave en la vía del mevalonato, ha demostrado estar implicado en la regulación de los mecanismos por los que los bifosfonatos inducen la apoptosis de los osteoclastos²⁷⁵.

2.5.7 Búsqueda de polimorfismos (SNPs) potenciales relacionados con la osteoporosis, DMO y fracturas osteoporóticas en genes candidatos y GWAS.

La búsqueda y el descubrimiento de genes que están implicados en la regulación de un rasgo clínico se basan principalmente en estudios de asociación, análisis del ligamiento, o ambos.

Los análisis de ligamiento rastrean la herencia de un rasgo e identifican las regiones cromosómicas que se desvían de la segregación independiente con ese rasgo. El análisis de asociación determina si la genética en las personas con y sin el rasgo es diferente, y trata de identificar los lugares de ADN específico o SNPs de un gen candidato que son responsables de la diferencia²⁷⁶.

Los análisis de ligamiento y de asociación utilizan dos enfoques principales para la búsqueda de genes: los llamados GWAS (Genoma Wide Association Study) y a través de la detección de genes candidatos²⁷⁷.

La búsqueda de genes candidatos se basa en el conocimiento previo de la función potencial de los genes implicados en las vías metabólicas, incluyendo la bioquímica, farmacología y fisiología de la formación y resorción ósea.

Por otra parte, a través de la exploración de todo el genoma, un conjunto de marcadores en el mapa del genoma han sido seleccionados basados en la utilidad, sin ningún tipo de hipótesis a priori (llamada hipótesis libre de investigación) para el análisis de asociación con un fenotipo^{278,279}.

Estudios recientes sobre la susceptibilidad genética a la osteoporosis han recopilado muchos genes candidatos, los cuales han sido identificados a través de estudios de enfermedades raras de los huesos, o por medio de tecnologías modernas como el GWAS^{280,281}. Sin embargo, aún estos locis identificados por GWAS requieren validación funcional a través de estudios de replicación y perfiles de expresión relacionados con la biología de sistemas esqueléticos²⁸². Recientes GWAS se han realizado en pacientes con osteoporosis para encontrar e identificar las variantes genéticas más importantes y comunes asociados con el riesgo de osteoporosis y fracturas osteoporóticas^{283,284,285}.

A pesar de que la mayoría de los genes de la osteoporosis y sus variantes quedan por descubrir, los datos sobre las alteraciones genéticas que ya han demostrado tener un impacto clínico deben estar disponibles como una herramienta más de diagnóstico para los médicos. En este sentido, existe la necesidad de consenso en los diferentes aspectos farmacogenéticos se ha hecho evidente. La actual falta de uniformidad en la nomenclatura de los SNP, requiere de un conjunto de normas de armonización, laboratorios acreditados y directrices de los comités farmacogenéticos de referencia que idealmente proporcionaría las necesidades mundiales para la validación de SNPs funcionales de diagnóstico que afectan a la osteoporosis.

2.5.8 Papel de los genes implicados en el riesgo de osteoporosis y fracturas.

La mayoría de los SNPs asociados con esta enfermedad se han encontrado y validado a través de análisis estadísticos, cuyos valores de “p” han sido significativos en diferentes estudios²⁸⁶ y diferentes poblaciones, y la mayoría de los importantes SNPs comunes que se encuentran, han sido objeto de cuidadosos y repetidos análisis.

En un futuro próximo, se espera que estos resultados se puedan ampliar a otros genes y las vías, junto con un análisis más detenido de muchos SNPs potencialmente asociados con la DMO y la osteoporosis, identificada con valores estadísticos de p justo debajo de los valores de corte requeridos para la significación a nivel del genoma²⁸⁷. Sin embargo, este enfoque de gran alcance no es fácil de trasladar a la atención hospitalaria de rutina, ya que se utiliza principalmente para pruebas de hipótesis en lugar de diagnóstico y, en cualquier caso, las competencias y las herramientas requeridas no están ampliamente disponibles. No obstante, estos estudios proporcionan datos preliminares valiosos para abordar significativos genotipados determinados en la osteoporosis y fracturas osteoporóticas.

2.5.9 Farmacogenética de los tratamientos antiosteoporóticos.

Las características del paciente, incluyendo los factores genéticos, determinan las respuestas individuales a cada medicamento específico²⁸⁸. Comprender los efectos de tales factores genéticos no sólo ofrece la posibilidad de reconocer personas que sufrirán una FC, sino también puede influir en la elección de los medicamentos antiosteoporóticos, cuyo impacto clínico se mide por los efectos sobre la DMO y en los marcadores de recambio óseo.

A pesar de que existe una clara evidencia de la influencia genética en la variación de la eficacia y seguridad del tratamiento con agentes farmacológicos, hay pocos datos concluyentes relacionados con la farmacogenética de la osteoporosis y fracturas osteoporóticas, y de hecho, sólo recientemente la investigación sobre la genética de la osteoporosis ha comenzado en pleno desarrollo²⁸⁹.

Los avances terapéuticos que han surgido para el tratamiento de la osteoporosis puede mejorar la calidad y cantidad de hueso entre una gama de alternativas farmacológicas (bisfosfonatos, raloxifeno, ranelato de estroncio, teriparatida y hormona paratiroidea, entre otros), los cuales son utilizados además en la prevención de la fracturas osteoporóticas¹³³. Además, todos estos fármacos han demostrado reducir el riesgo de fractura osteoporótica en mayor o menor medida, junto con un aumento concomitante en la DMO y disminución del alto recambio óseo²⁹⁰.

En muchos ensayos clínicos, la reducción del riesgo relativo de incidencia de fracturas es de aproximadamente 50%, mostrando una alta variabilidad en la respuesta individual al tratamiento²⁸⁸. En términos de DMO, incluso en los ensayos controlados aleatorios, se estima que el 10% de los pacientes no responden a la terapia con antiosteoporóticos²⁹¹. Por lo tanto, la eficacia y seguridad de terapia antiosteoporótica varía entre los individuos,

siendo el 5-10% no respondedor, y una proporción pequeña pero significativa que sufren reacciones adversas clínicas²⁹².

De acuerdo a lo anterior, las guías clínicas han recomendado el uso de los bisfosfonatos para la prevención primaria y secundaria de las fracturas osteoporóticas^{173,174}, debido a que son fármacos muy eficaces y, en particular debido a su costo cada vez menor por el desarrollo de versiones genéricas. Cabe señalar que todos los medicamentos para tratamiento o prevención de la osteoporosis tienen un potencial de reacciones adversas que generan preocupación con respecto a su uso a largo plazo²⁹³, y los BF están asociados con preocupantes efectos adversos, tal como la osteonecrosis de la mandíbula (ONM)²⁹⁴. Esto ha sido reportado con mayor frecuencia en pacientes con metástasis ósea cuyo uso en estos pacientes es debido a su alto riesgo de dolor óseo y fracturas. En estos casos, los BF se administran por vía intravenosa y por lo general a cortos intervalos semanales, en lugar de la dosis anual como es usado en la osteoporosis, y muchas de estas veces durante años. El riesgo de manifestar ONM parece estar relacionado con la dosis total de bisfosfonato usado, pero también se ha asociado con polimorfismos genéticos. En un GWAS llevado a cabo en 2 grupos de pacientes con mieloma múltiple (22 con y 65 sin ONM), y en tratamiento con BF por más de 2 años²⁹⁵, se encontró que uno de los cuatro SNP analizados en CYP2C8 rs1934951, estaba asociado con un riesgo de ONM, cuyos resultados demostraron que individuos homocigotos para el alelo T habían aumentado la probabilidad de desarrollar ONM. Un año más tarde los mismos autores concluyeron que entre los factores genéticos, los polimorfismos en el gen CYP2C8 resulta un factor de riesgo prometedor, y que la ONM relacionada con bifosfonatos se puede predecir con una conjunción de factores de riesgo genéticos y ambientales²⁹⁶.

En un reciente estudio de cohorte, realizado en 78 pacientes con mieloma múltiple (12 con ONJ) en el tratamiento de más de 1 año con BF intravenoso (pamidronato o zoledronato)²⁹⁷, encontraron que los pacientes con antecedentes de tabaquismo tenían 4 veces más alta probabilidad de desarrollar ONJ que los que se no tienen un historial de tabaquismo. Además, observaron que los pacientes tratados con pamidronato tenían cuatro veces mayor de probabilidad de desarrollar ONM en comparación con los pacientes que recibieron zoledronato.

Esta reacción adversa también ha sido relacionada con determinados polimorfismos de CYP3A²⁹⁸.

En cuanto a la eficacia de los medicamentos, varios estudios han examinado la asociación del polimorfismo específico con la respuesta al tratamiento farmacológico de la osteoporosis. Dentro de la familia de los BF, el alendronato ha demostrado eficacia en la reducción de la resorción ósea y reduciendo el riesgo de fracturas osteoporóticas en posmenopáusicas.

A pesar de la eficacia global del alendronato, han existido pocos estudios que evalúen la relación entre los polimorfismos y la respuesta a este fármaco^{299,300,301}.

Como se señaló anteriormente, los noamino-BF son metabolizados a análogos de ATP y se acumulan en el citosol de los osteoclastos induciendo la muerte celular, mientras que los amino-BF inhiben la prenilación de pequeñas GTPasas que son esenciales para la actividad de los osteoclastos y la supervivencia (la inhibición de la actividad enzimática en el mevalonato intracelular). Por tal motivo, parece lógico evaluar la eficacia de los

bifosfonatos a nivel genético en relación con su mecanismo de acción molecular, y hemos querido contribuir en la farmacogenética de la osteoporosis y riesgo de fracturas a través de la presente tesis doctoral. En la figura 17, se describe la ruta metabólica de los N-BP, indicando las enzimas y algunos de los genes implicados.

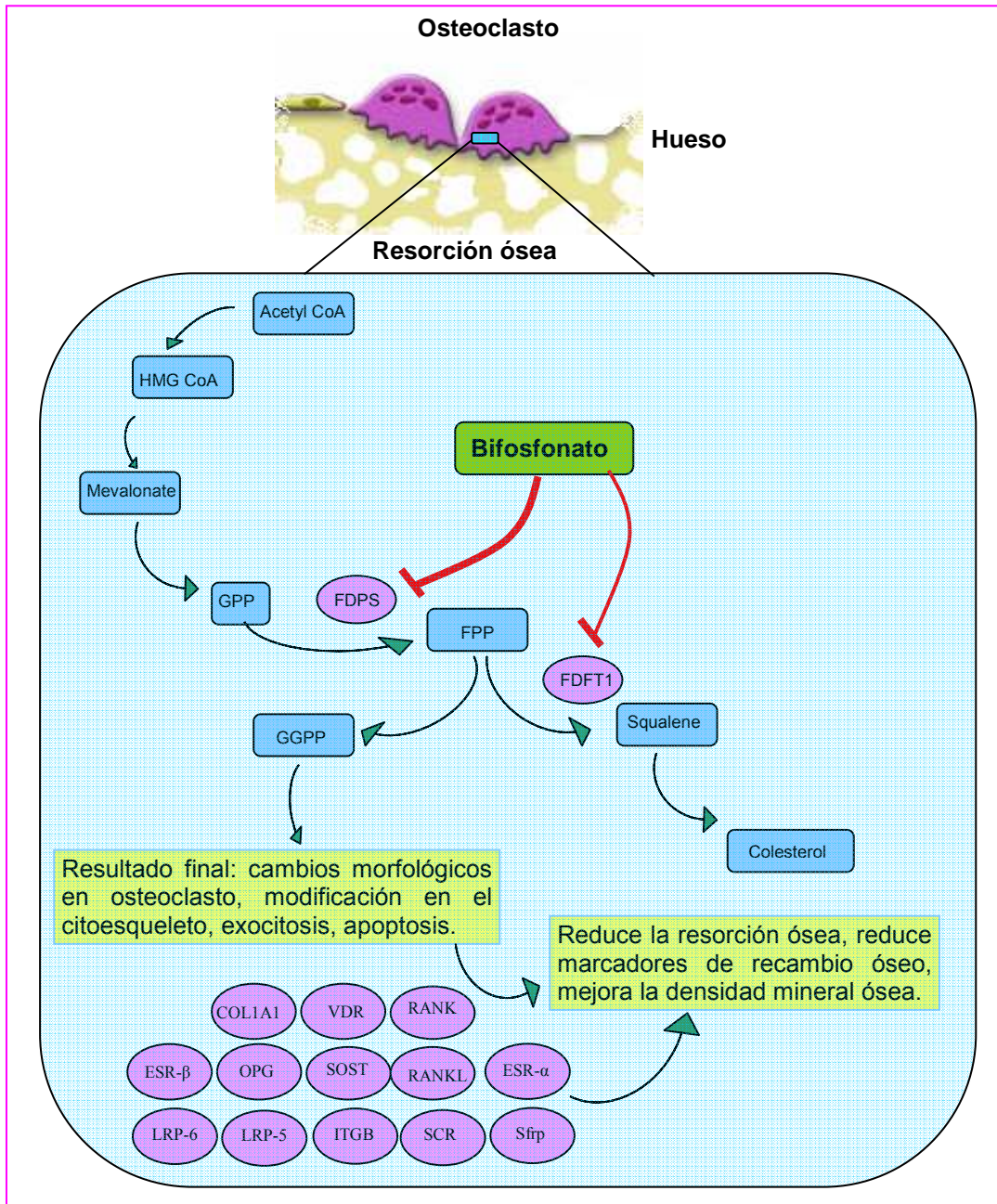


Figura 17: Representación esquemática de la ruta metabólica de los N-bifosfonatos y genes involucrados en una célula osteoclastica (Adaptado de PharmGKB)²³².

FPP: farnesyl pyrophosphate, FDFT1: farnesyl-diphosphate farnesyltransferase, FDPS: farnesyl-diphosphate synthase, FPP: farnesyl, GPP: geranyl pyrophosphate pyrophosphate, GGPP: geranyl-geranyl pyrophosphate. COL1A1: Collagen type 1 A. ESR-α: Estrogen receptor-α. ESR-β: Estrogen receptor- β. ITGB: Integrine-β. LRP-5: Low density lipoprotein receptor-related protein 5. LRP-6: Low density lipoprotein receptor-related protein 6. OPG: Osteoprotegerine. RANK: Receptor activator of NF-κB. RANK-L: Receptor activator of NF-κB Ligand. SCR: Scrapper kinase. Sfrp: secreted frizzled-related protein. SOST: Sclerostin. VDR: Vitamin D receptor.



JUSTIFICACIÓN

3. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO – HIPÓTESIS DEL ESTUDIO.

El diseño secuencial del presente estudio y la selección específica de pacientes con fracturas osteoporóticas de cadera han constituido las dos decisiones de mayor relevancia por su interés clínico y coste-efectividad en el entorno hospitalario.

El grupo de pacientes ha sido reclutado en el servicio quirúrgico del Hospital de Rehabilitación y Traumatología de Granada (HUVN), donde la gestión integral y multidisciplinar del cuidado de dicho paciente por parte de los facultativos requería el soporte científico-técnico en temáticas relativas a la compleja farmacoterapia y al uso adecuado de la medicación de dichos pacientes pluripatológicos.

Bajo este escenario, la intervención del farmacéutico a través de Seguimiento Farmacoterapéutico (SFT) permitiría por un lado conciliar la medicación del paciente junto al resto del equipo médico, y por el otro, controlar el adecuado tratamiento farmacológico de estos pacientes. Demostrar que la detección de los problemas derivados de una mala gestión del tratamiento farmacológico está asociada con una peor recuperación, pondría de manifiesto la inmediata necesidad de la detección precoz de resultados negativos a la medicación por el farmacéutico en el equipo multidisciplinar.

Asimismo, dado el fuerte componente genético que tiene la osteoporosis, el grupo de pacientes susceptibles de una fractura de cadera puede beneficiarse del desarrollo y la aplicación de la farmacogenética (FGt) llevada a cabo con herramientas metodológicas clínicas de rutina hospitalaria. De este modo, es de gran interés la detección y descripción de los polimorfismos genéticos de mayor impacto clínico involucrados tanto en la patología objeto de estudio como en su tratamiento. El uso de las pruebas farmacogenéticas complementarias redundaría en la contribución positiva para la decisión final de la prescripción de una terapia farmacológica personalizada.

Por lo tanto, la implementación de rutina del SFT y la FGt por un Servicio de Farmacia, contribuirían a minimizar los efectos negativos directos e indirectos que causan los pacientes tratados por fracturas de cadera en un ámbito hospitalario.

La preparación y los resultados finales de esta tesis doctoral se han estructurado en 6 diferentes manuscritos para su difusión a la comunidad científica. Abarcando en primer lugar la temática relativa al seguimiento de la medicación habitual de pacientes hospitalizados y pacientes externos denominada Seguimiento Farmacoterapéutico; y la segunda línea de investigación destinada a la identificación de factores genéticos de la osteoporosis y su asociación con parámetros fenotípicos determinantes en el riesgo de fracturas osteoporóticas de cadera a través de la Farmacogenética.

OBJETIVOS

4. OBJETIVOS

4.1.- Objetivo Generales:

- 1.- Mejorar los tratamientos en pacientes con fracturas de cadera hospitalizados en un servicio de traumatología a través de intervenciones de seguimiento farmacoterapéutico.
- 2.- Contribuir al impacto clínico de la aplicación de la farmacogenética en la osteoporosis para favorecer la respuesta al tratamiento y evitar la aparición de efectos adversos.
- 3.- Evaluar la asociación entre factores óseos fenotípicos y genotípicos.

4.2.- Objetivos Específicos:

- 1.- Conciliar junto al equipo médico la medicación intrahospitalaria; educar y motivar a los pacientes sobre el uso racional de la medicación habitual, para evitar problemas relacionados con el medicamento y resultados negativos a la medicación.
- 2.- Determinar y cuantificar los factores de riesgo en una población anciana hospitalizada por fractura de cadera para prevenir nuevas fracturas osteoporóticas.
- 3.- Buscar e identificar los polimorfismos genéticos relacionados con la osteoporosis y las fracturas osteoporóticas, armonizando su nomenclatura para implementar y facilitar su aplicación en el ámbito hospitalario.
- 4.- Analizar y evaluar el impacto clínico y la relación de polimorfismos genéticos elegidos por su implicación en las rutas del metabolismo óseo y sus efectos en la densidad mineral ósea, riesgo de fracturas osteoporóticas de cadera y parámetros geométricos óseos.

GENERALIDADES RELATIVAS A PACIENTES Y MÉTODO DE ESTUDIO

5. GENERALIDADES RELATIVAS A PACIENTES Y MÉTODO DE ESTUDIO:

5.1. Pacientes y metodología en el estudio de SFT y valoración del riesgo de FC:

Para ser incluidos en el SFT y valoración del riesgo de FC, se consideraron a todos aquellos pacientes que ingresaron con diagnóstico de FC en el HRTVN de Granada desde febrero a mayo del 2008, cuyos criterios de inclusión eran: ingreso de FC por fractura osteoporótica; ser mayor de 64 años; autónomo para tomar la medicación o estar bajo el cuidado de un tercero, y que hayan firmado el consentimiento informado (CI).

Para llevar a cabo el primer proceso de la investigación, el SFT, se utilizó el Método Dáder. Las fases de este método fueron adaptadas al proceso asistencial que se esquematiza en el apartado de anexos (ver anexo 1). El SFT fue abordado durante el período hospitalario.

En el período hospitalario, los subprocesos comprendidos fueron: hospitalización quirúrgica una vez producida la FC, que incluyó desde la llegada del paciente a la sala de hospitalización hasta la intervención quirúrgica; y su hospitalización postquirúrgica que engloba el tratamiento y cuidados del paciente tras ser intervenido quirúrgicamente, hasta su alta hospitalaria. En este periodo, para la recogida de datos se utilizó una plantilla con las variables a medir de cada paciente con la finalidad de facilitar la información entregada y registrar la evolución clínica diaria de los pacientes con sus respectivas intervenciones (ver anexo 2). Una vez que el paciente era dado de alta, se les entregó la nueva planificación horaria de su tratamiento habitual (ver anexo 3), resaltando la revisión de ésta por parte del médico de familia. Los objetivos del proyecto fueron previamente explicados al comienzo del estudio, utilizando para ello la hoja de información al paciente y el CI (ver anexo 4). Todo el proceso de este estudio y sus resultados de investigación, se ha documentado reflejado en el artículo científico número 1 (ver apartado de Resultados: Publicaciones Científicas).

Para desarrollar el segundo proceso de investigación, la valoración de los FR de FC, se utilizaron escalas o herramientas de valoración (Black y FRAX de forma independiente). La valoración de los FR se desarrollo a través el período preventivo. En el proceso preventivo, el subproceso comprendido fue: educación farmacéutico/paciente desde la llegada del mismo a la sala de hospitalización y un repaso completo de la información entregada tras el alta hospitalaria; y la educación farmacéutico/equipo médico durante el periodo de trabajo. En este periodo, se recogieron los FR de fracturas osteoporóticas a través de una encuesta con variables cualitativas dicotómicas y policotómicas (ver anexo 5). Estas variables fueron utilizadas de acuerdo a cada escala o herramienta de valoración, y se calculó de forma global la probabilidad de fracturas osteoporóticas y de cadera a través de las escalas de Black y FRAX de forma independiente.

Con el objetivo de prevenir futuras fracturas (disminución de factores modificables) y adquirir medidas higiénicas dietéticas, se elaboró un tríptico educativo que fue entregado y explicado a cada paciente ingresado con FC y/o su cuidador (ver anexo 6). Todo el proceso de este estudio y sus resultados se

ven reflejados en el artículo número 2 (ver apartado de Resultados: Publicaciones Científicas 2).

5.1.- Pacientes y metodología en el estudio farmacogenético:

Para ser incluidos en el estudio FGt, se consideraron 3 grupos de poblaciones:

a) a todos aquellos pacientes que ingresaron con diagnóstico de FC en el HRTVN de Granada desde febrero a mayo del 2008, cuyos criterios de inclusión eran: motivo de la FC por fragilidad ósea u osteoporótica; ser mayor de 64 años; autónomo para tomar la medicación o estar bajo el cuidado de un tercero y que hayan firmado el consentimiento informado (CI).

b) aquellos pacientes que acudieron a consultas externas de traumatología y reumatología del HUVN de Granada desde octubre 2009 a junio 2010, cuyos criterios de inclusión eran mayores de 55 años de edad con alto riesgo de fracturas osteoporóticas (según escala de FRAX) y con DMO osteopénicas (T-score entre -1 y -2.5) y/u osteoporótica (T-score \leq -2.5), no institucionalizado, autónomo para tomar medicación, y sin tratamiento farmacológico previo que afecte a los huesos durante al menos 3 años.

c) aquellos pacientes que acudieron al servicio de Medicina Nuclear del HUVN desde febrero a agosto 2010, mayores de 55 años de edad no institucionalizados y autónomos para tomar medicación, sin antecedentes osteoarticulares, metabolismo mineral y óseo normal, sin fracturas previas, y no tener actual o previo tratamiento farmacológico que afecte a los huesos.

Para iniciar el tercer proceso de la investigación, se elaboró una amplia revisión del estado del arte de la farmacogenética de la osteoporosis y riesgo de fractura osteoporóticas utilizando bases de datos farmacogenética y epidemiológicas tales como: The Pharmacogenomics Knowledge Base (Pharmgkb); International Hapmap Proyecto (IHP), Pubmed, así como también una base de datos para la armonización de la nomenclatura a través de Human Genome Organization (HUGO). A partir de esta búsqueda se describieron los genes candidatos más relevantes que pertenecen a vías metabólicas específicas (tabla 1)³⁰² y polimorfismos (SNPs) que han sido asociados a la variabilidad genética de la osteoporosis y su influencia en la DMO y/o fracturas osteoporóticas, así como también la descripción completa de una herramienta de biología molecular útil (tabla 2)³⁰² para su aplicación hospitalaria por parte de los profesionales de la salud. Los resultados de este análisis se encuentran descritos en la publicación científica número 3 (ver apartado de Resultados: Publicaciones Científicas).

Para desarrollar el cuarto proceso de la investigación, se continuó con una actualización y ampliación de nuevos polimorfismos genéticos y vías metabólicas asociados a la farmacogenética de la osteoporosis, así como también actualización de nuevos target terapéuticos. Para esta extensa búsqueda bibliográfica se utilizaron las mismas bases de datos farmacogenética y epidemiológicas nombrados anteriormente. Los resultados

de esta revisión ha dado lugar a la elaboración de un capítulo de libro que será publicado de forma online (www.intechweb.org). Este documento se encuentra en la segunda fase de ejecución, previo paso de la aprobación por parte de la editorial sobre la estructura del contenido propuesto por los autores. El certificado de aprobación y la estructura de este capítulo está descrita en la publicación científica número 4 (ver apartado de Resultados: Publicaciones Científicas).

Para llevar a cabo el quinto proceso de la investigación, un estudio piloto poblacional de la farmacogenética a nivel hospitalario fue aplicado. A cada paciente seleccionado (grupo a, b, c) se le informó de los objetivos y procedimientos del estudio a través de la Hoja de Información al Paciente (ver anexo 7); y aquellos que accedieron a éste firmaron el CI (ver anexo 8). La confirmación de las FC en los pacientes (grupo a) fue visualizada a través de una radiografía convencional (ver anexo 9); y la confirmación de los pacientes con altos factores de riesgo de fracturas (grupo b) se realizó a través de la herramienta FRAX. A los pacientes controles (grupo c) se les confirmó su estado mineral óseo a través de una densitometría y 5 ml de sangre y orina de 24 horas para análisis del metabolismo óseo (ver anexo 12). Para proceder a la petición del estudio farmacogenético por parte del facultativo médico, se utilizó un formulario base establecido por la Unidad de farmacogenética (ver anexo 13) que posteriormente fue adaptado según los genes y polimorfismos asociados a la farmacogenética de la osteoporosis y fracturas osteoporóticas (ver anexo 14). Para la extracción de ADN de cada paciente se necesitaron 3 ml de sangre total. Los resultados de este estudio piloto se encuentran descritos en la publicación científica número 5 (ver apartado de Resultados: Publicaciones Científicas).

Para desarrollar el sexto proceso de la investigación, se aplicó la farmacogenética con los datos clínicos de cada paciente. Para esto, se informó a los pacientes paciente (grupo a, b y c) de los objetivos y procedimientos del estudio a través de la Hoja de Información al Paciente (ver anexo 7); y aquellos que accedieron al estudio firmaron el CI (ver anexo 8). Para recopilar la información, se realizaron entrevistas personales por el farmacéutico investigador junto al médico especialista, registrando las variables entregadas verbalmente por cada paciente (ver anexo 11). Para evaluar los factores de riesgo de los pacientes se aplicó la herramienta FRAX¹¹⁶; y para la confirmación de los parámetros clínicos como el índice de masa corporal (IMC), densidad mineral ósea (DMO) y analíticas de cada paciente se utilizó la base de datos del propio hospital previa petición de los pruebas (anexo 12). Para proceder a la petición del “Estudio Farmacogenético” por parte del facultativo médico, se utilizó el formulario establecido por la Unidad de farmacogenética para la determinación de polimorfismos asociados a la farmacogenética de la osteoporosis y fracturas osteoporóticas (ver anexo 14). Los resultados del genotipado solicitado por el médico y determinado por la unidad de farmacogenética, fueron entregados con el formato de informe sobre consejo farmacogenético (ver anexo 15).

Para los análisis clínicos, se necesitaron 3 ml de sangre total para la extracción de ADN; y para análisis del metabolismo óseo 5 ml de sangre y orina de 24 horas en ayunas. Los resultados

Los resultados de este estudio se encuentran descritos en la publicación científica número 6 (ver apartado de Resultados: Publicaciones Científicas).

A continuación se darán a conocer los Resultados obtenidos de esta tesis doctoral representados en trabajos científicos; posteriormente se realizará la Discusión y Conclusión basadas en estos trabajos. Finalmente se describen las actividades científicas realizadas durante el periodo de la tesis doctoral tales como asistencias a congresos nacionales e internacionales a través del desarrollo de trabajos de producción científica: comunicaciones orales y posters.

RESULTADOS

6. RESULTADOS

El trabajo de investigación realizado, ha dado lugar a la elaboración de 5 publicaciones (original y revisión) en revistas científicas y 1 capítulo de libro en formato online.

Cada una de las publicaciones originales que a continuación se presentan, están estructuradas como: resumen, introducción (objetivos), materiales y métodos, resultados, discusión, conclusión, agradecimientos y bibliografía. La publicación de revisión consta de un resumen, introducción (objetivo), resultados de la revisión, conclusión, futuras perspectivas, agradecimientos y bibliografía. El capítulo del libro, está confeccionado presentando un resumen, introducción y temáticas de interés en la actualizaciones de la farmacogenética de la osteoporosis, conclusión, futuras perspectivas y bibliografía.

Publicaciones Científicas:

6.1 Estudio 1 (Artículo original en inglés):

Título: *“Pharmacotherapy follow-up and conciliation of medication in hospitalized hip-fracture patients”*.

Revista: Atención farmacéutica- European Journal of clinical Pharmacy 2009, 11(4): 232-239.

6.2 Estudio 2 (Artículo original en español):

Título: *“Factores de riesgo en una población anciana: escalas de evaluación para la prevención de fractura de cadera”*.

Revista: Revista española de cirugía ortopédica y traumatología 2010; 54(3):167–173.

6.3 Estudio 3 (Artículo de revisión en inglés):

Título: *“Pharmacogenetics of osteoporosis-related bone fractures: moving towards the harmonization and validation of polymorphism diagnostic tools”*.

Revista: Pharmacogenomics 2010; 11(9): 1287–1303.

6.4 Estudio 4 (Capítulo de libro en inglés):

Título: *“Pharmacogenetics Advances of Osteoporosis-Related Bone Fractures”*.

Book: Pharmacogenetics 2011; ISBN: 978-953-307-821-2. In press.

6.5 Estudio 5 (Artículo original en español):

Título: *“Polimorfismos en el Gen VDR y riesgo de fracturas osteoporótica de cadera en una población adulta española”*.

Revista: Ars Pharmaceutica 2011; 51(3): 193-201.

6.6 Estudio 6 (Artículo original en inglés):

Título: *“Influence of VDR, DBP (GC) and CASR gene polymorphisms on bone mineral density, compressive strength index and risk of osteoporotic hip fracture in a Caucasian population”*.

Revista: Bone 2011. Under review.

Estudio 1 (Artículo original)

ORIGINAL

**PHARMACOTHERAPY FOLLOW-UP
AND CONCILIATION OF MEDICATION IN
HOSPITALIZED HIP-FRACTURE PATIENTS**

ROJO VENEGAS KAREN, AZNARTE PADIAL PILAR,
CALLEJA HERNÁNDEZ MIGUEL ÁNGEL, CONTRERAS ORTEGA CARLOS,
MARTÍNEZ MONTES JOSÉ LUIS

ABSTRACT

Objective: To evaluate the pharmacotherapy follow-up (PTF) of elderly hospitalized hip fracture (HF) patients for the detection and resolution of negative medication-associated outcomes (NOM), recording their association with hospital stay.

Method: Quasi-experimental prospective 4-month study of patients aged > 64 yrs. All patients underwent PTF. Study variables included age, sex, hospital stay, surgery delay, pharmaceutical interventions (PI), NOM, PI acceptance and resolution.

Results: The study included 87 patients (77% females). Length of hospital stay was 13.8 days; 75% waited for surgery < 5 days. PI were issued for 88.5% of patients; out of 215 PI (2.8/patient), 60.5% were received by physicians. NOM were prevented by 43.7% of accepted PI and resolved 56.3%. NOM were for «necessity» in 51.2%. In-hospital mortality was 12%.

Conclusion: This PTF programme detected elevated NOM and NOM risk in HF patients, associated with longer hospital stay. The pharmacist conciliated medications to prevent or resolve all detected NOM.

HIP FRACTURE – NEGATIVE OUTCOMES ASSOCIATED WITH MEDICATION –
PHARMACOTHERAPY FOLLOW-UP – PHARMACEUTICAL INTERVENTIONS

RESUMEN

Objetivo: Evaluar el seguimiento farmacoterapéutico (SFT) de pacientes ancianos hospitalizados con fractura de cadera (FC) para la detección y resolución de resultados negativos asociados con la medicación (RNM), registrando su asociación con la estancia en el hospital.

Método: Estudio prospectivo pseudo-experimental de pacientes mayores de 64 años durante cuatro meses. Todos los pacientes tuvieron un SFT. Las variables del estudio incluyeron la edad, sexo, estancia hospitalaria, retraso quirúrgico, intervenciones farmacéuticas (IF), resultados negativos asociados a la medicación, aceptación y resolución de intervenciones farmacéuticas.

Resultados: El estudio incluyó a 87 pacientes (77% mujeres). La duración media de la estancia hospitalaria fue de 13,8 días; el 75% esperaron para tener cirugía menos de cinco días. Intervenciones farmacéuticas fueron emitidas para el 88,5% de los pacientes de un total de 215 IF (2,8/paciente). El 60,5% fueron recibidas por el facultativo. Los resultados negativos asociados con la medicación fueron prevenidos por el 43,7% de las IF aceptadas y resueltos en el 56,3%. Los RNM fueron debidos a «necesidad» en el 51,2%. La mortalidad en el hospital fue del 12%.

Conclusión: Este programa de SFT detectó un elevado número de RNM y el riesgo de RNM en pacientes con fractura de cadera (FC), asociado con una más larga estancia en el hospital. El farmacéutico reconcilió las medicaciones para prevenir o resolver todos los RNM detectados.

FRACTURA DE CADERA – RESULTADOS NEGATIVOS ASOCIADOS CON LA MEDICACIÓN –
SEGUIMIENTO FARMACOTERAPÉUTICO – INTERVENCIONES FARMACÉUTICAS

ROJO VENEGAS K. MD Pharmaceutical Care, Granada University, Virgen de las Nieves University Hospital, Spain.

AZNARTE PADIAL P. Hospital Pharmacy Specialist, Virgen de las Nieves University Hospital, Granada, Spain.

CALLEJA HERNÁNDEZ M.Á. PhD Molecular Biology, Granada University, Hospital Pharmacy Specialist, Director of Clinical Management Unit, Pharmacy Department, Virgen de las Nieves University Hospital, Spain.

CONTRERAS ORTEGA C. PhD Chemistry, University of California, Deputy Research Director, North Catholic University, Chile.

MARTÍNEZ MONTES J.L. PhD Orthopaedic Surgery, Granada University, Orthopaedic Surgery Specialist, Chief of Department of Orthopaedic Surgery, Virgen de las Nieves University Hospital, Spain.

Aten Farm 2009; 11(4): 232-9.

Recibido: 5-5-09. Aceptado: 28-5-09.

TABLE 1. Third Granada protocol on classification of negative outcomes associated with medication (NOM), 2007.**NECESSITY**

Patient has untreated health problem due to not receiving the required medication.
Patient has health problems due to receiving inappropriate medication.

EFFECTIVENESS

Patient has health problem associated with non-quantitative ineffectiveness of medication.
Patient has health problem associated with quantitative ineffectiveness of medication.

SAFETY

Patient has health condition associated with non-quantitative safety problem of medication.
Patient has health condition associated with quantitative safety problem of medication.

INTRODUCTION

Elderly patients are prone to more chronic diseases, require medication for longer periods of time and often require assistance to take it. Over 64-yr-olds constitute around 18% of the Spanish population but account for 70% of pharmaceutical expenditure.^{1,2} Pharmacotherapy follow-up (PTF) aims to improve medication outcomes by supporting selection of the most appropriate, effective and safe drugs.³

The agreement establishing PTF in the Spanish healthcare system in 2007 charged hospital pharmacists with providing a continuous, systematic, and documented service in collaboration with other healthcare professionals and patients. A key aim was for pharmacists to prevent or resolve negative outcomes of medication (NOM) by following the medication of patients and detecting medication-related problems. NOM can be associated with the use or non-use of medications and are classified as being for necessity, effectiveness or safety⁴ (Table 1). Patients need instruction on the nature of their disease and motivation to participate actively in its control, following the recommendations of healthcare professionals. Pharmacists can play an important role in this process, offering health education to patients and professionals, especially on pharmaceutical therapy, with the aim of improving the health and quality of life of patients.⁵

The conciliation of medication is defined as the formal process of assessing in detail the medication of patients before admission and during hospital stay, identifying discrepancies between medication for chronic disease and hospital medication and reporting them to the medical team for a change in the prescription when appropriate.⁶

Hospitalized hip fracture (HF) patients are predominantly elderly⁷ and therefore more likely to have comorbidities and receive multiple drug treatments.⁸ Hence, they are especially vulnerable to in-hospital medication-related problems and NOM. Patients and their carers may also benefit from information and education from pharmacists to support a correct use of medication after discharge and enhance compliance with treatment.⁹⁻¹¹

With this background, the objective of this study was to evaluate the PTF of elderly hospitalized HF patients for the detection and resolution of NOM and to record their effect on hospital stay.

METHOD

A quasi-experimental prospective study was performed in elderly HF patients admitted to the Orthopaedic Surgery and Traumatology Unit of a level 3 hospital (Granada, Spain) between February and May 2008. Study inclusion criteria were age > 64 yrs of age and ability to take charge of their medication alone or under the supervision of an attending carer. Patients with HF caused by high-impact trauma (e.g., motor vehicle accident) were excluded. The study project was approved by the research ethics committee of our hospital.

Procedure

Patients admitted with HF during the study period and/or their carers were informed about this study by the researcher-pharmacist, who then conducted an interview with them immediately after obtaining written consent. Data were gathered on age, sex, comorbidities and usual medication. A PTF dossier was opened following the Dáder Method¹² and further patient data were gathered from hospital records. Throughout the study period, the researcher attended all clinical sessions and participated in ward rounds, updating the dossier with data on medication and daily clinical progress among other relevant information.

An exhaustive study of the data collected was carried out, analyzing the patient's habitual medication to avoid negative outcomes from its combination with in-hospital medication. During medical rounds, the pharmacist was involved with the physician in conciliating the patients' pharmaceutical and non-pharmaceutical treatments. Patients were consulted on any changes in therapy and were instructed on correct medication use. In the event of an NOM, immediate conciliation of the medicine was proposed to the attending physician in a pharmaceutical intervention (PI). Patients were regularly visited by the pharmacist and asked about their state

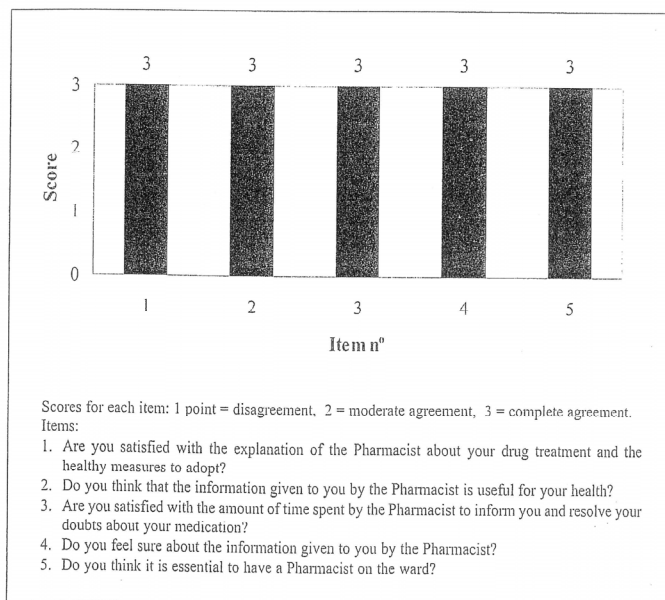


FIG. 1. Questionnaire for patients/carers at hospital discharge.

of health or any doubts they had about their pharmacological or other treatments.

At discharge, the patient and/or carer were given a full review of the customary medication and an hourly treatment planning sheet to facilitate correct medication use. Patients/carers also completed an ad hoc questionnaire on their evaluation of the PTF programme (Fig. 1). Finally, at the end of the study, four traumatologists, one physician-in-training and two nurses from the unit completed a questionnaire adapted from a validated instrument developed by the Andalusian Public Health School.¹³ Items addressed the accessibility, personal interaction and scientific-technical quality of the pharmacist and were scored on a 5-point scale from «in complete disagreement» to «in full agreement». An additional question asked them to rate their overall satisfaction (1-10 point scale) with the participation of the pharmacist in the healthcare team. Study variables were age, sex, comorbidities, usual medication, length of hospital stay (days), in-hospital medication, surgery waiting period (days), in-hospital complications, PI, types of NOM, PI acceptance and resolution, in-hospital mortality and medication on discharge.

Statistical analysis

Windows SPSS 15.0 was used for the statistical analyses. Descriptive analysis yielded means and standard or median deviations and percentiles for numerical variables with normal and non-normal distribution, respec-

tively. Frequencies and percentages were calculated for qualitative variables. Bivariate analyses were performed to study relationships between dependent (numerical) and independent variables. Numerical variables were correlated using the Pearson correlation (normal distribution) or Spearman correlation (abnormal distribution). Qualitative independent variables were correlated by means of Student's t test (variables with 1 category) or Analysis of Variance (variables with > 1 category). $P < 0.05$ was considered significant

RESULTS

During the 4-month study period, 87 patients met the inclusion criteria. Table 2 displays their characteristics on admission, and Table 3 shows the characteristics and variables studied during the hospital stay.

Pharmaceutical interventions and acceptance

The 215 PI issued during the study period were distributed among physicians (60.5%), nurses (20.9%) and patients/carers (18.6%). All PI to physicians were accepted and implemented except for two (the recommended discharge medication was left for the family physician to prescribe in both cases), and all PI to nurses were accepted but three were not implemented (oversight in all cases). All PI to patients/carers were accepted.

PI distribution and resolution and type of NOM

A PI was issued for 88.5% of the patients. Out of these

TABLE 2. Characteristics of study population on hospital admission.

Characteristics	Result
Patients meeting inclusion criteria	87
Sex	Female 77%
Age (yrs)	mean \pm SD ^a 83.1 \pm 7
	64-75 13.8%
	76-85 42.5%
	> 85 43.7%
Diseases	mean \pm SD ^a 3.8 \pm 1.9, max 9
	Cardiovascular 71.3%
	Osteoarticular 48.3%
	Metabolic 36.8%
	Psychiatric 29.9%
Usual medication d ^b	mean \pm SD ^a 5.2 \pm 2.9, max 9
	Antihypertensives 67.8%
	Antituberculous 41.4%
	Hypnotic 40.2%

SD^a: standard deviation. d^b: daily.

215 PI, 94 were for «prevention» NOM, when the pharmacist foresaw the problem, and 121 were issued after detection of the NOM («resolution» NOM). NOM were prevented or resolved in all cases. There was a mean of 2.8 NOM (including prevention NOM) per patient (range 0-6). Fig. 2 shows the distribution of PI for prevention NOM and resolution NOM among physicians, nurses and patients/carers. NOM categories of necessity, effectiveness and safety accounted for 52.1% (63), 33.1% (40) and 14.9% (18) of PI, respectively (Fig. 3). «Necessity» NOM arose because of 1) inadequate infor-

mation on the medication received by patients, due to incomplete records or communication failures among medical staff or with patients, or 2) interruption of their usual medication during the hospital stay because of inadequate monitoring/administration by nursing staff. «Effectiveness» NOM included findings of ineffectiveness (e.g., to reduce blood pressure or pain) despite administration of the highest possible doses. «Safety» NOM were more infrequent and largely related to diarrhoea from antibiotics, abdominal pain from NSAID and nausea from anaesthetics, among others.

TABLE 3. Characteristics of sample population during hospital stay.

Variables	Result
Hospital stay (days)	mean \pm SD ^a 13.8 \pm 7.4
Number of medications d ^b	mean \pm SD ^a 10.5 \pm 3.2
Type of medication	Analgesics - NSAID - anticoagulants - gastric protectors
In-hospital complications	
	Confusional or delirious state 48.3%
	Pain 28.4%
	Pressure ulcers 26.4%
Surgery waiting period (days) ^c (percentiles)	3 [1.3; 5]
N. ^o medications at discharge	mean \pm SD ^a 1.9 \pm 0.8
Hospital mortality	12.6%
	Women 10.4% (7/67)
	Men 20% (4/20)

SD^a: standard deviation. d^b: daily. ^c: three patients did not undergo surgery due to poor health status.

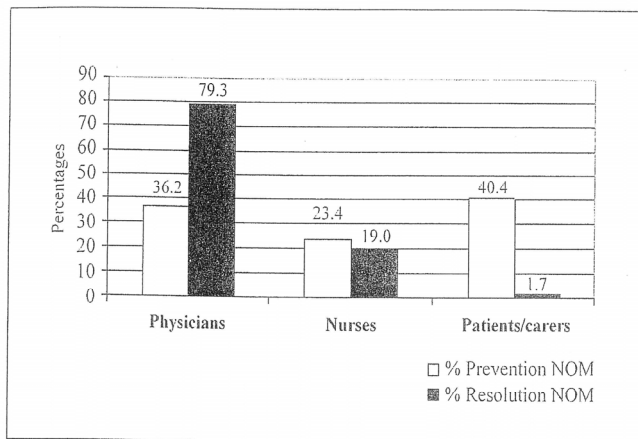


FIG. 2. Distribution of PI for NOM prevention and NOM resolution among physicians, nurses, and patients/carers.

Patients with NOM had a significantly ($p < 0.05$) higher mean hospital stay (14.9 ± 6.3 days) in comparison to patients without NOM (10.6 ± 5.7 days). All accepted PI prevented or resolved the corresponding NOM.

Hospital discharge

The mean number of medications prescribed per patient on hospital discharge (not including their usual [pre-admission] medication) was 1.9 ± 0.8 , with a maximum of three medications per patient. The anticoagulant enoxaparin was prescribed in 85.5%, oral analgesic-

anti-inflammatories (e.g., paracetamol 1 g/8 hrs, oral magnesium metamilol 575 mg/8 hrs or ibuprofen 400 mg/8 hrs) in 89.5%, and gastric protectors (e.g., omeprazole 20 mg/day) in 11.8% of patients.

Surveys of patients/carers and medical team

Patients and/or carers gave the maximum questionnaire score on the activity of the pharmacist (Fig. 1). Only two patients failed to complete the survey, because their carer was not present. The medical team gave a mean questionnaire score of 4.7 out of 5.0 points. Fig. 4 shows the mean scores of the physicians and nurses for each

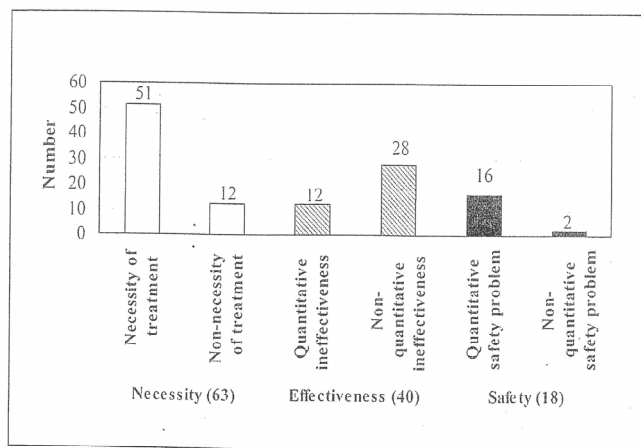


FIG. 3. Distribution of NOM by type (Necessity, Effectiveness, Safety).

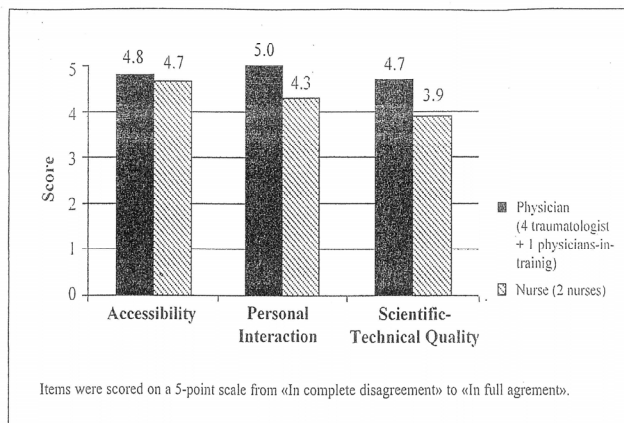


FIG. 4. Mean scores of physicians and nurses for the three dimensions of the survey completed at end of study.

survey dimension. The mean overall satisfaction score of the medical team was 9.4 out of 10.

DISCUSSION

In this study of the implementation of a PTF for elderly hospitalized hip fracture patients, 215 PI were issued, corresponding to a mean of 2.8 potential or actual NOM per patient. All accepted PI (n = 209) prevented or successfully resolved the NOM. The pharmacist-researcher was incorporated into the medical team of the HF unit for four months, attending clinical sessions, participating in ward rounds and regularly talking with physicians, nurses and patients. Very high levels of satisfaction or agreement with the PTF programme and the activity of the pharmacist were recorded by the parents/carers and the medical team.

An elderly population was selected for study because of the high drug consumption and prevalence of comorbidities in this group, implying a high risk of NOM.¹ It was reported that elderly patients are 2- to 3-fold more prone to safety problems and adverse medication interactions than are younger age groups.¹⁴ The mean age of 83.1 yrs in our sample was similar to the mean age of the Spanish population with HF.⁷ Before admission, our patients habitually received a mean of 5.2 drugs/day, within the range of 4-8 drugs reported for patients > 64 yrs old.⁸ The selection of hip fracture patients for this study was of special interest for a PTF programme because the healthcare professionals in of a surgical department might be expected to have less experience with the range of medications used by the elderly. The majority of our patients (77%) were female, consistent with reports that 75-80% of HFs occur in women^{15, 16} and very similar to the proportion of HF patients in the region of Andalusia (77.8%).⁷ In the latter

study, the mean hospital stay of these patients in Spain (16 ± 13) and Andalusia (14.9 ± 12.3 days) was similar to the finding in our sample (13.8 ± 7.4).

Although the hip fracture care protocol issued by the regional health ministry requires patients to be admitted for surgery within 24 h of the fracture,¹⁷ the mean delay in our sample population was three [1.3; 5] days. The cause was either lack of operating room availability or the receipt by patients of anti-coagulant medication. The most frequent in-hospital complication in our sample was confusional state (48.3%), within the range of 15 to 65% in other reports on HF patients.^{18, 19} During their hospital stay, patients received a mean of 10.5 ± 3.2 medications daily, similar to a previous report in our setting (11.5 medications per patient).²⁰

Most of the NOM detected in this study were for «necessity», mainly due to lack of treatment or oversight in relation to the patient's usual (pre-admission) drugs or due to complications during the hospital stay that required medication. Previous studies have reported that most NOM are in this category.^{21, 22} Nevertheless, there is a risk that physicians and nurses can attribute NOM in necessity and effectiveness categories to patients' other health problems and not take a possible pharmacotherapeutic cause into account. The elevated number of NOM in the necessity category can be attributed to an inadequate recording on admission of all drugs usually taken by the patient or by a failure to ensure that the patient returns to the drug regimens suspended for the surgery. «Effectiveness» NOM were the second most common, leading to the suspension of regimens that were ineffective at the highest possible dose. NOM in the safety category were the least frequent in our study and were largely related to unsafe doses of drugs prescribed for diarrhoea, stomach ache or nausea.

All except for six of the PI were implemented in this study. In common with similar studies, most of the PI were addressed to physicians.^{23, 24} The recipient of the PI depended on the type of intervention required to resolve the NOM. PI on changes in administration, dosage, continuation or withdrawal of medication were directed to physicians. PI for nursing staff were issued when patients had not received their medication (by oversight), such as analgesics, antihypertensives or laxatives for recovery or emergency situations. PI for patients and/or carers involved pharmacotherapeutic education on the correct use of their usual medication and on measures to improve their health status. Previous studies have shown that almost all PI (98%) are accepted by the healthcare team and are successful in up to 97% of cases.^{20, 24} These are similar proportions to the present study, in which 98.6% of PI were accepted and successfully resolved the NOM. A previous investigation found that the participation of pharmacists in hospital healthcare teams reduced the number of adverse drug events by 78%, with the acceptance of 147 out of 150 PI.²³ Another study²⁵ detected 0.71 events per patient and found that the quality of drug administration was improved by the inclusion of a pharmacist in the medical team.

The hospital stay was longer for the patients with detected NOM than for those without, as found in previous studies, especially for patients with unresolved NOM in the necessity and safety categories.^{23, 26} It has been claimed that the hospital stay can be markedly reduced when a hospital pharmacist is included in the healthcare team, participating daily in clinical sessions and other activities and optimizing the benefits of pharmacotherapies.²⁷⁻²⁹

Patients have been reported to complain about the lack of complete, coherent, truthful and systematic information and to demand personalized healthcare that takes account of their specific clinical situation.⁵ In the present study, the patients or carers reported maximum satisfaction with the participation of the pharmacist and with the information they received. The medical team also rated the pharmacist's presence very highly.

The hospital mortality of our study population was double the rates of 5 and 6% reported by other authors in Spain.¹⁵ However, our findings agreed with reports of a higher proportion of deaths during hospitalization among males than among females.^{30, 31} These same studies identified age, male sex, dementia, poor pre-HF functional status and HF in winter as factors predicting a poor prognosis, using multiple logistic regression analysis.

Study limitations include possible errors in the patients' or carers' reports on their usual medication and other data, especially given the advanced age of some patients. Inappropriate drug use and self-medication may be under-reported.

In conclusion, hospitalized hip fracture patients presented numerous NOM and risk of negative outcomes (85% of the sample population received a PI), large-

ly due to inadequate treatment or oversight. The frequency of NOM increases with longer hospital stay and with multiple medications. All of the accepted PI successfully prevented or resolved the NOM, supporting the value of a pharmacist in the medical team for pharmacotherapeutic follow-up and conciliation of medication. [AF]

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to the medical and nursing staff of the Traumatology Department of Virgen de las Nieves University Hospital, Granada for their cooperation and support.

REFERENCES

- Blasco F, Martínez López de Letona J, Villares, Jiménez AI. El paciente anciano polimedicado: efectos sobre su salud y sobre el sistema sanitario. *Inf Ter Sist Nac Salud* 2005; 29: 152-62.
- Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria (SEFH). Atención farmacéutica especializada en centros sociosanitarios y residencias asistidas. Disponible en: www.sefh.es/normas/atencion.pdf. Visit in March 2008.
- Baena M, Martínez-Olmos J, Faus M, Fajardo P, Martínez-Martínez F. Pharmacotherapy follow-up: as a quality component in patient care. *Ars Pharm* 2005; 46: 213-32.
- Committee of consensus. Third Consensus of Granada on Drug Related Problems (DRP) and Negative Outcomes associated with Medication (NOM). *Ars Pharm* 2007; 48: 5-7.
- Pla R, García M. Monografía de la SEFH sobre educación sanitaria: «La atención farmacéutica en la educación sanitaria de medicamentos e información al paciente». Available at <http://www.combino-pharm.es/upload/publicaciones/educacion.pdf> (visit in september 2008).
- Delgado O, Anoz, Serrano A, Nicolás J. Conciliation in medication. *Med Clin (Barc)* 2007; 129: 343-8.
- Serra JA, Garrido G, Vidán M, Marañón E, Brañas F, Ortiz J. Epidemiology of hip fracture in elderly in Spain. *An Med Interna* 2002; 19: 389-95.
- Blasco F, Martínez López de Letona J, Perez Maestu R, Villares P, Ponce J. Preliminary study of drug consumption in hospitalized elders. *Ann Med Intern* 2004; 21: 69-71.
- Johnson A, Sandford J, Tyndall J. Written and verbal information versus verbal information only for patients being discharged from acute hospital settings to home. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2003, Issue 4. Art. No.: CD003716. DOI: 10.1002/14651858.CD003716.
- Dunbar JM, Agrad WS. Compliance with medical instructions. In: Ferguson JM, Taylor CD (eds): *The Comprehensive handbook of Behavioural Medicine*. New York, Spectrum Publications 1980. Available at <http://www.paho.org/spanish/ad/dpc/nc/nc-adherencia.pdf>
- Silva-Castro MM, Calleja MA, Machuca M, Faus MJ, Fernádez Llimós F. Pharmacotherapy follow-up to inpatient patients: adapting Dader Method. *Seguim Farmacoter* 2003; 1: 73-81.
- Grupo de investigación en atención farmacéutica. The Dader Method: available at <http://www.atencionfarmaceutica-ugr.es> (visit in January 2008).
- Jiménez Martín JM, Pérez Lozano MJ, Grutzmancher Saiz S, Calleja Hernández MA, Beltrán García M, Gordillo E. Diseño y validación de un cuestionario para la medida de calidad percibida y nivel de satisfacción de las Unidades de Gestión Clínica de Farmacia. *Escuela Andaluza de Salud Pública*, 2006.

14. Amariles Pedro M, Araujo José S, García José C, Azpilicueta Inés C. Guía de atención farmacéutica. Seguimiento farmacoterapéutico y educación sanitaria en pacientes de edad avanzada. Grupo de investigación en atención farmacéutica. Universidad de Granada. 2007. p. 12-26.
15. Pagés E, Cuxart A, Iborra J, Olona M, Bermejo B. Hip fractures in the elderly: as determinants of mortality and capacity of progress. *Med Clin (Barc)* 1998; 110: 687-91.
16. Roche JJW, Wenn RT, Sahota O, Moran CG. Effects of comorbidities and postoperative complications on mortality after hip fractures in elderly people: prospective observational cohort study. *BMJ* 2005; 331: 1374-6.
- 17.- Consejería de salud. Junta de Andalucía. Proceso asistencial integrado. Fractura de cadera. May 2007. Available at: <http://www.csalud.junta-andalucia.es/procesos/procesos.asp?idp=25> (visit in february 2008).
18. Zakriya KJ, et al. Preoperative factors associated with postoperative change in confusion assessment method score in hip fracture patients. *Anesth Analg* 2002; 94: 1628-32.
19. Olofsson B, Lundstrom M, Borssen B, Nyberg L, Gustafson Y. Delirium is associated with poor rehabilitation outcome in elderly patients treated for femoral neck fractures. *Scand J Caring Sci* 2005; 19: 119-27.
20. Torres Antiñolo A. Seguimiento farmacoterapéutico en el proceso asistencial de fractura de cadera en ancianos. Tesis doctoral. Facultad de Farmacia Universidad de Granada, 2008.
21. Gleason KM, Groszek JM, Sullivan, Rooney D, Barnard C, Noskin GA. Reconciliation of discrepancies in medication histories and admission orders of newly hospitalized patients. *Am J Health Syst Pharm* 2004; 61: 1689-95.
22. Campos N, Bicas K, Calleja M, Faus M. Pharmacotherapy follow-up for patients admitted to the Internal Medicine Department of Hospital Infanta Margarita. *Farm Hosp* 2004; 28: 251-7.
23. Kucukarslan SN, Peters M, Mlynarek M, Nafziger DA. Pharmacists on rounding teams reduce presentable adverse drug events in hospital general medicine units. *Arch Intern Med* 2003; 163: 2014-8.
24. Castillo J, Martínez A, Martínez H, Suárez ML, Requena T. Atención farmacéutica a pacientes ingresados desde la unidad clínica. *Farm Hosp* 2000; 24: 27-31.
25. Pretsch P, Hertenberg SW, Humerfelt S. Clinical pharmacist improves the use of drugs in hospital. *Tidsskr Nor Laegeforen* 2004; 124: 1923-5.
26. Ellis SL, Billups SJ, Malone DC, Covey D, Mason B, Jue S, et al. Types of interventions made by clinical pharmacist in the IMPROVE study. *Pharmacotheor* 2000; 20: 429-35.
27. Boyko WL, Yurkowski PJ, Ivey MF, Armistead JA, Roberts BL. Pharmacist influence on economic and morbidity outcome in a tertiary care teaching hospital. *Am J Health- Syst Pharm* 1997; 54: 1591-5.
28. Arroyo Conde C, Aquerreta I, Ortega E, Goñi Zamarbide O, Girádes Deiró J. Clinical and economic impact of the pharmacy resident incorporation into the healthcare team. *Farm Hosp* 2006; 30: 284-90.
29. Malone DC, Carter BL, Billups SJ, Valuck RJ, Barnette DJ, Sintek CHD, et al. An economic analysis of a randomized, controlled, multicenter study of clinical pharmacist interventions for high-risk veterans: the IMPROVE study. *Pharmacotheor* 2000; 20: 1149-58.
30. Jiang HX, Majumdar SR, Dick DA, Moreau M, Raso J, Otto DD. Development and initial validation of risk score for predicting in-hospital and 1-year mortality in patients with hip fractures. *J Bone Miner Res* 2005; 20: 494-500.
31. Franzo A, Francescutti C, Simon G. Risk factors correlated with post operative mortality for hip fracture surgery in the elderly: a population-based approach. *Eur J Epidemiol* 2005; 20: 985-91.

Estudio 2 (Artículo original)



Revista Española de Cirugía Ortopédica y Traumatología

www.elsevier.es/rot



ORIGINAL

Factores de riesgo en una población anciana: escalas de valoración para la prevención de fracturas de cadera

K. Rojo-Venegas^{a,*}, P. Aznarte-Padial^a, M.A. Calleja-Hernández^a, C. Contreras-Ortega^b, J.L. Martínez Montes^c, B. López-Mezquita Molina^c y M.J. Faus Dader^d

^aServicio de Farmacia, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada, España

^bDepartamento de Ciencias Químicas, Universidad Católica del Norte, Antofagasta, Chile

^cServicio de Traumatología y Cirugía Ortopédica, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada, España

^dUniversidad de Granada, Granada, España

Recibido el 14 de mayo de 2009; aceptado el 28 de agosto de 2009

Disponible en Internet el 11 de marzo de 2010

PALABRAS CLAVE

Escala FRAX;
Escala Black;
Factores de riesgo;
Fractura de cadera;
Prevención

Resumen

Objetivos: Describir y cuantificar factores de riesgo (FR) en una población hospitalizada por fractura de cadera (FC), utilizar escalas de valoración en pacientes susceptibles de tenerla y establecer las recomendaciones para su prevención.

Metodología: Estudio descriptivo transversal en 87 pacientes mayores de 64 años, con una edad media de 83 años, ingresados por FC. El 77% fueron mujeres. Se cuantificó y se evaluó los FR en esta población. El 81,6% tuvo caídas y el 42,5% fracturas después de los 50 años. Todas las FC fueron por caídas desde bipedestación.

Se realizó una charla educativa farmacéutico-médica al ingreso y un repaso completo al alta hospitalaria. Las variables analizadas fueron edad, sexo, FR, motivo de la FC, antecedentes genéticos y mortalidad intrahospitalaria, entre otras. En todos los pacientes se aplicó la escala Black y en 75 la escala FRAX[®] (*fracture risk assessment tool*).

Resultados: El 42,5% señaló antecedentes hereditarios. El 98,9% consumía productos lácteos. El 48,3% presentó efeciones osteoarticulares aunque sólo el 8% recibía tratamiento. El 75% esperó al menos 5 días para su intervención. El 12,6% falleció durante la hospitalización. Según la escala de Black, el 85,1% presentó alto riesgo de tener una nueva FC y, según la escala FRAX, el 12% tiene probabilidad de que esto ocurra en los siguientes 10 años.

Conclusión: La mayoría de los pacientes mostraron un alto número de FR de FC previo al ingreso hospitalario que no se detectaron a tiempo. Las escalas de Black y FRAX son herramientas útiles para valorar pacientes susceptibles de tener una FC. Una educación preventiva centrada en los FR disminuiría las FC.

© 2009 SECOT. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: krojo@correo.ugr.es (K. Rojo-Venegas).

KEYWORDS

Scale FRAX;
Index Black;
Risk factors;
Hip Fracture;
Prevention

Factors of risk in an elderly population: Evaluation scales for the prevention of hip fractures**Abstract**

Objective: Describe and quantify risk factors (RF) present in a population hospitalized for hip fracture (HF), apply evaluation scales in patients susceptible to HF and conclude recommendations to prevent them.

Methods: Descriptive cross-sectional study in 87 patients over 64 yrs old admitted for HF. RF were quantified and evaluated in this population. A pharmaceutical-medical education was given at admission and a full reviewed at discharge. The 87 patients studied (77.0% female) had mean age of 83 yrs. 81.6% suffered falls; 42.5% had previous fractures since the age of 50 yrs. All HF were for falls from standing

Variables: age, sex, RF, HF cause, genetic history, hospital mortality, among others. The index Black was applied to all patients and the scale FRAX to 75 patients.

Results: The 42.5% of the patients reported genetic background. 98.9% consumed milk products. The 48.3% presented osteoarticular diseases and only 8.0% received treatment. The 75% waited at least 5 days to undergo surgery. Hospital mortality was 12.6%. According to index Black, 85.1% had a high risk of a new HF. According to SF, 12% were likely to suffer a new HF in the following 10 yrs.

Conclusion: Most patients showed a high number of RF for HF prior hospitalization that was not detected in time. Index Black and Scale Frax are useful tools to detect patients susceptible to HF. Preventive education, particularly focussed on RF, would decrease HF.

© 2009 SECOT. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La fractura de cadera (FC) es una de las consecuencias más importantes de la osteoporosis en términos de morbilidad y coste¹.

Diversos estudios prospectivos han mostrado que existe una estrecha relación entre los factores de riesgo (FC) y la observación de una FC: demostraron que a mayor número de FC, aumentan las tasas de FC². Los principales FR de las FC son³ edad avanzada, sexo femenino, baja densidad mineral ósea (DMO), bajo índice de masa corporal, fracturas previas después de los 50 años (caderas, vértebras, muñecas), enfermedades (osteoporosis, artritis reumatoide, artrosis), baja ingesta de calcio y vitamina D, consumo de tabaco, alcohol y cafeína, baja actividad física, raza blanca, fármacos (benzodicepinas, inhibidores de la bomba de protones, entre otros), historia familiar con FC, antecedentes de caídas, marcha lenta, agudeza visual disminuida y diámetro de pantorrilla pequeño.

Para predecir el riesgo de FC en el paciente, se han desarrollado la escala de Black⁴ y la escala FRAX (*fracture risk assessment tool*), esta última propuesta por la OMS⁵. La escala de Black predice el riesgo de FC en los siguientes 5 años a su aplicación y se la ha validado en la población del estudio EPIDOS⁴. La herramienta FRAX está basada en modelos individuales que combinan e integran factores clínicos de riesgo con la DMO del cuello femoral. Estos modelos se han desarrollado a partir del estudio de grupos poblacionales de Europa, América del Norte, Asia y Australia. Los algoritmos de la escala FRAX calculan la probabilidad más importante de fractura en los siguientes 10 años, ya sea de cadera o de otras fracturas osteoporóticas (fractura vertebral, de antebrazo, de cadera o de hombro)⁵.

Diferentes estudios muestran que es de gran interés la educación sanitaria, no solamente dirigida a este grupo de pacientes, sino también a los profesionales especialistas del

área, en quienes se ha determinado la necesidad de adquirir más conocimientos al respecto⁶.

En la actualidad se está detectando un incremento considerable de la incidencia de estas lesiones debido a la mayor longevidad de la población, sobre todo de las mujeres. La incidencia de FC varía según regiones geográficas. En España, el riesgo de tener una FC a partir de los 50 años es de un 12%, porcentaje que se encuentra dentro de la media europea. Sin embargo, este porcentaje va en aumento a medida que se avanza en la edad⁷. La incidencia global en España de FC en ancianos mayores de 64 años es de 517 casos por cada 100.000 habitantes y año, y particularmente en la Comunidad de Andalucía la incidencia es mayor a la media española (531 FC por 100.000 habitantes y año)⁸.

Por lo anteriormente mencionado, hemos decidido describir y cuantificar FR presentes en una población hospitalizada por FC y utilizar escalas de valoración en pacientes susceptibles de tener esta fractura, así como concluir recomendaciones al equipo de salud y a los enfermos/cuidadores para la prevención de éstas, recomendaciones divulgadas a través de material impreso y charlas educativas medicofarmacéuticas.

Material y método

Hemos realizado un estudio descriptivo transversal en un hospital de tercer nivel en Granada durante 4 meses, desde febrero a mayo del año 2008; se seleccionó a todos los pacientes mayores de 64 años ingresados por FC, autónomos para tomar la medicación, que se encontrasen bajo el cuidado de un tercero y que aceptaran entrar en el estudio mediante la firma de consentimiento informado. Se excluyeron pacientes en los que la causa de la FC fuera por traumatismos de alta energía, como accidentes automovilísticos, o no pudieran responder al estudio. El Comité Ético del Hospital aprobó este proyecto.

Fuente de información

Los datos de FR se recogieron mediante entrevista personal con el paciente o el cuidador en el día del ingreso en planta y a través de información de la base de datos del programa informático clínico del centro. Por otra parte, se extrajeron datos de las sesiones médicas para la información sobre los nuevos ingresos.

Procedimiento

Inicialmente se presentó el protocolo a los médicos en la sesión clínica del servicio, quienes evidenciaron la necesidad de conocer datos relevantes relacionados con esta afección quirúrgica. Diariamente, el farmacéutico revisó en el sistema informático el número de pacientes ingresados con diagnóstico de FC. Posteriormente, participó en las sesiones clínicas médicas para mayor información sobre la población en estudio. Una vez identificados los pacientes en sus respectivas camas, el farmacéutico les explicó el propósito del estudio. Los pacientes que accedieron al estudio, firmaron el consentimiento informado. Inmediatamente, a cada paciente se le realizó la primera entrevista con preguntas relacionadas sobre los FR y luego, mediante un folleto didáctico, se le explicó las medidas educacionales y preventivas de las FC. Terminada la entrevista y la charla educativa, se revisaron las historias clínicas de cada paciente para la obtención de información que no entregaron los pacientes y que se consideró de relevancia para el estudio. Posteriormente, se cuantificaron los FR en cada uno de los pacientes y se aplicaron las escalas de Black y FRAX por separado. Para la escala de Black se utilizaron las variables descritas en tabla 1. Existen 2 maneras de realizar el cálculo en la escala de Black: con DMO y sin DMO. Si la suma de los puntos obtenidos de las variables sin DMO es ≥ 4 o la misma suma con DMO es ≥ 6 , se incluye al paciente en la categoría de «paciente de alto riesgo» de tener una FC. Para la escala FRAX se consideraron las variables edad (entre 40–90 años), sexo, peso (kg), estatura (cm), fractura previa, padres con FC, fumador activo, glucocorticoides, artritis reumatoide, osteoporosis secundaria, alcohol (3 o más dosis al día) y resultado de la DMO. Para considerar si el paciente tenía la variable de «osteoporosis secundaria», ésta se definió como aquella causada por enfermedades o medicaciones distintas a la pérdida ósea explicable por la etapa postmenopáusica o el envejecimiento. El resultado final determinó la probabilidad de tener una FC en los siguientes 10 años. Al igual que en la escala anterior, la DMO puede considerarse o no (www.shef.ac.uk/FRAX/chart_SP.htm).

En el momento del alta hospitalaria, tanto al paciente como al cuidador se les hizo un repaso completo de la información entregada, haciendo hincapié en la prevención de una nueva FC. Para esto, se les entregó el díptico ya mencionado y se les instó a seguir rigurosamente sus recomendaciones. Además, junto al médico (intervención medicofarmacéutica) se les pidió, y se registró en el informe del alta de cada paciente, visitar al médico de familia para una evaluación de su estado general y su tratamiento habitual, así como considerar la incorporación de tratamiento antiosteoporótico si lo precisara. La visita debería servir además para verificar el seguimiento de las recomendaciones entregadas.

Además se midieron variables como motivo de la FC, número de densitometrías realizadas hasta la fecha,

Tabla 1 Escala de Black para valorar el riesgo de fracturas de cadera

Factores de riesgo	Puntuación
Edad actual	
Menor de 65 años	0
65–69	1
70–74	2
75–79	3
80–84	4
Mayor de 85	5
Fracturas después de los 50 años	
Sí	1
No	0
Madre con FC después de los 50 años	
Sí	1
No	0
Fuma actualmente	
Sí	1
No	0
Necesita de los brazos para levantarse de la silla	
Sí	1
No	0
Resultados de la DMO de cadera total (T-score)	
T-score > 1	0
T-score entre -1 y -2	2
T-score entre -2 y -2,5	3
T-score < -2,5	4

El punto de corte está en 4 puntos (si no se dispone de un valor de densidad mineral ósea) o en 6 (si se dispone de densidad mineral ósea).

DMO: densidad mineral ósea; FC: fractura de cadera.

persona(s) con quien vive, medio ortopédico para caminar, mortalidad intrahospitalaria, tratamiento farmacológico para el estado mineral óseo utilizado (antirresortivos, calcio y vitamina D, entre otros).

Análisis estadístico

Mediante el programa estadístico SPSS 15.0 para Windows, se realizó un análisis descriptivo de la muestra de pacientes, se calcularon medias y desviaciones estándares o medianas y percentiles para las variables numéricas, ya siguieran una distribución normal o no, respectivamente. Para las variables cualitativas se calcularon frecuencias y porcentajes.

Resultados

Durante el período de estudio se incluyó un total de 87 pacientes que cumplieron los criterios de inclusión, con una edad media (tanto para mujeres como hombres) de 83 años. En la tabla 2 se resumen las características y los FR presentes en la población de estudio. Según la escala de Black, el 85,1% presentó alto riesgo de tener una FC. Según la escala FRAX, la probabilidad de una nueva FC durante los próximos 10 años fue del 12%, con un máximo del 40%. La totalidad de las FC se generó por caídas (resbalón, tropiezo, mareos) desde la posición

de bipedestación. El 95,4% de las fracturas ocurrió en los domicilios o las residencias, mientras que el resto se produjo en la calle. El 46% de la población vivía sola y el 11% en una residencia, mientras que el resto lo hacía junto a familiares o cuidadores. El 77% de los pacientes (el 53% de mujeres y el 14% de hombres) necesitaba de otra persona para su quehacer normal (ducharse, vestirse, comer, etc.). El 58,7% de los pacientes utilizaba algún medio ortopédico para caminar (bastón y andador). Ningún paciente se había realizado un examen densitométrico hasta la fecha. Casi la mitad de la población tenía diagnosticada una enfermedad ósea, sólo el 8%

tomaba medicamentos para el tratamiento mineral óseo (un paciente tomaba principio activo de Alendronato[®], 2 pacientes tomaban Risedronato-Actonel[®], un paciente tomaba Raloxifeno-Evista[®], un paciente tomaba Teriparatida-Forsteo[®] y 2 pacientes tomaban Calcio-Calcium Sandoz Forte[®]). La estancia media de hospitalización de los pacientes fue de 15 días (DE: 12), con una espera para la intervención quirúrgica expresada en percentiles de 3 días (1,3; 5). El fallecimiento producido durante la estancia hospitalaria fue de un 10,4% para las mujeres (7/67) y de un 20% para los hombres (4/20), lo que expresado en forma global representa un 12,6%.

Tabla 2 Resumen de la descripción cuantitativa de los factores de riesgo encontrados en la población

Factores de riesgo	Resultados
Edad (años)	
Media \pm DE	83,1 \pm 7
64-75	13,8%
76-85	42,5%
Mayor de 85	43,7%
IMC	
Bajo (< 18,50)	4,6%
Normal (18,50-24,99)	49,5%
Sobrepeso (\geq 25,00)	28,7%
Obeso (\geq 30,00)	17,2%
Estilo de vida actual	
Alcohol (\geq 1 vaso/día)	3,4%
Tabaco	1,1%
Cafeína (\geq 1 taza/día)	5,7%
Ejercicios	24,1%
Caidas previas	81,6%
N.º caídas	2 (1,4) ^a
Fracturas previas después de los 50 años^b	42,5%
Historia familiar directa de FC	40,0%
Problemas visuales^c	95,4%
Ingesta de calcio	
Derivados lácteos	98,9%
Leche (\geq 1 vaso/día)	86,2%
Yogurt (\geq 125 g/día)	79,3%
Queso (\geq 50 g/día)	74,7%
Patologías óseas	48,3%
Osteoporosis	34,5%
Artritis	21,8%
Artritis	14,9%
Fármacos de consumo habitual	
Benzodiacepinas	51,7%
IBP (omeprazol)	47,5%
Corticoides	4,6%
Anticonvulsivantes	2,2%

DE: desviación estándar; FC: fractura de cadera; IBP: inhibidor de la bomba de protones; IMC: índice de masa corporal.

^aPercentil: P₅₀ [P₂₅, P₇₅].

^bTres pacientes tuvieron fracturas de cadera previas. Todos de sexo femenino.

^cCataratas, cataratas no intervenidas, cegueras parciales o totales.

Discusión

Según la escala FRAX, aproximadamente uno de cada 10 de nuestros pacientes tendrá una nueva FC en los siguientes 10 años. Probablemente, por su avanzada edad actual, algunos no lleguen a manifestarla. En tal sentido, la aplicación de la escala exige no sobrepasar una edad máxima y tener leves sospechas de susceptibilidad a una fractura. Por lo primero, no se consideró a 12 pacientes, lo que constituyó una limitación del estudio. Para la escala de Black se consideró a toda la población en estudio y se encontró un elevado porcentaje de pacientes en alto riesgo de tener una FC. Como no se dispuso de las DMO de los pacientes, la suma de las variables debió ser \geq 4 puntos (tabla 1).

Sobre la base de los FR identificados, ser mujer (77%) predominó como FR, lo que coincide con estudios que señalan que las mujeres comprenden entre el 75-80% de la población que tiene una FC⁹; en la comunidad andaluza es precisamente de un 77,8%⁸. No hubo diferencias significativas entre las edades medias de los hombres y las mujeres, con valores similares a otros trabajos. Asimismo, la edad media global (83 años) de la población estudiada coincide con las comprendidas en trabajos realizados en España (78 a 82 años)^{10,11}.

La totalidad de las FC de la población estudiada fue producto de las caídas, que también son el principal FR descrito en la literatura médica¹². Esto puede tener relación con el hecho de que aproximadamente la mitad de la población consumía fármacos desencadenantes de caídas, como las benzodiacepinas¹³. En efecto, otros estudios señalan que el riesgo global de las caídas fue inferior para el grupo al que se le retiró la medicación psicotrópica¹⁴. En consecuencia, se recomendó en la hoja de alta dirigida al médico de familia realizar una planificación de retirada o ajuste de medicación psicotrópica. Por otra parte, se ha demostrado que el consumo de inhibidores de la bomba de protones como el omeprazol, tomados de forma habitual, a altas dosis y por largo tiempo, tiene asociado un mayor riesgo de FC al disminuir la absorción de calcio¹⁵. En nuestro estudio, casi la mitad de la población tomaba este medicamento.

Diversos estudios señalan que el 90% de las FC que se ven en un hospital son atribuibles a la osteoporosis (fracturas osteoporóticas) y no al traumatismo en sí¹⁶. En nuestros pacientes, la totalidad de ellos presentó esta característica, ya que las caídas fueron en posición desde bipedestación y por un golpe que, en la mayoría de los casos, no sería suficiente para fracturar un hueso normal. Como antecedente, aproximadamente 4 de 10 de nuestros pacientes tuvieron fracturas óseas previas después de los 50 años (muñecas, brazos, vértebras).

Un estudio realizado en España señaló que los pacientes ancianos que viven solos están más expuestos a caídas y FC en sus domicilios¹⁷. Los resultados de nuestro estudio confirmaron lo anterior, sin embargo, el número de pacientes que viven solos triplicó en número al estudio anterior, lo que señala una mayor susceptibilidad de nuestra población a las caídas.

Un porcentaje considerable de la población señaló signos y síntomas característicos de enfermedades osteoarticulares que no se habían referido en las historias clínicas. Cabe destacar que la densitometría es la prueba aceptada para evaluar la DMO¹⁸, sin embargo y por razones que se desconocen, ningún paciente de la población se había realizado este examen.

De igual modo, sólo un bajo porcentaje de los pacientes estaba en tratamientos con fármacos antiosteoporóticos, lo que muestra poca atención al tratamiento de la osteoporosis o bien que existe un desconocimiento sobre educación y tratamiento de ésta y sus consecuencias: la FC, una situación también encontrada en otros países¹⁹. Particularmente, en nuestro estudio, todos los cirujanos ortopédicos señalaron estar conscientes de la importancia del tratamiento farmacológico de la osteoporosis. Sin embargo, ignoran la existencia de protocolos en el hospital para actuar frente a esta enfermedad. Además, señalan que para hacer un buen diagnóstico y decidir el tratamiento farmacológico es necesario hacer una buena exploración, lo que conlleva el aumento de las estancias hospitalarias y las consecuencias que implican más días de hospitalización. No obstante, hay disposición para revertir esta situación. Es por esto que durante el período de estudio se realizaron charlas educativas medicofarmacéuticas a los pacientes/cuidadores como parte de la intervención preventiva, haciendo hincapié en los hábitos de vida saludables para evitar los FR. Además, en el alta hospitalaria, el traumatólogo señaló al médico de familia: «es recomendable añadir terapia antiosteoporótica por presentar FR de fracturas osteoporóticas». La efectividad de la educación en la prevención de FC a través del material impreso (folleto didáctico) y de charlas medicofarmacéuticas se evaluará en forma sistemática en el tiempo, y sus resultados se informarán en una próxima publicación.

En las guías clínicas de prestigio existen muchas evidencias de que pacientes en tratamiento con fármacos como Alendronato[®] reducen el riesgo de FC por fragilidad y aumentan la DMO a nivel del fémur^{20,21}, así como también que la asociación de vitamina D (700–800 UI) con calcio (1–1,2 g) reduce la incidencia de FC^{22,23}.

Por otra parte, el consumo de productos con altos nivel de calcio en la población fue aceptable, y es habitual a partir de la tercera edad. La ingesta de alimentos ricos en calcio tiene beneficios en el desarrollo normal del hueso. Por otro lado, se ha demostrado que la ingesta elevada de proteínas de origen animal tiene un efecto negativo en el metabolismo del hueso al aumentar los niveles ácidos en el cuerpo²⁴. Trabajos realizados en mujeres chinas postmenopáusicas concluyeron que la DMO de la zona de la cadera en las mujeres vegetarianas fue menor que en las mujeres omnívoras, pero similares en las lactovegetarianas²⁵. Otros estudios han concluido que aparentemente altas ingesta en la dieta de proteínas de origen animal no tienen efecto en la pérdida de la masa ósea^{26,27}.

El 42,5% de nuestros pacientes reconocieron tener antecedentes familiares directos de FC, lo que concuerda con la afirmación de que las FC tienen un componente genético poblacional^{28,29}. Estos resultados nos plantean la necesidad

de seguir investigando sobre las características genéticas en esta enfermedad.

Otro de los FR presentes en la población fue la baja actividad física que realizaban (caminatas de 30 min como máximo). Estudios realizados en mujeres premenopáusicas y posmenopáusicas señalan que la combinación de ejercicios aeróbicos y de impacto aumenta la DMO, por lo que se aconseja esta práctica desde temprana edad³⁰.

La solución temprana de los problemas visuales disminuye significativamente el número de caídas¹⁴. Casi la totalidad de la población estudiada presentó problemas visuales (cataratas no intervenidas, cegueras parciales o totales).

La mortalidad intrahospitalaria global de la población en estudio (12,6%) fue mayor a lo reportado para España (5–6%)¹⁷. Esta mayor mortalidad podría deberse a que se trataba de pacientes con diversas enfermedades, numerosa medicación y de edad avanzada. A esto se suma las demoras de las intervenciones quirúrgicas, las que en nuestro estudio fueron de al menos 5 días para el 75% de la población. De acuerdo con protocolos existentes, éstas no deben superar las 24 h posfractura³¹. Nuestro valor de estancia hospitalaria fue similar o menor a la media de España (16 días) e igual al global de Andalucía (15 días). Esta estancia se podría reducir acelerando las intervenciones quirúrgicas cuando sea posible.

Nuestros resultados coinciden con otro estudio³² en el que la proporción de fallecidos durante la hospitalización fue mayor en hombres que en mujeres. Este último estudio determinó que la edad, el sexo masculino, la demencia, la mala situación funcional previa a la FC y el tener la FC en invierno son indicadores de mal pronóstico.

Al considerar las importantes consecuencias de esta afección quirúrgica, emprendimos durante la estancia hospitalaria una educación preventiva dirigida tanto a pacientes/cuidadores como al colectivo de enfermería con el objetivo de enseñarles medidas prácticas para evitar las fracturas y para tratarlas durante la hospitalización.

En este estudio apreciamos una carencia en la determinación de FR, una falta de estudios de la DMO y un tratamiento farmacológico inadecuado para la prevención de la fragilidad ósea. En vista de lo anterior, creímos necesario dar algunas recomendaciones útiles a esos propósitos, como fueron las charlas educacionales, la creación del folleto mencionado y el trabajo en equipo con el cuerpo médico.

En resumen, la casi totalidad de los pacientes objeto de estudio eran candidatos a tener FC previamente al ingreso hospitalario, lo que señala la necesidad de brindar una educación sanitaria centrada en los pacientes susceptibles de tener una FC y en aquellos que ya la han tenido. Al parecer no se había establecido ninguna medida de prevención a pesar de los considerables FR existentes. Por otro lado, nuestros resultados indican que las escalas de Black y FRAX son herramientas adecuadas para la detección de pacientes susceptibles de tener FC y, por tanto, de ayuda al equipo de salud para tomar las medidas preventivas. Además, observamos que en nuestro entorno hospitalario no existe un consenso farmacológico para la prevención y los tratamientos de estas fracturas. La intervención debe centrarse en evitar los FR potencialmente reversibles, como son las caídas y la baja DMO, y en utilizar los tratamientos farmacológicos pertinentes, lo que debería disminuir el número de fracturas osteoporóticas de cadera y tener, por tanto, un impacto positivo en la salud pública.

Anexo 1. Folleto educativo para la prevención de fracturas de cadera y hábitos de vida saludables.

**PARA UN HUESO SIN FRACTURAS
PREVENCIÓN Y HÁBITOS DE VIDA SALUDABLES**

PRINCIPALES FACTORES DE RIESGOS DE FRACTURA

- Tendencias a las caídas
- Osteoporosis
- Edad
- Raza blanca
- Densidad masa ósea baja (D.M.O)
- Ingesta baja de calcio y vitamina D
- Índice de masa corporal baja (I.M.C)
- Tabaco, alcohol, café.
- Baja actividad física.
- Historia familiar con antecedentes de fracturas
- Dificultad para andar y equilibrio
- Agudeza visual disminuida
- Diámetro de pantorrilla pequeño.
- Fármacos (anticconvulsivantes, litio, heparina, omeprazol)



HÁBITOS DE VIDA SALUDABLES

1.- Dieta saludable



Consumir una alimentación equilibrada sin exceso de grasa, ni proteínas. Que sean ricos en calcio y vitamina D, como productos lácteos: leches, yogurt, quesos. Verduras: acelgas, espinacas, cardos, entre otros y frutas. Pescados y mariscos. Frutos secos almendras, avellanas. Legumbres.
Los productos desnatados no reducen el aporte de calcio

Se necesitan consumir 1.200mg de calcio al día en el adulto mayor.

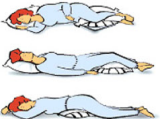
Esta cantidad se obtiene con:
- 5 vasos de leche al día o 7 yogures o 150 g de queso manchego curado. Los quesos frescos contiene menor cantidad de calcio.

Una combinación diaria podría ser:

- 1 vaso de leche en el desayuno u otro en la cena.
- 1 batido de leche a media mañana.
- 1 yogurt o un trozo de queso en la comida.
- 1 yogurt o un bocadillo de queso en la merienda



4.- Recomendaciones posturales



A Las mejores posiciones para dormir son de lado con las piernas flexionadas y una almohada entre las rodillas (A), boca arriba con una almohada bajo las rodillas (B) y boca abajo con la almohada en el vientre (C).



Para una correcta posición de pie mientras se realizan tareas hogareñas, se debe utilizar un taburete y contraer los músculos abdominales y con los hombros hacia atrás.



La mejor amiga de la espalda es la silla recta, y no excesivamente baja. Los pies deben estar apoyados en el suelo o en un pequeño soporte. La espalda y el cuello deben formar una línea recta un poco adelantada de las caderas.



Si lleva bolsa en la mano, es mejor repartir en peso entre los 2 brazos y si es solo 1 objeto, llevarlo cogido contra el pecho.

2.- Realizar ejercicio

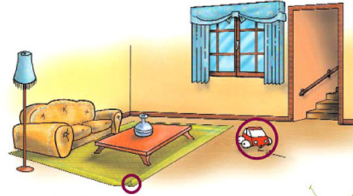


El ejercicio mantiene el calcio que se encuentra en el hueso. El mantener el peso y aumentar el tono muscular por medio del ejercicio, mejora la agilidad, la fuerza, y el equilibrio lo que puede reducir el riesgo de caídas. A tolerancia se recomienda: trotar, bicicleta, natación, caminar en plano. Además una exposición moderada al sol es recomendable para la prevención de osteoporosis.

3.- Dejar de fumar

Además de ser perjudicial para la salud: problemas cardiovasculares, pulmonares, pérdida del gusto y olfato, etc. El tabaco incrementa el riesgo de padecer fractura de cadera, reduciendo el porcentaje de calcio en los huesos.

PREVENCIÓN de FRACTURAS



En el hogar los suelos deben mantenerse libres de obstáculos con los que se pueda tropezar (pisos de la alfombra, juguetes, cables, etc.) Las escaleras deben tener pasamanos y el baño alfombrillas antideslizantes y pasamanos. Mantenga limpio y seco el suelo de la cocina. La iluminación debe ser buena. Utilice zapato con suela de goma. Esté atento por donde anda, puesto que puede haber alguna limitación: aceras, charco, escalones, etc.

RECOMENDACION DE EJERCICIOS TRAS UNA FRACTURA DE CADERA

Tras una FC es recomendable realizar los siguientes ejercicios durante unos 15-20 min al acostarse y otros antes de levantarse.



	Posición de reposo A
	Tumbado boca arriba con las piernas extendidas (A), doblar la derecha sobre el pecho y estirarla hasta la vertical (B) y luego bajar lentamente la pierna extendida hasta llegar a la posición de partida.
	Desde la posición inicial (A), separar la pierna derecha lateralmente (C). Volver a la posición inicial. Repetirlo con la pierna izquierda.
	Tumbado boca arriba con las piernas flexionadas y con los pies apoyados en el suelo (D). Levantar las piernas lo más alto posible (D ₁).
	Tumbado lateralmente, con la mano en la sica y la otra apoyada en el suelo delante del pecho. La pierna de lado debe quedar flexionada y la otra extendida hacia delante (E). Levantar la pierna extendida hasta la vertical y volver al suelo por detrás del cuerpo describiendo un círculo, después hacerlo en sentido inverso (E ₁). Repetir con la otra.
	De pie sobre un escalón (F), descamando el peso del cuerpo sobre la pierna sana y dejando colgar la otra en el vacío. Balancear la pierna hacia adelante y hacia atrás.

Bibliografía

- Kanis J. Osteoporosis and its consequences. En: Kanis J, editor. *Osteoporosis*. Oxford (RU): Blackwell Science Ltda.; 1994(1). p. 1-21.
- Kanis JA, Borgstrom F, De Laet C, Johansson H, Johnell O, Jönsson B, et al. Assessment of fracture risk. *Osteoporos Int*. 2005;16:581-9.
- Grupo de trabajo de menopausia y postmenopausia. Guía de práctica clínica sobre la menopausia y postmenopausia. Barcelona: Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia, Asociación Española para el Estudio de la Menopausia, Sociedad Española de Medicina de Familia y Comunitaria y Centro Cochrane Iberoamericano; 2004.
- Black DM, Steinbuch M, Palermo L, Dargent-Molina P, Lindsay R, Hoeseyni MS, et al. An assessment tool for predicting fracture risk in postmenopausal women. *Osteoporos Int*. 2001;12:519-28.
- Herramienta de evaluación de riesgo de fracturas desarrollada por la Organización Mundial de la Salud (OMS). Universidad Sheffield [consultado 14/11/2008]. Disponible en: http://www.shef.ac.uk/FRAX/chart_SP.htm.
- Dreinhöfer KE, Féron JM, Herrera A, Hube R, Johnell O, Lidgren L, et al. Orthopaedic surgeons and fragility fractures: A survey by the bone and joint decade and the International Osteoporosis Foundation. *J Bone Joint Surg (Br)*. 2004;86-B:958-61.
- Kanis JA, Johnell O, De Laet C, Jonsson B, Oden A, Ogelsby AK. International variations in hip fracture probabilities: Implications for risk assessment. *J Bone Miner Res*. 2002;17:1237-44.
- Serra JA, Garrido G, Vidán M, Marañón E, Brañas F, Ortiz J. Epidemiología de la fractura de cadera en ancianos en España. *An Med Interna*. 2002;19:389-95.
- Torres Antiñolo A. Seguimiento farmacoterapéutico en el proceso asistencial de fractura de cadera en ancianos [tesis doctoral]. Granada. Universidad de Granada; 2008.
- Herrera A, Martínez Á, Fernández L, Gil E, Moreno A. Epidemiology of osteoporotic hip fractures in Spain. *Int Orthop*. 2006;30:11-4.
- Tenias JM, Mifsut D. Tendencia, estacionalidad y distribución geográfica de la incidencia de la fractura de cadera en un área de salud de la Comunidad Valenciana. *Rev Esp Salud Publica*. 2004;78:539-46.
- National Institute for Clinical Excellence (NICE 2004) Clinical Guideline 21. Falls: the assessment and prevention of falls in older people [consultado 23/05/2009]. Disponible en: <http://www.nice.org.uk/CG021NICEguideline>.
- Wagner AK, Zhang F, Soumerai SB, Walker AM, Gurwitz JH, Glynn RJ, et al. Benzodiazepine use and hip fractures in the elderly: Who is at greatest risk? *Arch Intern Med*. 2004;164:1567-72.
- Gillespie LD, Gillespie WJ, Robertson MC, Lamb SE, Cumming RG, Rowe BH. Intervenciones para la prevención de caídas en las personas ancianas (Revisión Cochrane traducida). En: *La Biblioteca Cochrane Plus* N.º 4. Oxford: Update Software Ltd.; 2008 [consultado 20/03/2009]. Disponible en: <http://www3.cochrane.org/reviews/es/ab000340.html>.
- Yang Y, Lewis JD, Epstein S, Metz DC. Long-term proton pump inhibitor therapy and risk of hip fracture. *JAMA*. 2006;296:2947-53.
- Melton LJ, Ilstrup DM, Riggs BL, Beckenbaugh RD. Fifty-year trend in hip fracture incidence. *Clin Orthop Relat Res*. 1982;162:144-9.
- Pagés E, Cuxart A, Iborra J, Olona M, Bermejo B. Fractura de cadera en ancianos determinantes de la mortalidad y capacidad de marcha. *Med Clin Barc*. 1998;110:687-91.
- Moreno MC, Centelles F, Jovell E. Indicación de densitometría ósea en mujeres mayores de 40 años. *Aten Primaria*. 2005;35:253-7.
- Harrington T, Broy S, Derosa A, Licata A, Shewmon D. Hip fracture patients are not treated for osteoporosis: A call to action. *Arthritis Rheum*. 2002;47:651-4.
- National Institute for health and Clinical Excellence (NICE 2008). Technology appraisal guidance 161: Bisphosphonates (alendronate, etidronate, risedronate), raloxifene, strontium ranelate and teriparatide for the secondary prevention of osteoporotic fragility fractures in postmenopausal women [consultado 04/02/2008]. Disponible en: <http://www.nice.org.uk/TA087guidance>.
- Wells GA, Granney A, Boucher M, Peterson J, Shea B, Robinson V, et al. Bisphosphonates for the primary and secondary prevention of osteoporotic fractures in postmenopausal women: A meta-analysis. Ottawa: Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health (CADTH); 2006 [consultado 08/03/2009]. Disponible en: <http://www.cadth.ca>.
- Boonen S, Lips P, Bouillon R, Bischoff-Ferrari HA, Vanderschueren D, Haentjens P. Need for additional calcium to reduce the risk of hip fracture with vitamin D supplementation: Evidence from a comparative metaanalysis of randomized controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92:1415-23.
- Bischoff-Ferrari HA, Willet WC, Wong JB, Giovannucci E, Dietrich T, Dawson-Hughes B. Fracture prevention with vitamin D supplementation: A meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA*. 2005;293:2257-64.
- Barzel US, Massey LK. Excess dietary protein can adversely affect bone. *J Nutr*. 1998;128:1051-3.
- Lau EMC, Kwok T, Woo J, Ho SC. Bone mineral density in Chinese elderly female vegetarians, vegans, lacto-vegetarians and omnivores. *Eur J Clin Nutr*. 1998;52:60-4.
- Hannan MT, Tucker KL, Dawson-Hughes B, Cupples L, Felson D, Kiel DP. Effect of dietary protein on bone loss in elderly men and women: The Framingham Osteoporosis Study. *J Bone Miner Res*. 2000;15:2504-12.
- Kerstetter JE, O'Brien KO, Insogna KL. Low protein intake: The impact on calcium and bone homeostasis in humans. *J Nutr*. 2003;133:855-61.
- Richards JB, Rivadeneira F, Inouye M, Pastinen TM, Soranzo N, Wilson SG. Bone mineral density, osteoporosis, and osteoporotic fractures: A genome-wide association study. *Lancet*. 2008;371:1505-12.
- Nguyen TV, Center JR, Eisman JA. Pharmacogenetics of osteoporosis and the prospect of individualized prognosis and individualized therapy. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2008;15:481-8.
- Wallace BA, Cumming RG. Systematic review of randomized trials of the effect of exercise on bone mass in pre and postmenopausal women. *Calcif Tissue Int*. 2000;67:10-8.
- Consejería de Salud. Junta de Andalucía. Proceso asistencial integrado. Fractura de cadera; 2007 Mayo [consultado 12/02/2009]. Disponible en: <http://www.csalud.junta-andalucia.es/procesos>.
- Jiang H, Majumdar S, Dick D, Moreau M, Raso J, Otto D. Development and initial validation of risk score for predicting in-hospital and 1-year mortality in patients with hip fractures. *J Bone Miner Res*. 2005;20:494-500.

Estudio 3 (Artículo de revisión)



Pharmacogenetics of osteoporosis-related bone fractures: moving towards the harmonization and validation of polymorphism diagnostic tools

Osteoporosis is one of the most common skeletal chronic conditions in developed countries, hip fracture being one of its major healthcare outcomes. There is considerable variation in the implementation of current pharmacological treatment and prevention, despite consistent recommendations and guidelines. Many studies have reported conflicting findings of genetic associations with bone density and turnover that might predict fracture risk. Moreover, it is not clear whether genetic differences exist in relation to the morbidity and efficiency of the pharmacotherapy treatments. Clinical response, including beneficial and adverse events associated with osteoporosis treatments, is highly variable among individuals. In this context, the present article intends to summarize putative candidate genes and genome-wide association studies that have been related with BMD and fracture risk, and to draw the attention to the need for pharmacogenetic methodology that could be applicable in clinical translational research after an adequate validation process. This article mainly compiles analysis of important polymorphisms in osteoporosis documented previously, and it describes the simple molecular biology tools for routine genotype acquisition. Validation of methods for the easy, fast and accessible identification of SNPs is necessary for evolving pharmacogenetic diagnostic tools in order to contribute to the discovery of clinically relevant genetic variation with an impact on osteoporosis and its personalized treatment.

KEYWORDS: antiresorptives • BMD • fracture • harmonization • osteoporosis • pharmacogenetics • validation

Osteoporosis is a systemic skeletal disease characterized by low bone mass and deterioration in the microstructure of bone tissue, which causes bone fragility and consequent increase in fracture risk [1].

Hip fracture (HF) is the most threatening osteoporotic fracture (OF) because of its high mortality rate that can reach 30% the year after the fracture [2], and 40% in the second year after fracture [3]. In addition, 40% of individuals who survive do not regain their previous health status and become dependent on others to be able to perform daily activities [201].

One of the most used and best clinical determinants of bone status of an individual, as well as OF, is evaluated through the measurement of BMD [4].

Although, many external factors play fundamental roles in determining BMD, it has been estimated that over 50% of women and 70% of men who have suffered fractures did not have previously taken osteoporotic BMD values [5]. Furthermore, in studies of osteoporosis therapy, increases in BMD were not linearly proportional to fracture risk reductions. The change in BMD induced by antiresorptive drugs explains only approximately 15% of the reduction in fracture risk [6].

Despite OF generally being a direct consequence of bone fragility, and therefore a key component of osteoporosis phenotype, OFs can occur as a result of high bone turnover and/or nonskeletal factors, such as the tendency to fall [7].

Genetic studies of osteoporosis have focused on BMD as the most influential predictor of fracture risk [202]. These studies were triggered by evidence that bone characteristics have proven to be highly heritable in twins and families, with 60–80% of variance being attributable to heritable factors [7].

Since osteoporosis has a complex and variable phenotype, and because of its epidemiologic interest, many related causative factors have been sought. These have included effort to establish an association between specific responsible genes or gene groups whose effects could interact together [8].

Thus, large numbers of studies have been reported over the past 15 years regarding osteoporosis genes. However, conflicting results have been obtained, specifically in those studies that examined the impact of polymorphic molecular structures. It is possible that this is owing to small sample sizes and lack of statistical power. Recently, huge efforts have led to the application of high-throughput methodology

Karen Rojo Venegas¹,
Margarita Aguilera
Gómez^{2,3},
John Allan Eisman^{3,4,5},
Antonio García Sánchez⁶,
María J Faus Dader²
& Miguel A Calleja
Hernández¹

¹Pharmacogenetics Unit, Pharmacy Service, University Hospital Virgen de las Nieves, Avenida de las Fuerzas Armadas 2, CP:18014, Granada, Spain

²University of Granada, Campus Universitario de Cartuja, CP:18071, Granada, Spain

³University of New South Wales, Sydney, Australia

⁴St Vincent's Hospital, Sydney, Australia

⁵Osteoporosis & Bone Biology Research, Garvan Institute of Medical Research, 384 Victoria Street, Darlinghurst, Sydney, NSW 2010, Australia

⁶Rheumatology Service, University Hospital Virgen de las Nieves, Avenida de las Fuerzas Armadas 2, CP:18014, Granada, Spain

¹Author for correspondence:

Tel: +34 958 020 108

Fax: +34 958 020 004

krojo@correo.ugr.es

future
medicine part of fsg

(i.e., genome-wide association studies [GWAS]) to elucidate relevant polymorphisms associated with clinical data (briefly summarized later). The information obtained from these studies is much appreciated, but its validity has to be confirmed and replicated for each population. Moreover, it is important to consider genetic data with several potential interaction factors and environmental factors, such as diet, ethnicity and lifestyle. All of these effects are well integrated in a recent GWAS of vitamin D levels (VDR) levels and polymorphisms that present an assessment with genotyped data replication [9].

Validation of functional polymorphic variants across different populations is a task for the near future that should not be restricted exclusively to large sampling or expression-profiling research [10].

As rapid technological advances provide increased accuracy and precision, issues related to validation must still be addressed. There is a need for the parallel validation of these technologies as they make the transition from research applications to routine clinical practice [11]. Technologies that can accurately identify genetic polymorphisms will dramatically affect routine diagnostic processes and future therapeutic developments in personalized medicine.

There are different priorities among countries to take into account, especially on the issue of funding for translational research. In many hospital settings, healthcare is focused on the treatment of existing disease and little or nothing is done to prevent the underlying disease. Therefore, economic analysis should be performed to examine the cost benefit analysis of the disease. However, the contribution of pharmacogenetics combined with pharmacoeconomics could benefit from studies regarding direct-indirect hospital spending on monitoring treatments performed *in situ*.

Taking these points into account, a significant clinical and scientific challenge will be the contribution towards developing and improving an accessible, rapid and easy methodology for the identification of SNPs, thereby, facilitating the evolution of pharmacogenetic diagnostic tools, and so cause a real impact in osteoporosis research worldwide.

In this context, the purpose of the present article is to describe the current state of the art techniques used in the study of factors affecting osteoporosis, specific pharmacotherapeutic treatments, selected putative candidate genes for BMD, osteoporosis and of risk, and their inter-individual variability. Hopefully, these factors will

be able to serve as models in the compilation and use of tools for genotype validation and replication studies. Consequently, this work intends to highlight the need for harmonizing SNP nomenclature and making simple molecular biology tools for establishing routine clinical research methodology for SNP determination easily available, such as PCR-RFLP, PCR-sequencing and/or allele discrimination methods.

Identification of individual fracture risk profiles

The assessment of fracture risk has been mainly based on estimation of BMD and past history of fractures [12,13]. However, even though BMD is a very potent risk factor, it cannot itself explain the whole risk presented for every patient. Several clinical guides [20], currently recommend treating women with a BMD T-score lower than -2 without risk factors, women with a T-score lower than -1.5 and one or more risk factors and women with a past history of vertebral and/or HF, irrespective of BMD. Nevertheless, fracture risk is directly related to BMD, even though there is no threshold value that predicts exactly who is going to suffer a fracture. Moreover, the efficacy rate of treatments for osteoporosis is only 48 % [14]. The individual likelihood of suffering a fracture depends on the combination of several risk factors [15-17]. Therefore, the prophylactic treatment for preventing fractures should be designed, at least in part, using the risk profile for each individual. Advances in genetics knowledge and environmental factors may allow a more personalized design for osteoporosis therapy and the prevention of fractures. Since there is an unpredictable response to different treatments, genetic information can, thus, potentially be used to identify patients who are likely to respond (or unlikely to respond) to a specific pharmacological therapy. Pharmacogenetic data can contribute to developing this insight.

Absolute estimation for the probability of major osteoporotic fracture & treatment initiation: fracture risk assessment tool

The WHO has proposed that drug therapy for treatment of osteoporosis should be considered when there is a BMD value between -2.5 or less in total for hip, femoral neck and/or lumbar spine BMD [18]. What is unclear, is who should receive pharmacologic treatment out of those patients who are at the stage of osteopenia (T-score between -1 and 2.5).

In order to resolve this discrepancy, the WHO have developed an algorithm called fracture risk assessment tool (FRAX[®]) that can calculate the probability of fracture over 10 years, providing specific risks for HF and OF. This algorithm uses both the femoral neck BMD (optional) and clinical risk factors with an impact on fracture risk independently of BMD [203]. Moreover, this tool is used only for postmenopausal women and men aged over 50 years, who have not previously received drug treatment.

This algorithm is freely available and allows physicians and patients to make more informed decisions based on the potential risk of fracture without treatment against the benefits and possible adverse effects of different therapeutic agents.

Although there is no universal consensus on the cutoff point to establish the drug treatment for a patient, in some countries such as the USA and UK, a FRAX rate for HF between 3 and 7%, respectively, has been proposed [19,20]. In Spain, this consensus has not yet been implemented and validated; however, an internal recommendation has been to initiate drug treatment when FRAX is 5% for HF (data not shown).

As well as FRAX, a 'Fracture Risk Calculator' tool has been developed and validated using data from the internationally renowned Dubbo Osteoporosis Epidemiology Study conducted by the Osteoporosis and Bone Biology Program of the Garvan Institute of Medical Research (Sydney, Australia). The study, which began in 1989, includes more than 2500 men and women aged 60 years or more from the Australian city of Dubbo. The longest running study of its kind in the world, it has contributed major changes to our understanding of osteoporosis in women and men, including fracture risk, impact on quality of life, and even survival [21,204].

Pharmacology treatment used for osteoporosis

Over the past two decades the range of therapeutic options available for the treatment of osteoporosis and fracture prevention has increased dramatically with the development of potent antiresorptive and anabolic agents. The antiresorptive agents include bisphosphonates (e.g., alendronate, risedronate, clodronate, etidronate, ibandronate and zoledronic acid), raloxifene, estrogen, and calcitonin. Anabolic agents include, for example, teriparatide (recombinant human parathyroid hormone 1–34) and possibly strontium ranelate, which have been suggested to induce a combination of modest effects on bone formation and resorption [22].

■ Bisphosphonates

Bisphosphonates are the most widely used class of currently approved inhibitors for bone turnover. Their main action is to inhibit bone resorption mediated by osteoclasts. Bisphosphonates bind to bone surface active sites and alter remodeling osteoclastic activity. It has been proposed that two distinct molecular mechanisms are responsible for the effects of these drugs on osteoclast function. Non-nitrogen containing bisphosphonates (e.g., etidronate and clodronate) alter the cell function to metabolize to analogs cytotoxic ATP-bisphosphonates. The nitrogen-containing bisphosphonates (e.g., alendronate, risedronate, ibandronate and zoledronic acid) have been shown to have greater antiresorptive power than non-nitrogen containing bisphosphonates [23]. The mechanism of action of this last group appears to be through its binding to farnesyl pyrophosphate synthetase, inhibiting enzymatic activity in the intracellular mevalonate (3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase) pathway and halting production of necessary sterols, cholesterol and lipids. Loss of these intracellular compounds leads to a decrease in post-translational modification of key proteins (Rab, Rac and Rho). Regulation of central osteoclast cellular activity is interrupted, and ultimately apoptosis of the osteoclast occurs. This mechanism of action seems to be limited to osteoclasts and is believed to be owing to the binding of the drug to hydroxyapatite sites in bone, with subsequent cellular ingestion occurring strictly with osteoclasts during bone resorption [24].

■ Raloxifene

Raloxifene, a selective estrogen receptor (ER) modulator, competitively inhibits 17- β estradiol at the ER. Binding of raloxifene to the ER results in a change in the receptor itself and prevents coregulator protein binding and activation of the blocked ER [25]. Raloxifene blocks activation of growth factor β -3, increasing the rate of osteoclast apoptosis and osteoblast differentiation, decreasing bone resorption and regulating bone remodeling [26].

■ Hormone replacement therapy

Hormone replacement therapy (HRT) such as 17- β estradiol (estrogen) acts on the bone in two ways: directly and indirectly. The indirect action of estrogen involves the regulation of growth factors and cytokine production in osteoblasts which, in turn, regulate osteoclast differentiation and activity. Estrogens may also act directly on osteoclastic bone resorption [27].

■ Calcitonin

Calcitonin is an endogenous hormonal peptide produced in the thyroid. The release of calcitonin is increased by the elevation of blood calcium levels. It has been shown *in vitro* that, at low concentrations, calcitonin causes a rapid, albeit transient, change in the cytoskeletal structure of active osteoclasts. This structural change renders the osteoclasts ineffective but does not cause apoptosis of the osteoclast cell. The change in structure leads to a reduction in bone resorption. It has been reported that the effects of calcitonin are more apparent in trabecular bone than in cortical bone, which is most likely owing to increased bone turnover at the trabecular bone [28].

■ Teriparatide

Teriparatide is a recombinant formulation of the N-terminal chain 34-amino acid fragment of parathyroid hormone. Teriparatide works similarly to the endogenous hormone, regulating calcium and phosphorus metabolism in the bones and kidneys. Teriparatide, given in intermittent doses, acts as a bone anabolic agent via stimulating osteoblast function, increasing gastrointestinal calcium absorption, and increasing renal tubular resorption of calcium. When a higher continuous dose is achieved, it stimulates osteoclast function. Hence, teriparatide can increase or decrease bone mass depending on the dose [22].

■ Strontium ranelate

Strontium ranelate has a combination of modest effects on both anabolic and antiresorptive activity, increasing collagen and noncollagen protein synthesis, enhancing preosteoblast differentiation, inhibiting osteoclast differentiation and reducing osteoclast function [29].

■ New targeted therapy

Another new drug is denosumab [205]. It is a fully human monoclonal antibody to RANKL, an essential mediator of osteoclastic bone resorption [30]. RANKL plays a major role in the pathogenesis of postmenopausal osteoporosis, structural damage in rheumatoid arthritis, and bone loss associated with other skeletal disorders. In clinical trials performed in postmenopausal women with low BMD, denosumab increased BMD and suppressed bone resorption in a rapid, sustained and reversible manner. In women with postmenopausal osteoporosis, denosumab 60 mg subcutaneously given every 6 months reduced the risk of vertebral, hip and nonvertebral fractures compared with placebo. Compared with alendronate, denosumab

provides a greater increase in BMD and greater decrease in bone turnover markers. Patients switching from alendronate to denosumab increase BMD more than those continuing alendronate [31]. There are, however, no head-to-head fracture end point comparison studies.

General pathways involved in bone homeostasis & main genetic factors

The recognition that several aspects of bone homeostasis are largely determined by genetic factors has led to an intensive search for specific genes associated with these quantitative and qualitative characteristics of bone and OF risk. In each case the first steps were to identify and verify a relationship between a gene and BMD [32]. Currently, many candidate genes have been investigated as valuable tools for their association with BMD and OF risk. However, the excitement surrounding early studies of allelic variation have often continued into controversy owing to the failure of independent replication, possibly owing to insufficient statistical power and false-positive results [33,34]. Genes involved in common pathways have been described as being related to the risk of osteoporosis, risk of hip and vertebral fractures and BMD values. These gene variants could affect homeostasis and bone structure, and thus measured BMD values.

Given the available studies from different reviews and given the clinical importance of osteoporosis, for this study we choose to be focus on those pathways and genes most studied in relation to BMD and osteoporosis fracture risk.

In this context, one of the active pathways is Wnt signaling that participates strongly in the process of bone formation and resorption, which include transmembrane proteins, and the LRP5 and LRP6 [35]. Other transmembrane proteins, the ITGB3, are vital for the maturation of osteoclasts and thus for bone resorption [36].

The osteoclastogenesis pathway is also involved in the process of bone remodeling, through the activity of OPG, RANK and RANKL [37]. The two latter players in this signaling pathway enhance osteoclast number, survival and activity, while OPG acts as a competitor for binding to the RANKL receptor and thus inhibiting their activities [37,38].

Likewise, the active metabolite of vitamin D ($1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$) plays a fundamental role in bone metabolism by its binding to its receptor, the VDR. It regulates calcium homeostasis through the binding and nuclear translocation of the $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ to regulate bone turnover and increase gut calcium absorption [39].



Collagen is an important component of the body's structural proteins. COL1A1 is the largest and most abundant constituent of all bone tissue proteins, and mutations in its structure or regulation are associated with osteoporosis [40].

Synthesis of estrogens is essential for the acquisition and maintenance of bone mass, predominantly in women [41]. The physiological functions of estrogens are performed when they bind to the α - and β -receptors (ESR- α , ESR- β), the final biological impact being expressed in both osteoblasts and osteoclasts [42].

Finally, FDPS, which is a key enzyme in the mevalonate pathway, has been demonstrated to be involved in the regulation of mechanisms by which bisphosphonates induce apoptosis of osteoclasts [43].

A summary of each of the genes with their respective signaling pathways is detailed in TABLE 1.

SNPs in potential candidate genes and genome-wide association studies related with osteoporosis, BMD & osteoporotic fractures

The search for and discovery of genes that are involved in the regulation of a clinical trait is mainly based on linkage or association, or both. Linkage analysis tracks the inheritance of a trait and identifies chromosomal regions that deviate from independent segregation with that trait. As previously described, association analysis determines whether the genetic make-up in those with and without the trait is different and seeks to identify specific DNA loci (or gene variants) that are responsible for the difference [44]. Linkage and association analysis use two major approaches for their gene search: GWAS and the screening of candidate genes [45].

The search for candidate genes is based on prior knowledge of the potential function of genes involved in metabolic pathways, including the biochemistry, pharmacology and physiology of bone formation and resorption. On the other hand, through genome-wide scanning, a set of

markers on a genome map have been selected on the basis of utility without any *a priori* hypothesis (so-called hypothesis-free research) for analysis of association with a phenotype [46,47].

Moreover, recent reviews regarding genetic susceptibility to osteoporosis have compiled many candidate genes, which have been identified through studies of rare bone diseases, or through modern technologies such as developing GWAS [48,49]. However, even these GWAS-identified loci require functional validation by replication studies and expression profiling relevant to skeletal biology systems [50].

Even though most genes of osteoporosis and their variants remain to be discovered, data on those genetic alterations that have already been demonstrated to have a clinical impact should be available for physicians. In this regard, while performing this study, the need for consensus in different pharmacogenetic aspects has become obvious. The current lack of consistency in SNP nomenclature necessitates a set of harmonization rules, accredited laboratories and guidelines from pharmacogenetic reference committees that would ideally provide global requirements for the validation of functional diagnostic SNPs affecting osteoporosis.

Current high-throughput methodologies such as GWAS have been performed on osteoporosis patients for finding and identifying the most important and common gene variants associated with osteoporosis and fracture risk [51-53]. Most of the SNPs associated with this disorder have been demonstrated via significant p-values in different studies [54] and different populations, and most of the common important SNPs found have been objects of careful analysis, and have been included in this article (see later and TABLE 1). In the near future, it is hoped that these results could be expanded to other genes and pathways (with further replication cohorts), along with a further examination of many SNPs potentially associated with BMD/osteoporosis, identified with statistical p-values just below

Table 1. Pathways and some of the candidate genes involved in osteoporosis and osteoporosis fracture.

Name of pathway	Putative candidate genes
Osteoclastogenesis	OPG, RANK, RANK-L
Wnt signaling	LRP5, LRP6, ITGB3, ALOX-15
Vitamin D	VDR
Estrogen	ESR- α , ESR- β
Collagen	COL1A1
Mevalonate	FDPS
Homeostasis calcium-phosphorus	CaSR

the cutoff values required for significance at the genome-wide level [55]. However, this powerful approach is not readily translated into routine hospital care, as it is used primarily for hypothesis testing rather than diagnosis and, in any case, the required skills and tools are not widely available. Nevertheless, these studies provide valuable data for approaching specific significant genotyping in osteoporosis and OF. The present work highlights some of the possible candidate genes belonging to specific pathways and their polymorphisms that have been already associated with genetic osteoporosis variability, BMD and/or osteoporosis fractures.

Thus, in the osteoclastogenesis pathway, a population study performed on 5861 men and women from Iceland, Denmark and Australia, identified SNPs linked to the values of BMD at the hip and spine level. SNPs in the genes for *OPG*, *RANK* and *RANK-L* were all associated with a variation of hip and spine BMD [56]. Furthermore, in a recent meta-analysis, a GWAS of 150 genes confirmed that three of these genes, *OPG*, *RANK*, *RANK-L*, reside in the same biological pathway, which influences bone resorption [57]. In another GWAS where a total of 2653 males from eight European countries were genotyped, genetics variants in the *OPG*–*RANK*–*RANK-L* signaling pathway influenced variation in bone turnover and BMD [58].

A GWAS conducted on 2074 women in the UK concluded that the SNP rs4755801 (4887 +3491G>A) of the gene for *OPG*, that is, harboring allele A, is significantly associated with BMD measurement and predisposes individuals to osteoporosis and osteoporotic fracture such as HF [53]. In another similar case–control study in patients with osteoporosis, BMD at the femoral neck area and total hip was lower in individuals with the allelic variant G of SNP rs3102735 (A163G) of *OPG* [59]. Moreover, other authors observed a significant association of this SNP with HF and wrist fracture in postmenopausal Caucasian women [60]. Another study performed in 136 Slovenian postmenopausal women, the aim of which was to find SNPs in the *OPG* gene and their possible association with BMD, the authors detected that a particular genotype, GG, in the SNP rs2073618 (G1181C) had significantly lower lumbar spine BMD than subjects displaying G1181C [61]. A separate study assessed previous results, whose minor C allele frequency in the same SNP rs2073618 was associated with higher levels of both N-terminal P1NP and CTX-1 and lower lumbar spine BMD [58].

In two GWAS performed in women of European background the SNP rs3018362 of the *RANK* gene was significantly associated with BMD in the hip area [56,62].

A study of 404 non-osteoporotic and osteoporotic postmenopausal Caucasian women, the SNP rs9533155 (G693C) of the *RANK-L* gene was associated with BMD of the femoral neck [63]. In a GWAS, as listed above, the SNP rs9594759 in *RANK-L* was significantly associated with lumbar BMD [56]. Also, in the study listed previously where 2653 men from eight European countries were genotyped, the minor allele of SNP rs9594759 (C) *RANK-L* was associated with lower P1NP, CTX-1 and BMD values [58].

In other studies of postmenopausal women, the SNP rs9525641 (C290T) in *RANK-L* was a risk factor for the susceptibility of postmenopausal osteoporosis at the femoral neck [64]. Other authors have also reported that the combination and expression alteration caused by variation on *OPG*, *RANK* and *RANK-L* genes could provoke gene–gene interactions that also influence BMD [65,66].

All these interesting results would be benefited and complemented by very new expression approaches linked to the existing SNPs that could increase the overall functional impact on BMD and fractures, similar to those recently described [50,67].

In the case of the Wnt/ β -catenin pathway, several SNPs have been associated with variations in hip BMD [68]. In particular, in a randomized double-blind study in Caucasian men with osteoporosis the SNP rs3736228 (C3824T) of the gene *LRP5* was significantly associated with BMD in all of the areas within the proximal femur (i.e., femoral neck, total hip and trochanter) [69]. Similarly, in a study in young men not involved in any regular physical activity, individuals with the AA genotype of SNP rs4988321 (G1999A/C) had lower hip BMD [70]. In a prospective multicenter study in Europe and North America, among 37,534 individuals with prevalent fractures, lower femoral neck BMD and higher fracture risk was apparent in those with both alleles encoding Met667 and Val1330 of SNPs rs4988321 (G1999A/C) and rs3736228 (C3824T), respectively. Thus, this *LRP5* haplotype could be associated with HF in Caucasian [71].

In relation to the *LRP6* gene, in a study of 10,275 Dutch men and women, aged over 55 years, the SNP rs2302685 (G3184A) was associated with bone parameters of width and

height of the hip, and also with the risk of osteoporotic HF and vertebral fractures [72]. However, in another study no association of the polymorphism in *LRP6* was found for any osteoporosis phenotype [71].

In the case of integrins (e.g., *ITGB3*), in a study lasting 25 years of monitoring Danish men and women for HF risk, those homozygous for the SNP rs5918 (T176C) had double the risk of HF, mainly confined to postmenopausal women [73].

In other pathways, the *ALOX-15* gene, in women with the TT genotype of SNP rs7220870 (G48924T) in a longitudinal cohort study conducted in 9704 individuals from a white American population, had a higher rate of HF. Also, this SNP was associated with BMD change and the risk of other OF as well as HF [74]. However, a study in postmenopausal women from northeast London, UK, found no SNPs in *ALOX-15* to be significantly associated with the phenotype of BMD or fractures [75].

Currently, the pathway of vitamin D, is an important and very well studied pathway affecting bone and calcium homeostasis. It involves the *VDR* gene, which was the first gene candidate studied at molecular genetic association level [32]. Morrison *et al.* observed that the SNPs of the *VDR* gene, *BsmI* rs1544410 (G1024+283A), *TaqI* rs731236 (T1055C) and *FokI* rs10735810 (T2C), were associated with variability in BMD of the femoral neck and trochanter in individuals. Also, in a study conducted in premenopausal women, postmenopausal women with or without osteoporosis and elderly men, all of them Caucasians, there was a significant relationship with *VDR* SNPs rs11568820, *Cdx2* (G1739A), and the magnitude of BMD of femoral neck and total hip [65]. In addition, this same study found that in older men there was a significant association between *FokI* rs10735810 SNP and the measurement of femoral neck BMD, and in the case of postmenopausal women, there was a significant relationship between femoral neck BMD and both SNPs (*Cdx2* rs11568820, *FokI* rs10735810). Similarly, in postmenopausal women, there was a significant association of the *BsmI* SNP rs1544410 with the measurement of femoral neck BMD together with the SNP rs11568820 *Cdx2*. Furthermore, in a prospective study in 589 postmenopausal women, the *BsmI* SNP rs1544410 was associated with increased risk of HF independent of BMD, bone turnover markers, hormone levels and age [76]. However, this suggested that the mechanisms by which *VDR* genotypes might influence bone strength

are unclear. On the other hand, a multicenter study, GENOMOS, did not find any association between the *BsmI* rs1544410, *TaqI* rs731236 and *FokI* rs10735810 SNPs, and BMD or fractures. However, these authors reported an association between *Cdx2* rs11568820 and risk of vertebral fractures [77]. In the same way, a meta-analysis evaluated the genetics effect of the *BsmI* and *TaqI* polymorphism on fracture risk in 13 studies (1632 fracture cases and 5323 controls). The researchers did not find evidence of any relationship between these polymorphisms and fracture risk with any genetic model [78]. In other work conducted in 677 postmenopausal Caucasian women, individuals with the CC genotype of the *TaqI* SNP rs731236 (T1055C) had an increased risk of HF, independent of BMD and age [79]. Conversely, it is worth noting recent studies on the association between *VDR* polymorphisms and other risk factors in fracture such as falls, balance and muscle power without direct effect on BMD or fracture. For example, in one of the studies carried out in two separate Scottish population cohorts in postmenopausal women, the authors investigated the association between *VDR* polymorphisms (*BsmI*, *TaqI*, *FokI*, *Cdx2* and *Apal*) and reported falls. They found an association for *BsmI* SNP with falls, balance and muscle power measurements in both cohorts, specifically carriers of the A allele [80]. In addition, in another similar study of *VDR* polymorphisms (*BsmI* and *FokI*) and falls in a group of older Italian adults 80 years or more, the GG genotype of the *BsmI* gene was associated with a reduced rate of falls compared with AA genotype, whereas no effect on falls was shown for *FokI* polymorphisms [81].

In the pathway of estrogens, in a meta-analysis of work conducted in eight European clinical centers, *ESR- α* was involved in susceptibility to fracture risk and the *XbaI* SNP rs9340799 (C351G) contributed to fracture risk by mechanisms independent of BMD. This is despite BMD being a plausible biological mediator of the clinical effect for the polymorphisms involved in the estrogen pathway [82]. The authors also suggested that these effects could be mediated through effects on bone quality, geometry, turnover or other nonskeletal risk factors for fracture, such as muscle strength.

In a multicenter study on 641 premenopausal Caucasian women (aged 20–50 years), those with *PvuII* SNP rs2234693 (T397C) in the *ESR- α* gene were more likely to report a family history of HF. Also the AA and AG genotype *AluI* SNP rs4986938 (G1730A) in the *ESR- β* gene were strongly associated with this specific

type of fracture. It was also realized that those patients aged between 41 and 50 years with the AA genotype of the *AluI* SNP rs4986938 (G1730A) in the *ESR-β* gene had a low bone density compared with the alternate homozygote, GG [83]. However, in a cohort study conducted in postmenopausal white women, no relationship was identified between the *PvuII* SNP rs2234693 and *XbaI* SNP rs9340799 with hip BMD or risk of HF [74]. On the other hand, the effect of different polymorphic sites in the same gene were evaluated in a Italian population based study with respect to the three *ESR-α* gene polymorphisms combined (intron 1: *PvuII* and *XbaI*; exon 1: TA dinucleotide repeat polymorphisms 5' upstream) in 610 Italian postmenopausal women [84]. Becherini *et al.* observed strong linkage disequilibrium between intron-1 polymorphic sites and the microsatellite (TA)_n dinucleotide SNPs, with a high degree of coincidence of the short TA allele and the presence of *PvuII* and *XbaI* restriction site. They do not find any significant relationship between variability in intron-1 and BMD, but observed a correlation between (TA)_n repeat allelic variants and lumbar BMD, where patients with a low number of repeats (TA <15) showed the lowest BMD values. They concluded that the (TA)_n dinucleotide repeat polymorphism at the 5' end of the *ESR-α* gene could account for part of the heritable component of BMD; however, no conclusive results were found in relation to fracture risk. A very similar study in a Danish population performed in 190 patients with vertebral fracture and 184 control patients found modest contribution of TA polymorphisms to the reduction of BMD and increased risk of OF [85]. Moreover, *PvuII*, *XbaI*, *BstUI* and TA repeat polymorphisms seems to be in linkage disequilibrium in both results studies [84,85].

Finally, in the collagen-1 pathway, the *COL1A1* *SpI* SNP, rs1800012 (G2046T) (referred to by Mann *et al.* authors as +G1245T) has been reported to be related with low BMD and the risk of HF. In a recent meta-analysis study there was a significant decrease in BMD values in patients with GT genotype and especially in those individuals homozygous for TT [86]. Similarly, another study found that those postmenopausal women with a homozygous TT genotype of the SNP, had increased risk of HF independent of BMD and age [79]. In the GENOMOS multicenter study, the *SpI* rs1800012 SNP was associated with femoral neck BMD with a recessive mode of inheritance [87]. In this regard, another case-control

study in 462 Caucasian osteoporotic patients investigated the effect of the polymorphisms of collagen-1 and their haplotypes on the risk of osteoporotic vertebral fracture, BMD and biochemical markers of bone turnover. They found that the rs1800012 (G2046T) and rs24122298 (1663indelT) SNPs were in almost complete linkage disequilibrium. The T allele of the *SpI* rs1800012 (G2046T) and rs24122298 (1663indelT) SNPs were associated with lower lumbar spine BMD, whereas the T allele of the rs1107946 (G296T) SNP (referred to by Husted *et al.* as -1997 G/T) was associated with a minor effect on BMD, but increased the risk of vertebral fracture [88]. Moreover, in a large population-based cohort of an elderly Caucasian study, an increased risk of fragility fracture and lower BMD was observed in female carriers of the T allele in the *SpI* SNP. However, they did not find influence on fracture or BMD in postmenopausal women associated with the rs1107946 (G296T) polymorphism by itself, though power limitations cannot be excluded [89].

In summary, the results compiled for each pathway remain conflicting, possibly owing to the complexity of the osteoporosis phenotype itself, added to by limitations in the molecular tools available. These problems should be approached and resolved by common effort for developing and improving screening, risk assessment, diagnosis and treatment initiation [90]. In this sense, an important contribution would be the complementary use of validated genetic testing in clinical practice [91], specifically in pharmacogenetic analyses, which has been described in a recent compilation of genetic techniques [92].

Pharmacogenetics of the antiresorptive treatments for osteoporosis

Patient characteristics, presumably including genetic factors, determine individual responses for each specific drug [93].

Understanding the effects of such genetic factors not only offers the possibility of recognizing individuals that risk suffering an OF, but may also influence choice of antiosteoporotic drugs, whose clinical impact is measured by effects on BMD and markers of bone turnover.

Although, there is clear evidence of genetic influence on the variation in the efficacy and safety of treatment with pharmacological agents, there have been few conclusive data related to the pharmacogenetics of osteoporosis and OF,

and indeed, it is only recently that research on the genetics of osteoporosis has started in full swing [94].

The therapeutic breakthroughs that have emerged for treatment of osteoporosis may improve the quality and quantity of bone amongst a range of pharmacological alternatives (e.g., bisphosphonates, raloxifene, strontium ranelate, teriparatide and parathyroid hormone, among others), all of which are used for prevention of OF [95].

All these drugs have been shown to reduce the risk of OF to a greater or lesser extent, along with concomitant increases in bone density and decreases in high bone turnover [96]. In addition, clinical guidelines have recommended the use of bisphosphonates for both primary and secondary prevention of OF [206,207]. Moreover, it should be noted that all drugs used for osteoporosis have potential for adverse reactions that lead to concerns regarding their long-term use [22]. Bisphosphonates are predominantly used, because they are very effective drugs and particularly because of their falling cost with the availability of generic versions, clinical practice guidelines present them as priority drugs for the treatment of osteoporosis and/or prevention of fracture [206,207].

In many clinical trials, the relative risk reduction of fracture incidence is approximately 50%, showing a high variability in individual response to treatment [93]. In terms of BMD, even in well observed randomized controlled trials, it is estimated that 10% of patients do not respond as expected to antiosteoporotic therapy [97]. Thus, the efficacy and safety of bisphosphonates varies between individuals, with 5–10% being non-responders and a small but significant proportion suffering clinical adverse events [98].

However, bisphosphonates are associated with adverse effects, including the arise of osteonecrosis of the jaw (ONJ). This has been reported most commonly in patients with bone metastases, its use is recommended in these patients owing to their high risk of bone pain and fractures [99]. In these cases, bisphosphonates are administered intravenously and usually at short intervals of weeks, rather than the annual dosing in osteoporosis, and often over years. The risk appears to be related to the overall dose of bisphosphonates used, but has also been associated with genetic polymorphisms. In one GWAS carried out in 2 groups of patients with multiple myeloma (22 with ONJ and 65 without), all receiving bisphosphonates over 2 years [100], researchers found that one SNP out of four in

CYP2C8 rs1934951, was associated with a risk of ONJ. Individuals homozygous for the T allele had increased likelihood of developing ONJ. This adverse reaction has also been linked to polymorphisms of *CYP3A* [208].

With regards to drug efficacy, several studies have examined the association of specific polymorphism with response to drug treatment of osteoporosis. Within the family of bisphosphonates, alendronate (ALN) has demonstrated efficacy in reducing bone resorption and reducing the risk of fragility fractures in postmenopausal women. Despite the overall effectiveness of ALN, there have been few studies evaluating the relationship between polymorphisms and response to this drug. One such study that was performed in osteoporotic postmenopausal women treated with ALN for 12 months, there was an association between *VDR* gene *BsmI* SNPs and response to ALN, change from baseline in lumbar BMD being higher in GG than in AA *BsmI VDR* genotype [101]. In another similar study [102], the *BsmI* genotype was associated with effectiveness of ALN treatment, alone or in combination with other antiosteoporotics. For example, treatment with ALN and raloxifene led to a more marked improvement in BMD and bone turnover markers in patients with the homozygote GG or AA *VDR* genotypes. In heterozygous AG and homozygous GG patients, the combination of ALN with HRT and the association of raloxifene plus ALN had a stronger effect on BMD compared with either HRT or raloxifene treatment alone, but no more effectively than ALN alone.

Another of the few genetic studies on the effectiveness of ALN analyzed the relationship between the *ESR-β* gene *RsaI* SNPs and treatment response of ALN in postmenopausal Caucasian women with osteoporosis. This group found no relationship between this SNP and changes of BMD or bone markers in response to ALN [103].

Another bisphosphonate, etidronate, has also been studied in relation to the *VDR* gene [104]. In these study 24 late osteoporosis postmenopausal women were evaluated during 1 year of treatment with etidronate and calcium supplementation. Lumbar spine BMD increased at a significantly faster rate in the AA and AG group compared with the GG group, and a significantly higher decrease in osteocalcin level was observed in the GG group as compared with AA subjects.

In the case of resorptive HRT, a US study assessed whether genotypes of *VDR* and *ER*, and their interaction, influenced changes in

bone mass in 108 European Caucasian postmenopausal women with and without HRT over 3 years [105]. In that study, the *VDR BsmI* AA genotype was associated with larger spinal BMD increases using low HTR dose, whereas GG genotype was associated with larger BMD decrease in the placebo group. On the contrary, in a prospective randomized study of 429 healthy early postmenopausal Danish women with and without HRT over 5 years, no association was found between the BMD or change in BMD and either polymorphism studied (*BsmI* and *FokI*) [106].

Despite the contribution from these studies, it would appear logical to evaluate the efficacy of bisphosphonates at the genetic level in relation to their molecular mechanism of action. As discussed earlier, the nonamino-bisphosphonates are metabolized to ATP analogs and are accumulated in the cytosol of osteoclasts inducing cell death, while the amino-bisphosphonates inhibited prenylation of small GTPases that are essentials for osteoclast activity and survival (inhibiting enzymatic activity in the intracellular mevalonate) [107]. The effects of amino-bisphosphonates on the mevalonate pathway can explain not only their molecular mechanism of action, but also the different potency of the various amino-bisphosphonate compounds. However, the role that the target enzymes of the mevalonate pathway play in the variability of the response to therapy with amino-bisphosphonates remains to be determined [108].

An example of this was reflected in a recent study in postmenopausal women, which evaluated the association between the SNP rs2297480 (A99C) in the *FDPS* gene (a key enzyme of the mevalonate pathway) and response after 2 years of treatment with bisphosphonates (ALN, oral and intravenous ibandronate). In that study, patients with CC genotype had a significantly poorer BMD response than the heterozygote or alternate homozygote [109].

Although these studies are preliminary, they strongly support the concept of pharmacogenetics as a powerful complement to studies of existing and novel drugs. These studies are a rich area for investigating truly relevant pharmacogenetic applications focused on bone-active metabolic pathways.

Molecular biology tools for 'in-house' routine genotyping of SNPs related to risk fracture & BMD

As noted earlier, a large number of genes have been investigated as possible markers for

osteoporosis and fracture risk. However, there are no conclusive results to determine which are linked specifically to clinically relevant genetic variations. Also, the information available is not well harmonized, in terms of genetic nomenclature, such that this information is of low practical applicability for translational research, specifically in a hospital environment.

We have reviewed and screened the available information (see earlier) in order to describe in-house common genotyping tools that summarize some choices for analyzing specific SNPs that have been previously related with fractures and BMD. TABLE 2 shows pathways, gene locus, code SNPs, gene/near gene, SNP locus, amino acid position, forward primer, reverse primer, applied technique, restriction enzyme, sequencing and a respective source of reference ID assays for TaqMan® (Applied Biosystems, CA, USA) genotyping for each polymorphism. We consider that this resource could simplify their use in clinical research. Also, we have summarized the SNP determination methodology that could be used as the routine tool of clinical research (PCR-RFLP, PCR-Sequencing and commercial allelic discrimination determination).

Thus, TABLE 2 shows selected genes and SNPs from analyzed studies, representative of more common pharmacogenetic assays performed during the past 10 years. Given continuing controversy regarding the results of investigations into the genetics of osteoporosis [49] the main intention is to harmonize the existing data and to facilitate genotyping as part of translational clinical research, specifically for osteoporosis. Considerable work remains to be done in selecting the SNP according to the specific association being examined with respect to specific clinical issues. However, being aware of these advances will allow the more rapid implementation of new clinical genetic information in osteoporosis.

Pharmacogenetics has evolved according to the methodology available (allele specific amplification, PCR-RFLP, LightCycler® [Roche, Basel, Switzerland], Pyrosequencing [Biotage, Uppsala, Sweden], high-resolution melting curve analysis and microarrays techniques) [110]. There have been major technological changes from methods using unique SNP analysis of candidate genes to genome-wide analysis. However, the question remains as to how to optimise their use through study design. Moreover, the identification of a clinically relevant genetic variation in one single gene opens the way to examination of genes involved in linked pathways.

Table 2. Polymorphisms (SNPs) associated with putative candidates genes for BMD and osteoporotic fracture.

Pathway/ gene	Locus	SNP description			Molecular biology tool				Ref.			
		SNP ID	Gene/ near gene	SNP locus	AA position change	Forward primer 5'-3'	Reverse primer 5'-3'	Method		RE	Assay ID*	
OST	8q24	rs2073618	OPG	G1181C	Asn3lys	ACTTCCTGTTGCCGG GACGCTA	ACTTCCTGTTGCCGG ACGCTA	PCR/ RFLP	SmlI	C_1971047_1	[59]	
	8q24	rs4355801	OPG	-	NA	ACATTTCAGGGGTTA TACTTGAC	CTGACTCTCTGACCT CCAC	PCR/Sq RFLP	AseI	C_8716062_10 C_1971046_10	TS [59]	
	8q24	rs3102735	OPG	A163G	NA	CCATCAICAAAGGG CTATTGGT	CTGGAGACATATAACT TGAACA	PCR/Sq		C_15763310_10	TS	
	18q21	rs3018362	RANK	A>G	NA	GCTGAGGTGGGCTT GTATGTAGC	GGAGTCTAGGATGCTG AGGCAGC	PCR/ RFLP	BsaI	Not available	[64]	
	13q14	rs9533155	RANK-L	G693C	NA	GAGTCCAAAGAT GGGTTA	GAAGAGTCAAAGAC TACAAGGACTA	PCR/ RFLP	MseI	C_30171941_10	[64]	
	13q14	rs9525641	RANK-L	C290T	NA	GAGTCCAAAGAT GGGTTA	GAAGAGTCAAAGAC TACAAGGACTA	PCR/ RFLP	MseI	C_30171941_10	[64]	
	13q14	rs9594759	RANK-L	-	NA	CCAGGCAAT TCAAA TACAT	GTGAGCAACCCGACC TTTC	PCR/Sq		C_444591336_10	[68]	
	Wnt	11q12-13	rs3736228	LRP-5	C3824T	Ala1330Val	GGGTCAAGTGTGTGGA CCTG	GATGGTGGAACTGC AGAGT	PCR/ RFLP	EclI	C_25752205_10	[11]
		11q12-13	rs4988321	LRP-5	G1999A/C	Val1667 Leu/Me	GGTGAAGTCTGAGCT CGGCACC	GTCTGAAGCCTTTGAG GCAGG	PCR/Sq		Not available	[69]
		12q13.2	rs2302685	LRP-6	G3184A	Val11062Ile	GCTGAGTGGGCTTIG TATGTAGC	CCGCTACATCTACTGGA CTTTGAG	PCR/Sq RFLP	MspI	C_15757990_10 C_818008_30	TS [112]
17q21.32		rs5918	ITGB-3	T176C	Leu33Pro	TTCGTATTCTGGACTT CTCTT	CTCTCCCAACGGCAAG AGT	PCR/ RFLP		Not available	TS	
17p13.2		rs7220870	ALOX-15	G48924T	NA	CGGTGTCCTGGCGAGA GCAGGGAG	CCGTGATACACACGTGC ATAACTC	PCR/Sq		Not available	TS	
Vitamin D	12q13	rs1544410	VDR	G1024+283A	NA	GGCAACCTGAAGGGA GACGTA	CTCTTTGGACCTCATCAC CGAC	PCR/ RFLP	BsmI	C_8716062_10	[65,113]	
	12q13	rs7975232	VDR	A1025-49G	NA	CAGAGCATGGACAGG GAGCAAG	GCAACTCCTATGGCTG AGGTCTCA	PCR/ RFLP	ApaI	C_28977635_10	[114]	
	12q13	rs11568820	VDR	G1270A- G1739A	NA	CTGCAGCCTTGACCTC CTA	AAAGCAAAACCAAGGGG TCTT	PCR/ RFLP	HypCH4II	C_2880808_10	[65]	
	12q13	rs731236	VDR	T1055C	Ile352 Ile/Thr	AGAGCATGGACAGG AGCAAG	GCAACTCCTATGGCTGA GGTCTCA	PCR/ RFLP	TaqI	C_2404008_10	[65,113]	
	12q13	rs10735810*	VDR	T2C	Met1Thr	GCTGGCCCTGGCACTG ACTCTGTCT	ATGGAAACACCTTGTCTC TTCTCCCTC	PCR/ RFLP	FokI	Not available	[116]	

* Commercial assay
 † Merged into rs2228570
 ‡ FauI can also be used.
 AA: Amino acid. NA: Not available. OST: Osteoclastogenesis. RE: Restriction enzyme. Sq: Sequencing. TS: This study.
 The nomenclature is according to official HUGO Gene Nomenclature Committee [20].

Table 2. Polymorphisms (SNPs) associated with putative candidates genes for BMD and osteoporotic fracture (cont.).

Pathway/ gene	Locus	SNP description		AA position change	Molecular biology tool			Ref.	
		SNP ID	Gene/ near gene		SNP locus	Forward primer 5'-3'	Reverse primer 5'-3'		Method RE
Estrogen	6q25	rs2234693	ESR- α	T397C	GGTTTATGTGGCAATG ACG	GTTGCAGCAAAAGGTGT TGC	PCR/ RFLP	PvuII	C_3163590_10 [117]
	6q25	rs9340799	ESR- α	C351G	GGTTTATGTGGCAATG ACG	GTTGCAGCAAAAGGTGT TGC	PCR/ RFLP	XbaI	C_3163591_10 [117]
	14q23	rs4986938	ESR- β	G1730A	GCTGGAGATGCTGAAT GCCACGTGCTT	TCCTGACACACTGGAGTT CACGCTTCAGC	PCR/ RFLP	AclI	C_11462726_10 [117]
Collagen	17q21	rs1800012	COL1A1	G2046	TAACTTCTGGACTATTT GCGGACTTTGG	GTCGAGCCCTATCCTGGCC RFLP	PCR/ RFLP	Spl	C_7477170_30 [118]
	17q21	rs1107946	COL1A1	G296T	CACCCTGCCCTAGAC CAC	GAAAATATAGAGTTTC CAGAG	PCR/ RFLP	Eco31I	C_7477171_10 [119]
Mevalonate	1q22	rs2297480	FDPS	A99C	ACAGATCTCAACCAGC GGG	TGATTAGTTGGGTCTCAG TCACC	PCR/ RFLP	SmaI ^h	C_2737970_10 [109]

*Commercial assay.
^hMerged into rs2228570.
^hFaui can also be used.
 AA, Amino acid; NA, Not available; OST, Osteoclastogenesis; RE, Restriction enzyme; S4, Sequencing; TS, This study.
 The nomenclature is according to official HUGO Gene Nomenclature Committee [20].

As the studies progress, it will be important to recognize and adjust for the effect and contribution of ethnicity, environmental factors, diet, sunlight exposure, comedication, clinical status, clinical data availability and lifestyle. Over the next few years, complex diseases such as osteoporosis will be treated with new therapies, and improved understanding of genetic variations that effect response to treatment and/or risk of side effects will force diagnostic companies to develop new tests that allow for the tailoring of a patient's treatment.

Conclusion

Progress in analyzing the human genome in combination with bioinformatic and technological advances have enabled better opportunities for understanding complex diseases with genetic determinants such as osteoporosis its fracture consequences. The successful identification of putative genes associated with fracture risk, variability and its pharmacogenetics must be approached in large studies combining relevant data from individual clinical data collections. Most of the larger studies have been made with genome-wide association data; however, it will be expected that practical large-scale studies should be replicated and validated in patients across different populations, in order to discover those genes that really contribute significantly to interindividual clinical variation of fracture phenotypes and of treatment responses.

Currently, despite most previous genetic osteoporosis studies having been focussed on SNPs analyses, there has been little or no harmonization of nomenclature. Hence, this article selectively summarizes emergent information that could be applied both now and as a model for future reporting of genetic information from fracture risk studies.

There are intrinsic difficulties in evaluating the impact of human genetic variability and linking this information to physiological mechanisms and to clinically significant effects. There are concerns as to whether there are real associations within different populations, which highlights the need for replication and confirmation data in large datasets, including different ethnicities. In this regard, genetic data determination as part of routine direct hospital testing could be a strategic key point for success in this complex task. The present work highlights not only the important contribution of high-throughput methodology such as microarray platforms, but the routine techniques available for all molecular biology research and clinical laboratories, which manage large numbers of patient samples and hence can contribute towards obtaining valuable genetic

and pharmacogenetic data for replication and their clinical interpretation and reproducibility in large-scale international studies.

At this time, the clinical challenge is to assess the validity and functionality of various SNPs with respect to osteoporosis risk. Clarification of these data are essential for convincing pharmaceutical and biotechnology companies to join with the development of commercial tests suitable for routine diagnosis in pharmacogenomics.

When this point is reached, the pharmacogenetic diagnostic information could help to reduce costs associated with outsourcing of laboratory services and, consequently, encourage hospitals that have adequate basic infrastructure to carry out their own pharmacogenetic analysis for better complementary drug monitoring assessment and contribute to better clinical outcomes in osteoporosis.

Future perspective

The main objective of pharmacogenetic research is to achieve confidence in the use of genetic tools for optimally selecting drugs for an individual and adjusting dose. This aim is currently hampered by limitations of global research. Well organized and controlled clinical trials are needed to demonstrate that pharmacogenetic interventions could really improve the pharmacotherapy. These clinical trials are developed under restricted hospital supervision, and thus the expansion of resources for pharmacogenetic tools would be a significant and contributive step towards patient benefit.

With the information compiled in this article, it would be possible to more easily use genotype–phenotype analyses to expand the

data relating SNPs, in a wide range of relevant genes, to osteoporosis phenotypes including drug responses, in order to maximize the health and welfare of patients with osteoporosis and fracture risk. The genotyping of osteoporosis patients can be performed with basic molecular biology tools, and once specific genotype–phenotype associations are established or confirmed, these could be a very useful tool optimal treatments in every subject, avoiding suboptimal long-term treatment responses and/or adverse events.

The immediate challenge is to apply this methodology to completely ascertain and determine the extent to which these pathways or gene variants are present in our Caucasian population suffering OF versus a healthy control population and assess the degree of association that exists, as well as the extent to which they may influence therapeutic responses.

Acknowledgements

The authors are grateful to the medical and nursing staff of the Traumatology, Rheumatology, Nuclear Medicine and Pharmacy Service of Virgen de las Nieves University Hospital, Granada, Spain for their cooperation and support.

Financial & competing interests disclosure

The authors have no relevant affiliations or financial involvement with any organization or entity with a financial interest in or financial conflict with the subject matter or materials discussed in the manuscript. This includes employment, consultancies, honoraria, stock ownership or options, expert testimony, grants or patents received or pending, or royalties.

No writing assistance was utilized in the production of this manuscript.

Executive summary

- General inter-relation of pharmacogenetics knowledge and analyses of the risk fracture profiles of different treatments in relation to human genetic variability will lead the way towards personalized osteoporosis follow-up.
- Current knowledge of osteoporosis in genetics and pharmacogenetics has been obtained mainly through genome-wide association studies. However, there still are conflicting results and so there is a need for further functional validation assessment.
- Polymorphisms of *VDR*, *ESR*, *OPG/RANK/RANKL* and *COL1A1* have been identified as the more common markers to study for establishing an association between osteoporosis fracture risk and BMD.
- Harmonization of previous polymorphism nomenclature in important osteoporosis-related pathways will contribute to the facilitation of routine clinical studies for replication of results.
- New putative pharmacogenomics and pharmacogenetic biomarkers related to osteoporosis and its personalized treatment will be in constant evolution owing to the discovery of new genetic data, treatments and management of pathology.

Bibliography

Papers of special note have been highlighted as:

* of interest

** of considerable interest

- 1 NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. *JAMA* 285(6), 785–795 (2001).
- 2 Franzo A, Francescutti C, Simon G: Risk factors correlated with post operative mortality for hip fracture surgery in the elderly: a population-based approach. *Eur. J. Epidemiol.* 20(12), 985–991 (2005).
- 3 Sosa M, Navarro R, Arbelo A: Fractura de cadera: la realidad española. In: *Actualización de osteoporosis*. Diaz Curiel M (Ed.). FHOEMO, Madrid, Spain, 13–22 (2001).
- 4 Kanis JA: Diagnosis of osteoporosis and assessment of fracture risk. *Lancet.* 359(9321), 1929–1936 (2002).
- 5 Nguyen ND, Eisman JA, Center JR, Nguyen TV: Risk factors for fracture in nonosteoporotic men and women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 92(3), 955–962 (2007).

- 6 Delmas PD, Li Z, Cooper C: Relationship between changes in bone mineral density and fracture risk reduction with antiresorptive drugs: some issues with meta-analyses. *J. Bone Miner. Res.* 19(2), 330–327 (2004).
- 7 Nguyen TV, Howard GM, Kelly PJ *et al.*: Bone mass, lean mass, and fat mass: same genes or same environments? *Am. J. Epidemiol.* 147(1), 3–16 (1998).
- 8 Chen Y, Shen H, Yang F *et al.*: Choice of study phenotype in osteoporosis genetic research. *J. Bone Miner. Metab.* 27(2), 121–126 (2009).
- 9 Jiyoung A, Yu K, Stolzenberg-Solomon R *et al.*: Genome-wide association study of circulating vitamin-D levels. *Hum. Mol. Genet.* 19(13), 2739–2745 (2010).
- 10 Li WF, Hou SX, Yu B, Li MM, Férec C, Chen JM: Genetics of osteoporosis: accelerating pace in gene identification and validation. *Hum. Genet.* 127(3), 249–285 (2010).
- 11 Di Francia R, Frigeri F, Berretta M *et al.*: Decision criteria for rational selection of homogeneous genotyping platforms for pharmacogenomics testing in clinical diagnostics. *Clin. Chem. Lab. Med.* 48(4), 447–459 (2010).
- Provides the reader with an overview of the various technologies used for pharmacogenomic testing in a routine clinical laboratory.
- 12 Johnell O, Kanis JA, Oden A *et al.*: Predictive value of BMD for hip and other fractures. *J. Bone Miner. Res.* 20(7), 1185–1194 (2005).
- 13 Nguyen ND, Pongchaiyakul C, Center JR, Eisman JA, Nguyen TV: Identification of high-risk individuals for hip fracture: a 14-year prospective study. *J. Bone Miner. Res.* 20(11), 1921–1928 (2005).
- 14 Spear BB, Heath-Chiozzi M, Huff J: Clinical application of pharmacogenetics. *Trends Mol. Med.* 7(5), 201–204 (2001).
- 15 Cummings SR, Nevitt MC, Browner WS *et al.*: Risk factors for hip fracture in white women. Study of osteoporotic fractures research group. *N. Engl. J. Med.* 332(12), 767–773 (1995).
- 16 Rojo-Venegas K, Aznarte-Padial P, Calleja-Hernández MA *et al.*: Factors of risk in an elderly population: evaluation scales for the prevention of hip fractures. *Rev. Esp. Cir. Traumatol. Ortop.* 54(3), 167–173 (2010).
- 17 Kanis JA, McCloskey EV, Johansson H, Oden A: Approaches to the targeting of treatment for osteoporosis. *Nat. Rev. Rheumatol.* 5(8), 425–431 (2009).
- 18 Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. *Technical Report Series No. 843*, WHO, Geneva, Switzerland, 1–129 (1994).
- 19 Kanis JA, McCloskey EV, Johansson H, Strom O, Borgstrom F, Oden A: National Osteoporosis Guideline Group. Case finding for the management of osteoporosis with FRAX-assessment and intervention thresholds for the UK. *Osteoporos. Int.* 19(10), 1395–1408 (2008).
- 20 Tosteson A, Melton L, Dawson-Hughes B, *et al.*: Cost-effectiveness osteoporosis treatment thresholds: the United States perspective from the National Osteoporosis Foundation Guide Committee. *Osteoporos. Int.* 19(4), 437–447 (2008).
- 21 Nguyen ND, Frost SA, Center JR, Eisman JA, Nguyen TV: Development of prognostic nomograms for individualizing 5-year and 10-year fracture risks. *Osteoporos. Int.* 19(10), 1431–1444 (2008).
- 22 Gates BJ, Sonnett TE, DuVall CAK, Dobbins EK: Review of osteoporosis pharmacotherapy for geriatric patients. *Am. J. Geriatr. Pharmacother.* 7(6), 293–323 (2009).
- 23 Dunford JE, Thompson K, Coxon FP *et al.*: Structure-activity relationships for inhibition of farnesyl diphosphate synthase *in vitro* and inhibition of bone resorption *in vivo* by nitrogen-containing bisphosphonates. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 296(2), 235–242 (2001).
- 24 Matthew D, Clarke B, Khosla S: Bisphosphonates: mechanism of action and role in clinical practice. *Mayo Clin. Proc.* 83(9), 1032–1045 (2008).
- 25 Jensen EV, Jordan VC: The estrogen receptor: a model for molecular medicine. *Clin. Cancer Res.* 9(6), 1980–1989 (2003).
- 26 Yang NN, Venugopalan M, Hardikar S, Glasbrook A: Identification of an estrogen response element activated by metabolites of 17 β -estradiol and raloxifene. *Science* 273(5279), 1222–1225 (1996).
- 27 Sainier D, Burde MA, Rey JM, Maudelonde T, De Vernejoul MC, Cohen-Solal ME: 17 β -estradiol downregulates b5-integrin expression in differentiating and mature human osteoclasts. *J. Cell Physiol.* 198(2), 269–276 (2004).
- 28 Carter PH, Schipani E: The roles of parathyroid hormone and calcitonin in bone remodeling: prospects for novel therapeutics. *Endocr. Metab. Immune Disord. Drug Targets* 6(1), 59–76 (2006).
- 29 Kendler DL: Strontium ranelate-data on vertebral and nonvertebral fracture efficacy and safety: mechanism of action. *Curr. Osteoporos. Rep.* 4(1), 34–39 (2006).
- 30 Bekker PJ, Holloway DL, Rasmussen AS *et al.*: A single-dose placebo controlled study of AMG 162, a fully human monoclonal antibody to RANKL, in postmenopausal women. *J. Bone Miner. Res.* 19(7), 1059–1066 (2004).
- 31 Lewiecki M: Denosumab update. *Curr. Opin Rheumatol.* 21(4), 369–373 (2009).
- Denosumab is a promising therapeutic agent for the management of postmenopausal osteoporosis as it increases BMD more than alendronate.
- 32 Morrison NA, Qi JC, Tokita A *et al.*: Prediction of bone density from vitamin-D receptor alleles. *Nature* 367(6460), 284–287 (1994).
- 33 Huang QY, Recker RR, Deng HW: Searching for osteoporosis genes in the post-genome era: progress and challenges. *Osteoporos. Int.* 14(9), 701–715 (2003).
- 34 Ioannidis JP: Why most published research findings are false? *PLOS Med.* 2(8), 696–701 (2005).
- 35 Tamai K, Semenov M, Kato Y *et al.*: LDL-receptor-related proteins in Wnt signal transduction. *Nature* 407(6803), 530–535 (2000).
- 36 Teitelbaum SL: Osteoclasts, integrins and osteoporosis. *J. Bone Miner. Metab.* 18(6), 344–349 (2000).
- 37 Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR, Lacey DL, Boyle WJ, Riggs L: The roles of osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand in the paracrine regulation of bone resorption. *J. Bone Miner. Res.* 15(1), 2–12 (2000).
- 38 Jones HD, Kong YY, Penninger JM: Role of RANKL and RANK in bone loss and arthritis. *Ann. Rheum. Dis.* 61(2), 32–39 (2002).
- 39 Wesley P, Hironori Y, Nirupama K: Vitamin-D receptor-mediated gene regulation mechanisms and current concepts of vitamin-D analog selectivity. *Adv. Ren. Replace. Ther.* 3(9), 168–174 (2002).
- 40 Byers PH: Brittle bones-fragile molecules: disorders of collagen gene structure and expression. *Trends Genet.* 6(9), 293–300 (1990).
- 41 Ichikawa S, Koller D, Peacock M *et al.*: Polymorphisms in the estrogen receptor β (*ESR2*) gene are associated with bone mineral density in Caucasian men and women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 90(11), 5921–5927 (2005).
- 42 Bord S, Horner A, Beavan S, Compston J: Estrogen receptors α and β are differentially expressed in developing human bone. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86(5), 2309–2314 (2001).
- 43 Bergstrom JD, Bostedor RG, Masarachia PJ, Reszka AA, Rodan G: Alendronate is a specific, nanomolar inhibitor of farnesyl diphosphate synthase. *Arch. Biochem. Biophys.* 373(1), 231–241 (2000).

- 44 Risch N, Merikangas K: The future of genetic studies of complex human diseases. *Science* 273(5281), 1516–1517 (1996).
- 45 Nguyen TV, Blangero J, Eisman JA: Genetic epidemiological approaches to the search for osteoporosis genes. *J. Bone Miner. Res.* 15(3), 392–401 (2000).
- 46 Dekker MC, van Duijn CM: Prospects of genetic epidemiology in the 21st Century. *Eur. J. Epidemiol.* 18(7), 607–616 (2003).
- 47 Rao DC: An overview of the genetic dissection of complex traits. *Adv. Genet.* 60, 3–34 (2008).
- 48 Ralston SH: Genetics of osteoporosis. *Ann. NY Acad. Sci.* 1192(1), 181–189 (2010).
- 49 Ralston SH, Uitterlinden AG: Genetics of osteoporosis. *Endocr. Rev.* doi:10.1210/er.2009-0044 (2010) (Epub ahead of print).
- 50 Hsu YH, Zillikens MC, Wilson SG *et al.*: An integration of genome-wide association study and gene expression profiling to prioritize the discovery of novel susceptibility loci for osteoporosis-related traits. *PLoS Genet.* 6(6), E1000977 (2010).
- ** Efficiency of functional characterization using available expression profiling (relevant to the skeletal system) *in vivo* models to prioritize candidate genes for further functional validation.
- 51 Stykarsdottir U, Halldorsson BV, Gretarsdottir S *et al.*: Multiple genetic loci for bone mineral density and fracture. *N. Engl. J. Med.* 358(22), 2355–2365 (2008).
- 52 Nguyen TV, Center JR, Eisman JA: Pharmacogenetics of osteoporosis and the prospect of individualized prognosis and individualized therapy. *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.* 15(6), 481–488 (2008).
- ** Identification of gene variants associated with response to therapy can eventually help individualize the prognosis, treatment and prevention of fractures and their adverse outcomes.
- 53 Richards JB, Rivadeneira F, Inouye M *et al.*: Bone mineral density, osteoporosis, and osteoporotic fracture: a genome-wide association study. *Lancet* 371(9623), 1505–1512 (2008).
- 54 Rivadeneira F, Stykarsdottir U, Estrada K *et al.*: Genetic factors for osteoporosis (gefos) consortium. Twenty bone-mineral-density loci identified by large-scale meta-analysis of genome-wide association studies. *Nat. Genet.* 41(11), 1199–1206 (2009).
- 55 Ferrari S: Human genetics of osteoporosis. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 22(5), 723–735 (2008).
- 56 Stykarsdottir U, Halldorsson BV, Gretarsdottir S *et al.*: Multiple genetic loci for bone mineral density and fracture. *N. Engl. J. Med.* 358(22), 2355–2365 (2008).
- 57 Richards JB, Kavvoura FK, Rivadeneira F *et al.*: Collaborative meta-analysis: associations of 150 gene with osteoporosis and osteoporosis fractures. *Ann. Intern. Med.* 151(8), 528–537 (2009).
- ** Nine out of 150 candidate genes were associated with regulation of BMD, four of which also significantly affected fracture risk.
- 58 Roshandel D, Holliday K, Pye SR *et al.*: Genetic variation in the *RANKL/RANK/OPG* signaling pathway is associated with bone turnover and bone mineral density in men. *J. Bone Miner. Res.* 25(8), 1830–1838 (2010).
- 59 Langdahl BL, Carstens M, Stenkjaer L, Eriksen EF: Polymorphisms in the osteoprotegerin gene are associated with osteoporotic fractures. *J. Bone Miner. Res.* 17(7), 1245–1255 (2002).
- 60 Jorgensen HL, Kusk P, Madsen B, Fenger M, Lauritzen JB: Serum osteoprotegerin (OPG) and the A163G polymorphism in the *OPG* promoter region are related to peripheral measures of bone mass and fracture odds ratios. *J. Bone Miner. Metab.* 22(2), 132–138 (2004).
- 61 Arko B, Prezelj J, Kocjancic A, Komel R, Marc J: Association of the osteoprotegerin gene polymorphisms with bone mineral density in postmenopausal women. *Maturitas* 51(3), 270–279 (2005).
- 62 Stykarsdottir U, Halldorsson BV, Gretarsdottir S *et al.*: New sequence variants associated with bone mineral density. *Nat. Genet.* 41(1), 15–17 (2009).
- 63 Mencej S, Albagha O, Prezelj J, Kocjan T, Marc J: Tumor necrosis factor superfamily member 11 gene promoter polymorphisms modulate promoter activity and influence bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *J. Mol. Endocrinol.* 40(6), 273–279 (2008).
- 64 Mencej S, Prezelj J, Kocjancic A, Ostanek B, Marc J: Association of *TNFSF11* gene promoter polymorphisms with bone mineral density in postmenopausal women. *Maturitas* 55(3), 219–226 (2006).
- 65 Mencej S, Prezelj J, Kocjancic A *et al.*: The combinations of polymorphisms in vitamin-D receptor, osteoprotegerin and tumor necrosis factor superfamily member 11 genes are associated with bone mineral density. *J. Mol. Endocrinol.* 42(3), 239–247 (2009).
- 66 Zupan J, Mencej-Bedrac S, Jurkovic-Mlakar S, Prezelj J, Marc J: Gene-gene interactions in RANK/RANKL/OPG system influence bone mineral density in postmenopausal women. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 118(1–2), 102–106 (2010).
- ** Gene-gene interactions between *RANK* and *OPG*, and *RANK* and *RANKL* influence BMD in postmenopausal women.
- 67 Chen XD, Xiao P, Lei SF *et al.*: Gene expression profiling in monocytes and SNP association suggest the importance of the *STAT1* gene for osteoporosis in both Chinese and Caucasians. *J. Bone Miner. Res.* 25(2), 339–355 (2010).
- 68 Sims AM, Shephard N, Carter K *et al.*: Genetic analyses in a sample of individuals with high or low BMD shows association with multiple Wnt pathway genes. *J. Bone Miner. Res.* 23(4), 499–506 (2008).
- 69 Kruk M, Ralston SH, Albagha OM: *LRP5* polymorphisms and response to risedronate treatment in osteoporotic men. *Calcif. Tissue Int.* 84(3), 171–179 (2009).
- 70 Brixen K, Beckers S, Peeters A *et al.*: Polymorphisms in the low-density lipoprotein receptor-related protein 5 (*LRP5*) gene are associated with peak bone mass in non-sedentary men: results from the odense androgen study. *Calcif. Tissue Int.* 81(6), 421–429 (2007).
- 71 van Meurs JB, Trikalinos TA, Ralston SH *et al.*: Large-scale analysis of association between *LRP5* and *LRP6* variants and osteoporosis. *JAMA.* 299(11), 1277–1290 (2008).
- 72 van Meurs JB, Rivadeneira F, Jhamai M *et al.*: Common genetic variation of the low-density lipoprotein receptor-related protein 5 and 6 genes determines fracture risk in elderly white men. *J. Bone Miner. Res.* 21(1), 141–150 (2006).
- 73 Tofteng CL, Bach-Mortensen P, Bojesen SE, Tybjaerg-Hansen A, Hyldstrup L, Nordestgaard BG: Integrin β -3 Leu33Pro polymorphism and risk of hip fracture: 25 years follow-up of 9233 adults from the general population. *Pharmacogen. Genomics* 17(1), 85–91 (2007).
- 74 Tranah GJ, Taylor BC, Lui LY *et al.*: Genetic variation in candidate osteoporosis genes, bone mineral density, and fracture risk: the study of osteoporotic fractures. *Calcif. Tissue Int.* 83(3), 155–166 (2008).
- 75 Mullin BH, Spector TD, Curtis CC *et al.*: Polymorphisms in *ALOX12*, but not *ALOX15*, are significantly associated with BMD in postmenopausal women. *Calcif. Tissue Int.* 81(1), 10–17 (2007).
- 76 Gamero P, Muñoz F, Borel O, Sornay-Rendu E, Delmas PD: Vitamin-D receptor gene polymorphisms are associated with the risk of fractures in postmenopausal women, independently of bone mineral density. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 90(8), 4829–4835 (2005).

- 77 Uitterlinden AG, Ralston SH, Brandi ML *et al.*: The association between common vitamin-D receptor gene variations and osteoporosis: a participant-level meta-analysis. *Ann. Intern. Med.* 145(4), 302–304 (2006).
- 78 Fang Y, Rivadeneira F, van Meurs J, Pols HA, Ionnidis J, Uitterlinden A: Vitamin D receptor gene *BsmI* and *TaqI* polymorphisms and fracture risk: a meta-analysis. *Bone* 39(4), 938–945 (2006).
- 79 Nguyen T, Esteban LM, White CP *et al.*: Contribution of the collagen I $\alpha 1$ and vitamin-D receptor genes to the risk of hip fracture in elderly women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 90(12), 6575–6579 (2005).
- 80 Barr R, McDonald H, Stewart A *et al.*: Association between vitamin-D receptor gene polymorphisms, falls, balance and muscle power: results from two independent studies (APOSS and OPUS). *Osteoporos. Int.* 21(3), 457–466 (2010).
- 81 Fekanich D, Hunter D, Willett W *et al.*: Vitamin-D receptor genotype and risk of bone fracture in women. *Epidemiology* 9(5), 535–539 (1998).
- 82 Ioannidis JP, Ralston SH, Bennett ST *et al.*: Differential genetic effects of *ESR1* gene polymorphisms on osteoporosis outcomes. *JAMA* 292(17), 2105–2114 (2004).
- 83 Massart F, Marini F, Bianchi G *et al.*: Age-specific effects of estrogen receptors' polymorphisms on the bone traits in healthy fertile women: the BONTURNO study. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 7(32), 1–7 (2009).
- 84 Becherini L, Gennari L, Masi L *et al.*: Evidence of a linkage disequilibrium between polymorphisms in the human estrogen receptor α gene and their relationship to bone mass variation in postmenopausal Italian women. *Hum. Mol. Genet.* 9(13), 2043–2050 (2000).
- 85 Langdahl BL, Lokke E, Carstens M, Stenkjaer LL, Eriksen EF: A TA repeat polymorphism in the estrogen receptor gene is associated with osteoporotic fracture but polymorphism in the first exon and intron are not. *J. Bone Miner. Res.* 15(11), 2222–2230 (2000).
- 86 Mann V, Ralston SH: Meta-analysis of *COL1A1 Sp1* polymorphism in relation to bone mineral density and osteoporotic fracture. *Bone*, 32(6), 711–717 (2003).
- 87 Ralston SH, Uitterlinden AG, Brandi ML *et al.*: Large-scale evidence for the effect of the *COL1A1 Sp1* polymorphism on osteoporosis outcomes: the GENOMOS Study. *PLoS Med.* 3(5), E223 (2006).
- 88 Husted L, Harslof T, Gonzalez-Bofill N, Schmitz A, Carstens M, Stenkjaer L: Haplotypes of promoter and intron-1 polymorphisms in the *COL1A1* gene are associated with increased risk of osteoporosis. *Calcif. Tissue Int.* 84(2), 85–96 (2009).
- 89 Yazdanpanah N, Rivadeneira F, van Meurs JB *et al.*: The -1997 G/T and *Sp1* polymorphisms in the collagen type I $\alpha 1$ (*COL1A1*) gene in relation to changes in femoral neck bone mineral density and the risk of fracture in the elderly: the Rotterdam study. *Calcif. Tissue Int.* 81(1), 18–25 (2007).
- 90 MacLaughlin E: Improving osteoporosis screening, risk assessment, diagnosis, and treatment initiation: role of the health-system pharmacist in closing the gap. *Am. J. Health Syst. Pharm.* 67(3), 4–8 (2010).
- 91 Lamberts S, Uitterlinden A: Genetic testing in clinical practice. *Annu. Rev. Med.* 60, 431–442 (2009).
- 92 van Straaten T, Van Schaik R: Genetic techniques for pharmacogenetic analyses. *Curr. Pharm. Des.* 16(2), 231–237 (2010).
- 93 Weinsilboum R: Inheritance and drug response. *N. Engl. J. Med.* 348(6), 529–537 (2003).
- 94 Lewiecki E, Bilezikian JP, Laster A *et al.*: 2009 Santa Fe bone symposium. *J. Clin. Densitom.* 13(1), 1–9 (2010).
- 95 Delmas PD, Rizzoli R, Cooper C, Reginster JY: Treatment of patients with postmenopausal osteoporosis is worthwhile. The position of the International Osteoporosis Foundation. *Osteoporos. Int.* 16(1), 1–5 (2005).
- 96 Nguyen D, Eisman J, Nguyen T: Anti-hip fracture efficacy of bisphosphonates: a Bayesian analysis of clinical trials. *J. Bone Miner. Res.* 21(2), 340–349 (2006).
- 97 Francis RM: Nonresponse to osteoporosis treatment. *J. Br. Menopause Soc.* 10(2), 76–80 (2004).
- 98 Nguyen TV, Eisman JA: Pharmacogenomics of osteoporosis: opportunities and challenges. *J. Musculoskelet. Neuronal Interact.* 6(1), 62–72 (2006).
- 99 Kennel KA, Drake MT: Adverse effects of bisphosphonates: implications for osteoporosis management. *Mayo Clin. Proc.* 84(7), 632–638 (2009).
- 100 Sarasquete ME, García-Sanz R, Marín L *et al.*: Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw is associated with polymorphisms of the cytochrome P450 *CYP2C8* in multiple myeloma: a genome-wide single nucleotide polymorphism analysis. *Blood* 112(7), 2709–2712 (2008).
- 101 Palomba S, Numis FG, Mossetti G *et al.*: Effectiveness of alendronate treatment in postmenopausal women with osteoporosis: relationship with *BsmI* Vitamin-D receptor genotypes. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* 58(3), 365–371 (2003).
- 102 Palomba S, Orio F Jr, Russo T *et al.*: *BsmI* vitamin-D receptor genotypes influence the efficacy of antiresorptive treatments in postmenopausal osteoporotic women. A 1-year multicenter, randomized and controlled trial. *Osteoporos. Int.* 16(8), 947–952 (2005).
- 103 Arko B, Prezelj J, Komel R, Kocijancic A, Marc J: No major effect of estrogen receptor β gene *RsaI* polymorphism on bone mineral density and response to alendronate therapy in postmenopausal osteoporosis. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 81(2), 147–152 (2002).
- 104 Marc J, Prezelj J, Komel R, Kocijancic A: *VDR* genotype and response to etidronate therapy in late postmenopausal women. *Osteoporos. Int.* 10(4), 303–306 (1999).
- 105 Deng HW, Li J, Li JL *et al.*: Change of bone mass in postmenopausal Caucasian women with and without hormone replacement therapy is associated with vitamin-D receptor and estrogen receptor genotypes. *Hum. Genet.* 103(5), 576–585 (1998).
- 106 Tofteng CL, Jensen JE, Abrahamson B, Odum L, Brot C: Two polymorphisms in the vitamin-D receptor gene association with bone mass and 5-year change in bone mass with or without hormone-replacement therapy in postmenopausal women: the Danish osteoporosis prevention study. *J. Bone Miner. Res.* 17(8), 1535–1544 (2002).
- 107 Rogers MJ: New insights into the molecular mechanisms of action of bisphosphonates. *Curr. Pharm. Des.* 9(32), 2643–2658 (2003).
- 108 Carbonell S, Masi L, Marini F *et al.*: Genetics and pharmacogenetics of osteoporosis. *J. Endocrinol. Invest.* 28(10), 2–7 (2005).
- 109 Marini F, Falchetti A, Silvestri S *et al.*: Modulatory effect of farnesyl pyrophosphate synthase (*FPPS*) rs2297480 polymorphism on the response to long-term amino-bisphosphonate treatment in postmenopausal osteoporosis. *Curr. Med. Res. Opin.* 24(9), 2609–2615 (2008).

- 110 van der Straaten T, van Schaik RH: Genetic techniques for pharmacogenetic analyses. *Curr. Pharm. Des.* 16(2), 231–237 (2010).
- 111 Suwazono Y, Kobayashi E, Uetani M *et al.*: G-protein β 3 subunit polymorphism C1429T and low-density lipoprotein receptor-related protein 5 polymorphism A1330V are risk factors for hypercholesterolemia in Japanese males – a prospective study over 5 years. *Metabolism* 55(6), 751–757 (2006).
- 112 Bojesen SE, Juul K, Schnohr P, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG: Platelet glycoprotein IIb/IIIa PIA2/PIA2 homozygosity associated with risk of ischemic cardiovascular disease and myocardial infarction in young men. *JACC* 42(4), 661–667 (2003).
- 113 Penna-Martinez M, Ramos-López E, Stern J *et al.*: Vitamin-D receptor polymorphisms in differentiated thyroid carcinoma. *Thyroid* 19(6), 623–628 (2009).
- 114 Morrison NA, George PM, Vaughan T, Tilyard MW, Frampton CM, Gilchrist NL: Vitamin-D receptor genotypes influence the success of calcitriol therapy for recurrent vertebral fracture in osteoporosis. *Pharmacogenet. Genomics* 15(2), 127–135 (2005).
- 115 Quevedo LI, Martínez BM, Castillo NM, Rivera FN: Vitamin-D receptor gene polymorphisms and risk of hip fracture in Chilean elderly women. *Rev. Med. Chil.* 136(4), 475–481 (2008).
- 116 Macdonald H, Mcguigan F, Stewart A *et al.*: Large-scale population-based study shows no evidence of association between common polymorphism of the *VDR* gene and BMD in British women. *J. Bone Miner. Res.* 21(1), 151–162 (2006).
- 117 Ashton KA, Proietto A, Otton G *et al.*: Estrogen-receptor polymorphisms and the risk of endometrial cancer. *BJOG* 116(8), 1053–1061 (2009).
- 118 Grant S, Reid D, Blake G, Herd R, Fogelman I, Ralston S: Reduced bone density and osteoporosis associated with a polymorphic Σ 91 binding site in the collagen type I α 1 gene. *Nat. Genet.* 14(2), 203–205 (1996).
- 119 Jiang H, Lei SF, Xiao SM *et al.*: Association and linkage analysis of *COL1A1* and *AHSG* gene polymorphisms with femoral neck bone geometric parameters in both Caucasian and Chinese nuclear families. *Acta Pharmacol. Sin.* 28(3), 375–381 (2007).
- **Websites**
- 201 Clinician's Guide to prevention and treatment of osteoporosis. National Osteoporosis Foundation, Washington, DC, USA (2008) www.nof.org/professionals/Clinicians_Guide.htm
- 202 Uitterlinden A, Pols H: Manual Práctico de osteoporosis y enfermedades del metabolismo mineral: Genética de la Osteoporosis. ISBN: 84-88992-91-2. Cap 10, 49–54 (2004) www.medicrit.com/libros/OSTEOPOROSIS/49.pdf
- 203 FRAX® WHO fracture risk assessment tool (2009) www.shef.ac.uk/FRAX
- 204 Garvan–Dubbo Fracture Risk calculator www.fractureriskcalculator.com.au
- 205 European Medicines Agency: Pre-authorisation evaluation of medicines for human use: denosumab www.ema.europa.eu/pdfs/human/opinion/Prolia_77616809en.pdf
- 206 National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE): Technology appraisal guidance 160: bisphosphonates (alendronate, etidronate, risedronate), raloxifene, strontium ranelate and teriparatide for the primary prevention of osteoporotic fragility fractures in postmenopausal women 92008 www.nice.org.uk/TA087guidance
- 207 National Institute for health and Clinical Excellence (NICE): Technology appraisal guidance 161: bisphosphonates (alendronate, etidronate, risedronate), raloxifene, strontium ranelate and teriparatide for the secondary prevention of osteoporotic fragility fractures in postmenopausal women (2008) www.nice.org.uk/TA087guidance
- 208 Pharmacogenomics Knowledge Base (PharmGKB) www.pharmgkb.org
- 209 HUGO nomenclature www.genenames.org

Estudio 4 (Capítulo de libro).

Book: Pharmacogenetics 2011, ISBN: 978-953-307-821-2.

Carta de Invitación:

INTECH OPEN ACCESS
PUBLISHER

University Campus, STeP Ri
Slavka Krautzeka 83/A
51000 Rijeka, Croatia

T/F +385 51 686 166
E info@intechweb.org
www.intechweb.org

CERTIFICATE OF INVITATION

February 01, 2011

To Whom it May Concern,

InTech is an Open Access publisher of scientific books and journals. We strive to produce high quality publications that are of benefit to the community of scholars throughout the world. Thus, when selecting authors to contribute to our publications we apply a rigorous set of criteria. InTech selects only experts within a particular scientific field based on:

1. Field of research
2. Publication history - a record of scientific accomplishment documented by contribution to scientific literature or other evidence of scientific accomplishment and
3. Relevance, quality and impact of past publications

After successfully meeting these criteria, Dr. Rojo-Venegas has been invited to participate in the book project under the working title "Pharmacogenetics", ISBN 978-953-307-821-2.

Sincerely yours,

Aleksandar Lazinica, CEO



INTECH
d.o.o. Rijeka

Carta de aceptación del contenido del capítulo:

INTECH OPEN ACCESS
PUBLISHER

University Campus, STeP Ri
Slavka Krautzeka 83/A
51000 Rijeka, Croatia

T/F +385 51 686 166
E info@intechweb.org
www.intechweb.org

ABSTRACT: PHARMACOGENETICS ADVANCES OF OSTEOPOROSIS-RELATED BONE FRACTURES
AUTHORS: Rojo Venegas, Aguilera Margarita, Marisa Cañadas Garre, Eisman John, Garcia Antonio and Calleja Miguel A.
BOOK EDITOR: Despina Sanoudou
STATUS: ACCEPTED

ABSTRACT REVIEW REPORT

March 31, 2011

Sincerely yours,
Aleksandar Lazinica, CEO

Lazinica Aleksandar

INTECH
d.o.o. Rijeka

Presentación del capítulo: Título, autores y objetivo de aprendizaje.**CHAPTER PRESENTATION:**

Title: PHARMACOGENETICS ADVANCES OF OSTEOPOROSIS-RELATED BONE FRACTURES.

Authors:

Karen Rojo-Venegas. Pharmacist, Ph.D¹.
Margarita Aguilera. Pharmacist, Ph.D¹.
Marisa Cañadas Garre. Biochemist, Ph.D¹.
Antonio García Sánchez. Rheumatologist, Ph.D²
Prof. John A. Eisman. Endocrinologist, Ph.D³.
Miguel A. Calleja Hernández. Pharmacist, Ph.D¹.

¹ Pharmacogenetics Unit. Pharmacy Service. University Hospital Virgen de las Nieves, Granada, Spain.

² Rheumatology Service. University Hospital Virgen de las Nieves. Granada, Spain.

³ Garvan Institute of Medical Research. University of New South Wales, Sydney, Australia.

Learning Objectives:

The purposes of the present chapter are:

- To summarize putative candidate genes that have been related with BMD and fracture risk.
- To highlight the need for pharmacogenetic methodology that could be applicable in clinical translational research after an adequate validation process.
- To compile new approaches and analyses of important polymorphisms in osteoporosis previously documented, and their pharmacogenetic information.

Key words: clinical translation, BMD, fractures, gene, osteoporosis, pharmacogenetics, polymorphisms, validation, target.

Estructura del capítulo:

Osteoporosis is a systemic skeletal disease characterized by low bone mass and deterioration in the microstructure of bone tissue, which causes bone fragility and consequent increase in fracture risk¹. From a patient's perspective, a fracture and the subsequent loss of mobility and autonomy often represent a major drop in quality of life. Additionally, osteoporotic fractures of the hip and spine carry a 12-month excess mortality of up to 20%, because they require hospitalisation and they have subsequently enhanced risk of other complications, such as pneumonia or thromboembolic disease due to chronic immobilisation². The lifetime fracture risk of a patient with osteoporosis is as high as 40%, and fractures most commonly occur in the hip, spine, or wrist³.

On the other hand, osteoporosis is polygenetic disease (multifactorial)⁴, so the individual likelihood of having a fracture depends on the combination of several risk factor as such as low bone mineral density (BMD) and genetic^{5,6}.

The present chapter will develop the most interesting concerns related to pharmacogenetics of the pathologies most prevalent in the elderly population. It will identify risk fracture and estimation of the probability of major osteoporotic fracture by assessment tools. Also, it will board the genetics of osteoporosis for showing general pathways involved in bone homeostasis and polymorphisms of genes studies related with osteoporosis, BMD and osteoporotic fractures, and genetic or genomic screening approaches that have been used and also potential benefits from other existing or emerging technologies/approaches. In addition, it will be described the pharmacogenetics of osteoporosis, particularity of antiresorptives, reviewing efficacy limitations and adverse drug reactions associated with current osteoporosis medications and, how these limitations/reactions could be attributed to genetic/environmental factors. Besides, it will analyze the therapeutic target in osteoporosis (bone anabolic and bone resorptive) and the development of new antiresorptive therapies. Also, it will analyze gene-environment, age and gender differences interactions know to affect response to osteoporosis treatment. Finally, it is containing a discussion about how to translate those pharmacogenetic findings to the clinical practice.

IDENTIFICATION AND ESTIMATION OF MAJOR FRACTURE RISKS BY ASSESMENT TOOLS

One of the most used and best clinical determinants of bone status of an individual is evaluated through the measurement of bone mineral density (BMD)⁷ which is considered as a valid parameter to diagnose osteoporosis and to predict the risk of fracture⁸. BMD can be assessed with dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA), and osteoporosis is defined by a T score of less than 2.5, for example more than 2.5 standard deviations below the average of a young adult. Although, many external factors play fundamental roles in determining BMD, it has been estimated that over 50% of women and 70% of men who have suffered fractures did not have previously taken osteoporotic BMD values⁹. Furthermore, in studies of osteoporosis therapy, increases in BMD were not linearly proportional to fracture risk reductions. The change in BMD induced by antiresorptive drugs explains only approximately 15% of the

reduction in fracture risk¹⁰ and the measurements of BMD using DEXA are believed to overestimate BMD by 20% to 50%; they are therefore poor predictors of fracture in individuals¹⁶.

Although DEXA is widely available and has been commonly used for clinical phase-3 studies, it has some limitations. As an area-based measure of bone mineral, DXA does not allow assessment of bone geometry; neither does it distinguish between cortical bone, the outer shell, and trabecular bone, the spongy inner part, which are important determinants of bone strength and loss at different rates. Advances in imaging techniques with high-resolution peripheral CT that yield volumetric bone-density data might allow better prediction of bone strength and thus fracture risk, if indices such as intracortical porosity are taken into account¹¹. Whether these novel techniques will be useful in daily practice remains to be seen.

New decision-making methods, such as the fracture-risk assessment tool (FRAX), have integrated clinical risk factors with DEXA-based BMD to predict an individual's 10-year risk of sustaining a hip fracture as well as the 10-year probability of having a major osteoporotic fracture, defined as clinical spine, forearm, hip, or shoulder fracture¹². The algorithm is calibrated for geographic variation in risk. Version 3.0 of the FRAX has been shown to give lower probability estimates for major osteoporotic fracture and hip fracture than version 2.0 but has little impact on rank order of risk¹³. This tool bridges the chasm between the parameters for diagnosing osteoporosis and identifying individuals with structurally compromised bone that causes an increase risk of fracture.

National and international guidelines have been implemented to address the challenge of screening for osteoporosis in an evidence-based and cost-effective manner^{14,15,16}. Several risk factors, such as age, low body-mass index, previous fragility fractures, a family history of fractures, and the use of glucocorticoids, alcohol intake and active cigarette smoking have to be taken into account⁷.

Evidently, the osteoporosis is a complex multifactorial disease, but it is now understood that genetic factors play a central role in its pathogenesis¹⁷. Therefore, it is necessary to consider that the genetics of osteoporosis comprises two main areas: genetics of disease susceptibility and pharmacogenetics of drug response. In this chapter it will analyzed these 2 areas by separate but, certainly, go hand in hand.

GENETICS OF OSTEOPOROROSIS

Genetic and genomic screening technologies/ approaches

To assess osteoporosis-related genes have been studied from different approaches, which include mainly to: linkage analysis in family, animal studies, Candidate gene association studies, Genome-wide sequencing and Genome-wide association studies (GWAS), and Meta-analyses.

Linkage analyses: In this type of study, panels of SNP markers are studied for evidence of segregation of the disease within a family¹⁸. Though several bone-related phenotype traits have been investigated, genome-wide linkage scan has only been able to identify one candidate gene for osteoporosis, a non-synonymous coding change in BMP2 (Ser37Ala) in Iceland population¹⁹.

Animal Studies: Linkage studies in animals provide another way of identifying genes that regulate BMD and other phenotypes relevant to osteoporosis. These involve crossing laboratory strains of mice with low and high bone density. Linkage studies carried in mice and other animals have allowed the identification of the lipoxigenase gene *Alox15*, which regulates bone mass in mice²⁰, whose human homologue *Alox12* has been associated with spine BMD in white population²¹.

Candidate gene association studies: Candidate gene associations' studies consist in the analysis of the relation of polymorphic known variants in candidate genes with osteoporosis traits. These studies include case-control approaches and transmission disequilibrium test (TDT), which involves the study of the association in related subjects. The analysis of the association between candidate gene polymorphisms and relevant osteoporotic features has yielded several interesting markers to be taken into consideration, but with conflicting association results. In this type of analysis are some genes such as: Collagen type 1 $\alpha 1$ (*COL1A1*), Estrogen Receptor α (*ER- α*), Lipoprotein receptor-related protein 5 and 6 (*LRP-5*, *LRP-6*), Sclerostin (*SOST*), Integrin Beta-3 (*ITGB-3*), Vitamin D receptor (*VDR*), among others^{22,23,24,25,26,27,28,29,30,31}.

Genome-wide association studies (GWAS): Data genome wide association (GWAS) consist in the comparison of a vast quantity of gene (usually single nucleotide polymorphism, SNP) in hundreds or thousands of individuals (divided in cases and controls), allowing the identification of genes and molecular pathways involved in a disease. GWAS have identified and confirmed a large number of osteoporosis related SNPs, mainly BMD and/or fractures, and susceptibility to osteoporosis. In this type of analysis some gene that have been analyzed by candidate gene association studies are found: *COL1A1*, *LRP-4*, *LRP-5*, *LRP-6*, *MARK-3*, *SOST*, *OPG*, *RANK*, *RANK-L*, *VDR*, among others^{17,32,33,34,35}.

Genome-wide sequencing: Sequencing technology can be applied to the analysis of determinate candidate loci identified by GWAS and other approaches, providing a more extensive knowledge of those gene variants in different individuals, not only single markers. In the near future, these advances will allow the examination of more sequence variations and their involvement in the disease³⁶.

Meta-analyses: They are retrospective or prospective analysis of combined data from several published studies or unpublished datasets that allow the enhancing of sample size and statistical power. They can be applied to association studies, linkage approaches and GWAS. This strategy is increasingly providing confirmation of osteoporosis related gene associations^{37,38}.

General pathways/genes involved in bone homeostasis

Since main genetic factors will be highlighted specific SNPs in potential candidate genes and genome-wide association studies related with osteoporosis, BMD and osteoporotic fractures.

The genetics of osteoporosis predisposition has been widely studied and the results of numerous association studies between hundreds polymorphisms candidate genes and bone quantitative and qualitative traits have been published in the literature, although the results of these studies are controversial and no convincing conclusions have emerged yet.

The recognition that several aspects of bone homeostasis are largely determined by genetic factors has led to an intensive search for specific genes associated with these quantitative and qualitative characteristics of bone and osteoporotic fracture risk. In each case, the first steps were to identify and verify a relationship between a gene and BMD³⁹. Currently, many candidate genes have been investigated as valuable tools for their association with BMD and osteoporotic fracture risk⁴⁰. However, the excitement surrounding early studies of allelic variation have often continued into controversy owing to the failure of independent replication, possibly due to insufficient statistical power and false-positive results^{41,42}. Genes involved in common pathways have been described as being related to the risk of osteoporosis, risk of hip and vertebral fractures and BMD values.⁴³ These gene variants could affect homeostasis and bone structure, and therefore BMD values.

Due to the available studies from different reviews and the clinical importance of osteoporosis, we will focus on the mostly studied pathways and genes in relation to physiological function of osteoclasts (bone resorption) and osteoblast (bone formation), which particular effect on BMD and osteoporosis fracture risk. A summary of each of the genes with their respective signalling pathways is detailed in chart 1.

Chart 1: Signalling pathways and some candidate genes involved in osteoporosis and osteoporotic fracture.

Name of Pathways	Candidate genes
Osteoclastogenesis	Osteoprotegerine (OPG), Receptor activator of NF- κ B Ligand (RANK-L), Receptor activator of NF- κ B (RANK), Scrapper kinase (SCR), Cathepsin K (CTSK).
Wingless-type MMTV integration site (Wnt) signalling	Low density lipoprotein receptor-related protein (LRP), Integrin (ITGB), Dickkopf-1 (Dkk-1), Sclerostin (SOST), secreted frizzled-related protein (Sfrp)
Vitamin D	Vitamin D receptor (VDR), Vitamin D receptor binding protein (DBP)
Estrogens	Estrogen receptor- α (ESR- α), Estrogen receptor- β (ESR- β).
Collagen	Collagen type 1A (COL1A1)
Homeostasis calcium phosphorus	Calcium sensing Receptor (CaSR)
Mevalonate	Farnesyl diphosphate synthase (FDPS), geranylgeranyl diphosphate synthase 1 (GGPS1)

The search and discovery of genes involved in the regulation of a clinical trait are mainly based on linkage or association studies, or both. As previously described, linkage and association analysis, use two major approaches for their gene search: GWAS and the screening of candidate genes. The search for

candidate genes is based on prior knowledge of the potential function of genes involved in metabolic pathways, including the biochemistry, pharmacology and physiology of bone formation and resorption. Some of the possible candidate genes belonging to specific pathways and their polymorphisms have been already associated with genetic osteoporosis variability, BMD and/or osteoporosis fractures.

GWAS have allowed the association of large numbers of SNPs with osteoporosis and the identification of novel pathways involved. A large-scale meta-analysis of GWA data, analyzed 150 gene and found that SNPs from 9 gene loci: *ESR1*, *LRP4*, *ITGA1*, *LRP5*, *SOST*, *SPP1*, *RANK*, *OPG*, and *RANKL* were associated with BMD at either site. Also, SNPs from the *LRP5*, *SOST*, *SPP1*, and *RANK* loci were significantly associated with fracture risk⁴⁴. The GEFOS meta-analysis identified 20 BMD loci that reached genome-wide significance, of which 13 mapped to regions that had not been previously associated with this trait: 1p31.3 (*GPR177*), 2p21 (*SPTBN1*), 3p22 (*CTNNA1*), 4q21.1 (*MEPE*), 5q14 (*MEF2C*), 7p14 (*STARD3NL*), 7q21.3 (*FLJ42280*), 11p11.2 (*LRP4*, *ARHGAP1*, *F2*), 11p14.1 (*DCDC5*), 11p15 (*SOX6*), 16q24 (*FOXL1*), 17q21 (*HDAC5*) and 17q12 (*CRHR1*)⁴⁵. This meta-analysis also confirmed at GWS level seven known BMD loci on 1p36 (*ZBTB40*), 6q25 (*ESR1*), 8q24 (*OPG*), 11q13.4 (*LRP5*), 12q13 (*SP7*), 13q14 (*TNFSF11*) and 18q21 (*RANKL*). The deCODE GWAS research group identified four new genome-wide significant loci, the near the *SOST* gene at 17q21, the *MARK3* gene at 14q32, the *SP7* gene at 12q13 and the *TNFRSF11A* (*RANK*) gene at 18q21⁴⁶.

The analysis of the association between candidate gene polymorphisms and relevant osteoporotic features has yielded several interesting markers to be taken into consideration. One of those relevant genes is the Vitamin D Receptor, *VDR*. However, controversial results have been found in different polymorphisms in the *VDR* gene (*BsmI*, *FokI*, *Cdx2*, *TaqI*, *Apal*) by candidate gene association studies. Three meta-analysis studies performed in elderly women and/or men (fractured, osteoporotic and healthy) have summarized association studies between *VDR* SNP and BMD and/or risk of hip fracture. Data from two of them, including the GENOMOS study, show that these polymorphisms are not associated with BMD or fractures^{47,48}, though the *Cdx2* polymorphism may be associated with risk of vertebral fractures⁴⁷; the third meta-analysis found out a modest significance between risk of HF and GG *BsmI* genotypes⁴⁹. In other study design, a large-scale population-based, performed in early postmenopausal white women, it was found that *FokI* and *BsmI* SNPs do not influence on BMD in this population if calcium intake is adequate⁵⁰. The GEFOS meta-analysis also failed to find an association between *VDR* polymorphisms and BMD or fracture⁴⁴.

Moreover, *COL1A1* is other of the gene that has been reported to be related with low BMD and the risk of OF. In a meta-analysis study there was a significant decrease in BMD values in patients with GT genotype of *Sp1* SNP and especially in those individuals homozygous for TT⁵¹. Moreover, in a large population-based cohort of an elderly Caucasian study, an increased risk of fragility fracture and lower BMD was observed in female carriers of the T allele in the *Sp1* SNP⁵². However, they did not find influence on fracture or BMD in postmenopausal women associated with the rs1107946 (G296T) polymorphism by itself, though power limitations cannot be excluded.

In summary, the results compiled for each pathway remain conflicting, possibly owing to the complexity of the osteoporosis phenotype itself, added to limitations in the molecular available tools. These problems should be approached and solved by common effort for developing and improving screening, risk assessment, diagnosis and treatment initiation⁵³. In this sense, an important contribution would be the complementary use of validated genetic testing in clinical practice⁵⁴, specifically in pharmacogenetic analyses, which have been described in a recent compilation of genetic techniques⁵⁵.

PHARMACOGENETICS OF OSTEOPOROSIS

Since advances in genomics and proteomics revolutionized the drug discovery process and target validation, identification of novel therapeutic on skeletal diseases became a promised challenge⁵⁶. However, a well definition of comparative tissue samples is the first step required for applying these differential techniques in a successful way.

Pharmacogenetics and pharmacogenomics are new areas that study the impact of this change in individual genomes, specifically. It is well known that gene variability may affect this expression and became in a differential phenotype. High throughput whole genome expression microarrays application has pursued to discover specific gene up-regulated or down-regulated and putative clinical biomarkers.

A global gene Affymetrix microarray expression analysis allowed demonstrating that eight genes are highly associated with BMD variation in postmenopausal Caucasian women. Members of the Wtn signalling pathway, SOST and DKK1 were differentially expressed and they can be effective target for osteoporosis drug actions⁵⁷. This manuscript describes the functional studies of expression whose results are controversial. Another level of study is the cellular model⁵⁸, thus, it has defined results of a microarray based identification of osteoporosis-related genes in primary culture of human osteoblast.

Relevant SNPs on osteoporosis pathways have been described mainly in pathways of hormone replacement, Vitamin D metabolism, and Ca/P metabolism related molecule structures, antiresorptive and anabolic agents. Currently, there are new developed drug for osteoporosis based on monoclonal antibody actions and small molecules³ mimicking similar designs established for anticancer molecular directed therapy. New antiosteoporotic drugs aim to modulate bone metabolism through regulation of osteoclastic proliferation, apoptosis, cell activation, and osteoclastic protein folding and aggregation⁵⁹.

Conversely of genetics of osteoporosis, the study of the pharmacogenetic of osteoporosis is still largely untouched and only a few studies have been published in the past decade.

Pharmacogenetics represents the use of individual genetic data to predict the outcome of a drug treatment with respect to both high efficacy and adverse effects⁶⁰.

The response of osteoporosis to pharmacotherapy is known to be highly variable among patients. Thus, the emerging field of pharmacogenetics could be very useful for refining and optimizing osteoporosis drug treatment, potentially allowing the identification of the most effective drug and dose for

each patient, in terms of beneficial and adverse effects, based on the single genotype.

The study of the pharmacogenetics of osteoporosis should include the understanding of molecular mechanisms of drug action, the identification of drug response candidate genes and their variants, and the expansion of clinical trials to include patients' genetic profiling. All these approaches could provide useful tools to tailor decisions about osteoporosis drug treatments in order to maximize the health and well-being of osteoporotic patients.

Osteoporosis therapies fall into two classes⁶¹, antiresorptive drugs, which slow down bone resorptive as bisphosphonates (BP) (Alendronate, risedronate, etidronate, ibandronate, zoledronate), raloxifene, estrogen; and anabolic drugs, which stimulate bone formation included teriparatide (parathyroid hormone) and possibly strontium ranelate, which has been suggested to induce a combination of modest effects on bone formation and resorption⁶².

The therapeutic breakthroughs that have emerged for treatment of osteoporosis may improve the quality (term that refers to the constellation of bone architecture, bone turnover, and damage accumulation and mineralization) and quantity (integration of bone mass, estimated by BMD) of bone among a range of pharmacological alternatives (strontium ranelate, teriparatide and, among others), all of which are used for prevention of osteoporosis fracture⁶³. All these drugs have been shown to reduce the risk of osteoporosis fracture to a greater or lesser extent, along with concomitant increases in bone density and decreases in high bone turnover^{64,65}.

Very few data to date on the pharmacogenetics of osteoporosis have been evaluated. The available studies have investigated the effect of some major osteoporosis candidate genes, such as those encoding the VDR^{66, 67, 68}, ER- α /ER- β ^{69, 70, 71} and COL1A1⁷² with regard to antiresorptive drug responses. Due to this reason, in this chapter will be discussed and analyzed the latest studies on pharmacogenetics of treatment antiresorptives.

Pharmacogenetics of antiresorptives:

Most of these association studies in drug response were evaluated in terms of BMD and bone turnover marker variation, with specific genetic polymorphisms. Nevertheless, the great majority of these studies have investigated only genes which affect BMD and fracture risk and these might be independent from genes which affect drug responses (adverse affect and efficacy limitations).

The variability in drug response is much more complicated than simple variability in BMD or bone turnover markers; thus, it will be very important to define the phenotypes of antiresorptive drug response and to enlarge pharmacogenetic studies to also include genes involved in drug-specific pharmacokinetics and pharmacodynamics.

The BB genotype of the VDR-*BsmI* polymorphism has been associated to lower femoral neck BMD among women calcium treatment.

In the last three years, four novel studies have been published in the field of genetics of osteoporosis with specific relation to response osteoporosis treatment. One of this study, performed in 2008, evaluated the effects of the rs1800012 (G>T) SNP of the COL1A1 gene on BMD response to at least 3 years of low-dose hormone replacement therapy in 111 postmenopausal

Turkish women⁷³, and it was found that the increase in BMD lumbar and BMD femoral were higher in women with the GG genotype compared to those with the GT genotype.

In the same year, another study associated the rs2297480 (A>C) SNP of FDPS, the molecular target of amino-bisphosphonates in osteoclasts, with the response to 2-year aminobisphosphonate treatment in 234 osteoporotic Danish women⁷⁴. They found that subjects with the homozygous CC genotype showed a decreased response by urinary Crosslaps after 2 years, but not after 1 year,

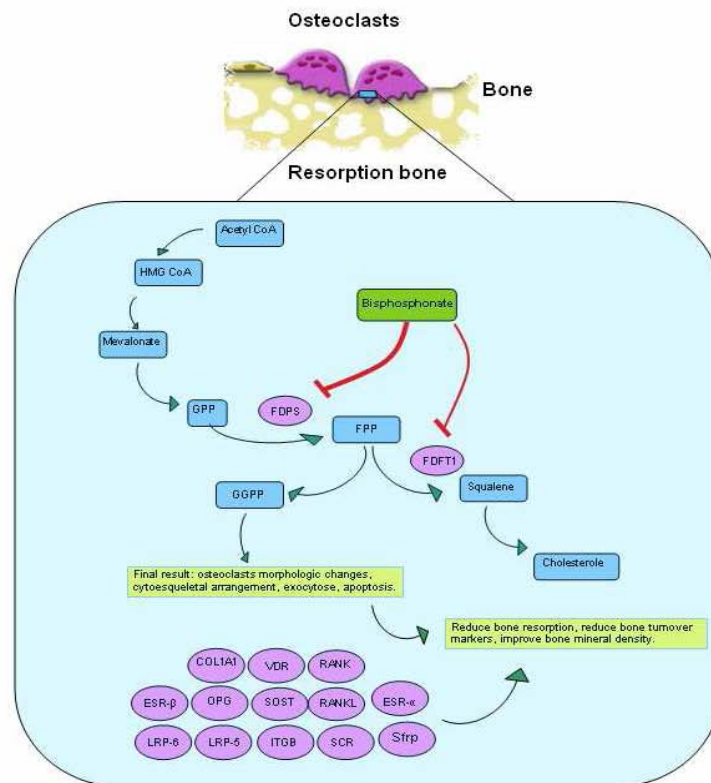


Figure 1: Representation of molecular structures coded by genes involved in bisphosphonates' effects inside osteoclasts.

FPP: farnesyl pyrophosphate, FDFT1: farnesyl-diphosphate farnesyltransferase, FDPS: farnesyl-diphosphate synthase, FPP: farnesyl, GPP: geranyl pyrophosphate pyrophosphate, GGPP: geranyl-geranyl pyrophosphate.
 COL1A1: Collagen type 1 A. ESR-α: Estrogen receptor-α. ESR-β: Estrogen receptor-β. ITGB: Integrin-β.
 LRP-5: Low density lipoprotein receptor-related protein 5. LRP-6: Low density lipoprotein receptor-related protein 6. OPG: Osteoprotegerin. RANK: Receptor activator of NF-κB. RANK-L: Receptor activator of NF-κB Ligand. SCR: Scrapper kinase. Sfrp: secreted frizzled-related protein. SOST: Sclerostin. VDR: Vitamin D receptor.

Protein/Enzyme

Adverse drug reactions associated to osteoporosis treatment

Although the osteoporosis drugs are effective, most have some limitations and side-effects that affect long-term administration and adherence⁷⁷. From genetic perspective, it has been evaluated genes that could be related to some adverse effects of osteoporosis treatments. The chart 2 shows the main side effects of treatments for osteoporosis.

Chart 2: Side-effect in the established treatment for osteoporosis and reduce the risk fracture with adequate calcium and vitamin D supplementation.

Treatment	Dose	Interval	Route	Side effect
Biphosphonates				Osteonecrosis of the jaw, subtrochanteric fractures. Possible risk of atrial fibrillation
- Alendronate	70 mg	Weekly	Oral	Esophageal irritation
- Risedronate	35/150 mg	Weekly/monthly	Oral	Esophageal irritation
- Ibandronate	150 mg	Monthly	Oral	Esophageal irritation
- Zoledronate (zoledronic acid)	5 mg	Yearly	IV	Hypocalcemia, potencial renal toxic effects
Raloxifene	60 mg	Daily	Oral	Thrombolytic disease
Strontium Ranelate*	2 g	Daily	Oral	Thrombolytic disease, drug rash with eosinophilia systemic syndrome, abdominal discomfort
Teriparatide	20 µg	Daily	SC	Hypercalcaemia, nausea, diarrhoea
PTH (1-84)**	100 µg	Daily	SC	Hypercalcaemia, nausea, diarrhoea

IV: Intravenous. SC: subcutaneous. * Approved in more than 70 countries. ** Approved in Europe but no USA.

The main genetics associations related to the adverse effects are described for treatments antiresorptives, specifically associated with bisphosphonates. The most threatening side effect bisphosphonates is the development of osteonecrosis of the jaw (ONJ)⁷⁸. The incidence of ONJ in patients treated for osteoporosis is low⁷⁹, but the incidence in cancer patients treated with high doses of intravenous is higher⁸⁰.

During the last 3 years, 6 genes that may be involved in the risk of ONJ have been evaluated. In one of these work, a GWA study determined the involvement of genetics in the pathogenesis of ONJ after of over 2 years intravenous BP treatment (pamidronate or zoledronate) carried out in 2 groups of patients with multiple myeloma (22 with ONJ and 65 without)⁸¹. Researchers found that one SNP out of four in *CYP2C8* rs1934951 (C>T), was associated with a risk of ONJ. Individuals homozygous for the T allele had increased likelihood of developing ONJ. However, this study could not confirm the association between ONJ and *CYP2C8* rs1934951 and they suggested a confirmation in independent series of patients. That may be because of the genetics background and environmental factors unique to the population studied. One year after, the same author concluded that among genetic factors, polymorphisms on *CYP2C8* gene arise as a promising risk factor, and that the bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw can be predicted with a conjunction of genetic and environmental risk factors⁸².

In the other study⁸³, performed in seven patients with ONJ and all with abnormality in serum bone markers (2 metastatic breast cancer, 3 osteoporosis, 1 prostate cancer, and 1 Gaucher's disease) and treated with intravenous or oral BPs (pamidronate, zoledronate or alendronate), analyzed the effect of protein of the matrix metalloproteinase 2 (MMP2) and the development of the ONJ. They chose this protein and this will be involved in the breakdown of

extracellular matrix in normal physiological processes, such as embryonic development, reproduction, and tissue remodelling, as well as in disease processes, such as arthritis and metastasis. In this study, they concluded that MMP2 is candidate gene for bisphosphonate-induced ONJ for 3 reasons: 1) MMP2 is associated with bone abnormalities, described above, which could be related to ONJ; 2) MMP2 is the only gene known to be associated with bone abnormalities and atrial fibrillation; 3) A network of disorders and disease genes linked by known disorder-gene associations indicates that cardiovascular disease and bone disease are related, suggesting that a single drug such as bisphosphonate, acting on a single gene, MMP2, could have both bone and cardiovascular side effects different from the osteoclast inhibition that is characteristic of bisphosphonate. Nevertheless, they proposed do further studies in patient without ONJ.

In a recent cohort study, performed in 78 patients with multiple myeloma (12 with ONJ) in treatment over 1 year with intravenous BP (pamidronate or zoledronate)⁸⁴, selected the main genes and their corresponding SNPs based on the papers that showed significant association with osteoporosis, BMD, osteonecrosis, osteoclastogenesis, bone resorption and BPs associated to osteonecrosis. They found that patients with smoking history had 4 times higher odds of developing ONJ than those who did not have a smoking history. They also observed that type of BP was related with ONJ, whose patients treated with Pamidronate had 4 times higher odds of developing ONJ compared with those on treatment with zoledronate. Finally, they revealed a trend towards higher odds ratio between the combined genotype score of five gene SNPs: COL1A1 (rs1800012), RANK (rs12458117), MMP2 (rs243865), OPG (rs2073618) and OPN (rs11730582) in risk of development ONJ in multiple myeloma patients undergoing intravenous BP therapy.

Therefore, whether BPs are causal to development of the osteonecrosis remains to be determined, suggesting that environmental and/or genetic variation between individuals may confer susceptibility or resistance to developing ONJ.

Molecular Structures as osteoporosis therapeutic targets

The bone remodelling process is characterized by sequence of events starting by resorption of the mineral matrix by osteoclasts and deposition of the new matrix by osteoblasts, resulting in replacement of the resorbed bone. The maintenance of bone mass is dependent on the balance between bone resorption and formation during bone remodelling. It is well known that bone remodelling is physiologically finely regulated by a variety of hormones, cytokines and factors that control osteoclasts and osteoblasts number and function⁸⁵.

a) Target for bone anabolic drug:

During the last years, the role of Wingless-type MMTV integration site family (Wnt signalling pathways) has been demonstrated to be involved in bone formation where it appears to be an important regulator of bone accrual during growth⁸⁶. The discovery of the crucial role that canonical Wnt signalling plays in skeletal biology opens a new avenue for new bone anabolic therapies^{87,88}.

Pharmacological manipulation of the Wnt cascade can affect bone formation rates in adults and positive modulators of this pathway *in vivo* are expected to act as bone anabolic drugs. Thus, many elements of the Wnt cascade constitute potential targets for pharmacological intervention. However, it must be aware that most of the approaches presented below target protein–protein interactions that are relatively difficult to manipulate pharmacologically. Wnt/ β -catenin signalling affects proliferation, commitment, differentiation/maturation, function and lifespan of osteoblasts. There are clinical trials with molecules such as BH-880 and AMG-785 that stimulate the Wnt pathway when Wnts bind to Frizzled (Fzd) receptors and LRP 5/6 (Figure 2). This activation inhibits a cytoplasmic complex composed of glycogen synthase kinase (GSK-3 β), Axin, and adenomatous polyposis coli (APC). Cytoplasmic β -catenin levels rise and some β -catenin translocate to the nucleus where it associates with Tcell factor (Tcf)/lymphoid enhancer-binding factor (Lef) transcription factors to regulate gene expression.

On the other hand, some new designed molecular like calcilytic drugs (MK-5442) that antagonize CaSR and triggers short bursts of PTH secretion. Binding of PTH to its receptor enhances osteoblast functions and bone formation. Presence of Wnt antagonists Dickkopf-1 (Dkk-1) and sclerostin inhibits Wnt signalling. Dkk-1 needs to form complex with Kremen to bind LRP5/6, whereas sclerostin binds LRP5/6 directly. BHQ-880 and AMG-785 are antibodies for Dkk-1 and sclerostin, respectively. After neutralising Dkk-1 and sclerostin, Wnt can bind to LRP5/6, which results in degradation GSK-3 β . As a consequence, β -catenin is stabilised, accumulates, and translocates into the nucleus where it regulates transcription of osteoblastic genes.

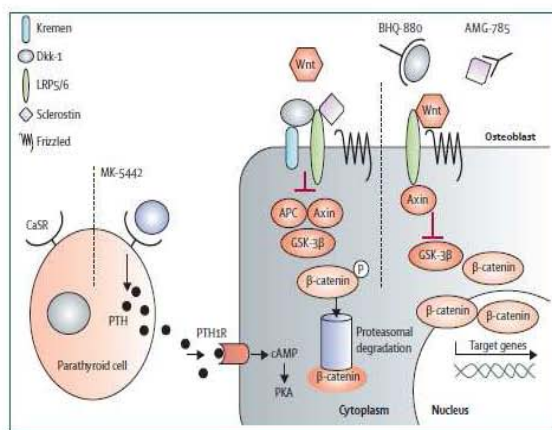


Figure 2: Osteoblast physiology and potential therapeutic targets³.

Findings regarding that small molecule inhibitors of GSK3 β increase bone mass, lower adiposity and reduce fracture risk. Neutralizing antibodies to Dkk-1, secreted Frizzled-related protein 1 and Sclerostin which bind and block the Wnt receptor LRP-5/6, produce similar outcomes in animal models. These drugs are exciting breakthroughs, but they are not without risks. The challenges include tissue-specific targeting and consequently, long-term safety.

Notably that currently approved anabolic agents is limited to PTH either as the N-terminal fragment, teriparatide. This has not been approved in the USA⁸⁹.

As it has been previously mentioned, extracellular CaSR also play an important role in the recruitment, differentiation and survival of osteoblasts and osteoclasts through activation of multiple CaSR-mediated intracellular signaling pathways in bone cells. CaSR on the parathyroid gland controls PTH release to maintain serum calcium concentrations within a narrow physiological range. Drugs that mimic high concentrations of calcium at the CaSR and suppress PTH secretion are termed calcimimetic drugs as Cinacalcet.

Although the physiological role of the CaSR expressed on osteoblasts and osteoclasts is not fully understood, in a recent study⁹⁰ it has demonstrated as the CaSR is a target for the anabolic Strontium Ranelate (SR) in bone cells, noting that SR as found to increase osteoblastic cell replication through activation of the CaSR; and that SR increased the expression of osteoclast protein as OPG and decrease expression of RANK-L.

Calcilytic drugs represent a new class of bone-forming drugs. They act as antagonists of the CaSR and mimic hypocalcaemia, thus evoking a short pulse of PTH secretion. Calcilytics are given orally and obviate the need for injections, as opposed to PTH treatment. A major practical obstacle for these drugs has been their narrow therapeutic index. Several programmes involving calcilytic drugs have been discontinued because of unfavourable pharmacokinetics⁹¹ and lack of efficacy (NCT00471237). Currently, newer calcilytic drugs with an improved pharmacological profile are being assessed^{92,93}. The most advanced compound of this class is MK-5442, which is currently in phase-2 trials for postmenopausal osteoporosis. Results are expected to be ready and available for therapy in 2012.

b) Target for bone resorptive drug:

For the differentiation, activation and functions of the osteoclasts cell, are involved membrane proteins as the Receptor activator of nuclear factor- κ B (RANK) ligand (RANKL); and receptors as RANK and osteoprotegerina (OPG). Differentiation from osteoclast precursor to fully activated multinucleated osteoclast depends essentially on receptor activator of NF- κ B ligand. (RANKL), a member of the tumour necrosis factor (TNF) family, RANKL, abundantly expressed by bone-forming osteoblasts, bone-marrow stromal cells, and T and B lymphocytes, activates its receptor, RANK, expressed on osteoclasts. After RANKL induced RANK stimulation, several key regulatory transcription factors and enzymes are induced to promote the differentiation, proliferation, multinucleation, activation, and survival of osteoclasts (Figure 3).

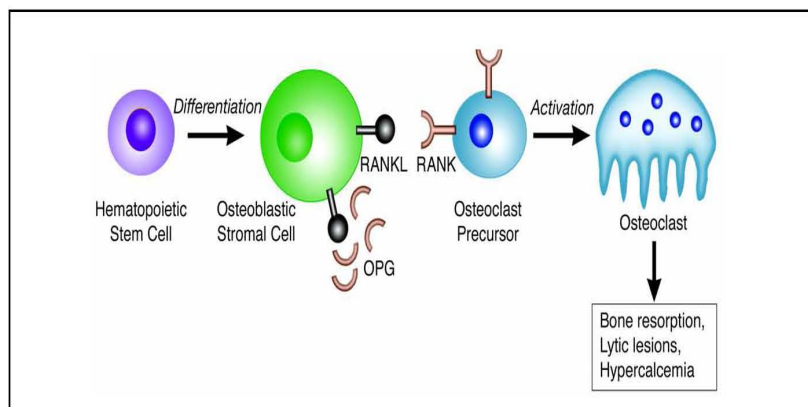


Figure 3: Role of receptor activator of nuclear factor- κ B (RANK) ligand (RANKL) and its 2 receptors (RANK and OPG) in controlling bone metabolism (Modified from Younes and Kadin)⁹⁴.

The Src kinase is highly expressed in osteoclasts and mediates multiple pathways regulating osteoclast activity. Interestingly, the absence of src does not alter the number of osteoclasts⁹⁵ and it is associated with an enhanced rate of osteoblastic bone formation⁹⁶. With their jellyfish-like shape, motile cytoskeleton, and adhesion molecules such as integrins (figure 4) osteoclasts attach to bone and create a sealing zone on the bone surface, which provides a highly enriched acidic microenvironment that is essential for catalytic activity of osteoclastic enzymes such as cathepsin K.

On the other hand, Cathepsin K is a key cysteine proteinase of the mature osteoclast that degrades collagen and breaks down bone⁹⁷. Cathepsin K is a crucial determinant of resorptive activity by osteoclasts; bone of poor quality in which microcracks accumulated is removed and hole-like lacunae appear (Figure 4).

Recent and more targeted therapies are being designed and used basing in similar to cancer therapy approaches like monoclonal antibody and small molecules as such as Denosumab, Odanacatib, Saracatinib.

Denosumab: The prominent role of RANKL in osteoclastogenesis has made it a prime target in diseases characterised by excessive bone loss. Initially, a chimerical OPG (decoy) fusion protein was used to antagonise RANKL⁹⁸. However, the formation of neutralising antibodies against OPG after administration of the fusion protein, and its potential cross-reactivity with tumour-necrosis-factor-related apoptosis-inducing ligand,⁹⁹ led to a new strategy; the development of Denosumab, a fully human monoclonal antibody against RANKL (figure 4), with pre-authorisation evaluation of medicines for human use in Europe¹⁰⁰.

In several clinical trials the positive impact of denosumab has been demonstrated in patients with low BMD and / or osteoporotic patients. A phase II controlled and randomized study in postmenopausal U.S. women with T-score between -1 and -2.5 at the lumbar spine showed that denosumab 60mg every 6 months significantly increased BMD at lumbar spine and total hip compared to placebo and significantly reduced bone markers (BM)¹⁰¹. Similarly, it was shown that between women with T-score -1.8 and -4 in lumbar spine and -1.8 and -3.5 at the proximal femur, a dose of 60 mg of denosumab every 6 months

increased BMD and decreased the BM compared with placebo¹⁰². Another study phase II in postmenopausal women with osteoporosis who received denosumab 60mg every 6 months, showed a significant decrease in the incidence of vertebral and hip fractures compared with placebo¹⁰³.

A multicenter phase III study compared the efficacy of denosumab (60 mg/6 months) with alendronate (70mg/día) on BMD and BM in postmenopausal women with low BMD, showing a significantly greater BMD gains and a further reduction of BM in patients treated with Denosumab¹⁰⁴.

Also, a multicenter randomized study demonstrated that switching the alendronate to denosumab for at least 6 months in postmenopausal women caused an increase in BMD at the lumbar spine, total hip, femoral neck and distal radius, and a significant reduction in bone remodeling compared to women who continued treatment with alendronate¹⁰⁵.

Odanacatib: On the basis of the concept that the protease cathepsin K has an important role in enzymatic bone degradation, the use of cathepsin-K inhibitors has emerged as a novel therapeutic approach (figure 4). A high specificity and affinity for cathepsin K over other cathepsins (B, L, and S) that are widely expressed, particularly in the skin, was crucial for this class of compounds¹⁰⁶.

Odanacatib is currently the most advanced inhibitor of cathepsin K under clinical investigation. Programmes with less specific cathepsin-K inhibitors were stopped because of cutaneous side effects, such as a scleroderma-like skin thickening and rashes¹⁰⁶.

In phase-I study, odanacatib at oral doses of 50 mg and 100 mg once a week reduced serum concentrations of the bone resorption marker CTX by 62%; and that daily administration of odanacatib (10 mg) reduced serum concentrations of CTX by 81%¹⁰⁷.

In a phase-II study¹⁰⁸, the effects of weekly oral doses of odanacatib were assessed in 399 women with postmenopausal osteoporosis. After 24 months, odanacatib (50 mg) increased BMD in the lumbar spine by 5.7% and total hip by 4.1% compared with placebo. In fact, a subset of 32 women undergoing bone biopsies showed that treatment with odanacatib resulted in a modest and transient reduction of bone-formation markers with no suppression of bone formation rate. Adverse reactions with odanacatib were close to those with placebo and scleroderma-like cutaneous lesions were not seen.

Currently, a phase-III study is underway with over 16000 postmenopausal women to assess the antifracture efficacy of odanacatib (NCT00529373), expected to be completed in 2012. Another cathepsin-K inhibitor, ONO-5334 is currently being assessed in a phase-2 trial in women with postmenopausal osteoporosis (NCT 00532337) completed in 2009.

Saracatinib: The src kinase is other of the important protein; it is highly expressed in osteoclasts and mediates multiple pathways regulating osteoclast activity (figure 4). The effect of impaired osteoclastic functions in src deficient mice provided the rationale to explore the skeletal effects of an inhibitor of src kinase.

In a phase-1 trial¹⁰⁹, saracatinib (AZD0530) was assessed in 59 healthy young men, demonstrated a decreased serum concentrations of CTX by 88% and urinary excretion of NTX by 67% (250 mg) after 25 days. Concentrations of bone-formation markers in the administered saracatinib group were similar to

those in the placebo group. Although there were no significant differences between these two groups, papular rash (30% vs 6%) and loose stools (24% vs 0%) were more frequent in the men given saracatinib than in those given placebo¹⁰⁹.

Saracatinib is currently being explored in phase-II studies for osteosarcoma (NCT00752206) and bone metastases (NCT00558272), but not for osteoporosis.

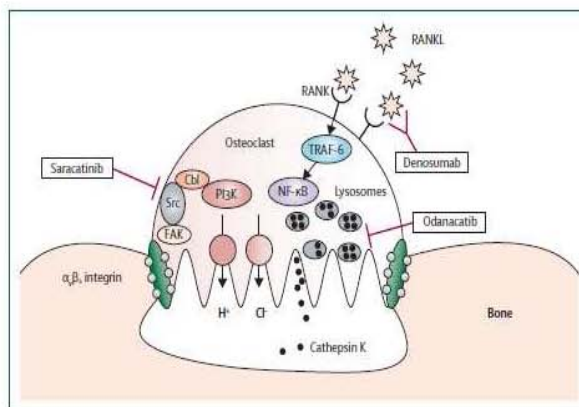


Figure 4: Summary of osteoclast physiology and potential therapeutic targets³.

Gene-environment, gender and age differences and osteoporosis treatment responses

Many risk factors contribute to the pathogenesis of osteoporosis. Aging affects bone density variations that are also mainly determined by genetic factors. Nevertheless, lifestyle factors such as bone-loading physical activities, nutrition (calcium and vitamin D intake, alcohol consumption), nicotine abuse, illnesses or the intake of medications with a negative impact on bone metabolism are additional risk factors for osteoporosis and can affect also drug responses¹¹⁰.

Genetic variation in a population creates an impressive spectrum of phenotypic diversity, particularly when changes in diet or the environment are imposed to the population. GWAS have become a powerful tool for linking sequence variants with overlying systems level phenotypes, but they do not provide insight into the mechanisms through which genetic variation drives phenotypic variation. Systems genetics is an emerging discipline that provides a means to fill this knowledge gap by assembling the hierarchy of interactions among genes, proteins, and other intermediate phenotypes that manifest as phenotypic variation¹¹¹.

The figure 5 shows a graphic which illustrates the interaction between gene and environment data. The concept for which a gene variant could be an advantage under one set of conditions and a disadvantage under another one is depicted.

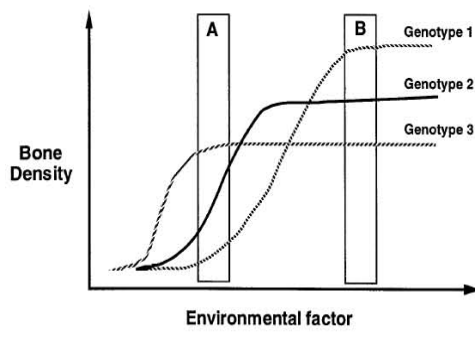


Figure 5: Gene-environment interaction. The concept that a gene variant could be an advantage under one set of conditions and a disadvantage under another is depicted. Under conditions A, individuals with genotype 1 would be worse off compared with those with genotype 2 or 3. However, under conditions B, the reverse order would apply¹¹².

Osteoporosis is an age-related disease with several gender-specific differences. Its prevalence is higher in women than men. Due to their larger bones, men have greater bending strength than do women. However, once a hip fracture has occurred, mortality is higher in men⁶. According to the International Osteoporosis Foundation, an estimated 75 million men and women in Europe, the United States, and Japan are affected by osteoporosis. Osteoporosis is not just a disease of women; men experience both osteoporosis and its clinical consequences. Differences in sex hormone production "especially the abrupt decline of estrogen in women" are responsible for inter-gender differences in the pathophysiology of osteoporosis. One of each 3 women and 1 of each 5 men more than 50 years old have experienced osteoporotic fractures¹¹³. Of the 9 million osteoporotic fractures estimated in 2000, 1.6 million were of the hip¹¹³. It is estimated that in 2050 will occur from 4.5 a 8.2 millions hip fracture¹¹⁴. Thirty-nine percent of these osteoporotic fractures and 30% of hip fractures occur in men. Hasserijs and colleagues note that men generally have higher rates of fracture-related mortality¹¹⁵. The resulting disability from osteoporosis in Europe is greater than the combined disability of all nonlung cancers¹¹⁶.

On the other hand, about 40% of white postmenopausal women are affected by osteoporosis and, with an ageing population, this number is expected to steadily increase in the near future¹¹⁷.

Thus, the treatment of osteoporosis also differs between genders; therapy options have been studied only in women¹¹⁸ and men that were are not protected from the disease¹¹⁹, then the treatment in men are understudied and the magnitude of the impact of male osteoporosis has been also underestimated¹²⁰

On the other hand, some studies have shown the influence of certain diseases in the response to treatment for osteoporosis. In a retrospective, matched case-control study, was evaluated the efficacy of alendronate in postmenopausal osteoporosis women with type 2 diabetes mellitus (DM);

measuring the efficacy by the BMD. The investigators found that the presence of type 2 DM resulted are resistant to long-term bisphosphonates, especially in regions of the BMD: hip, femoral neck, and forearm¹²¹. It has shown that metabolic syndrome diseases as DM are in genetic linkage to a missense mutation in LRP6 (Wnt signaling), one of the genes related with osteoporosis¹²².

Moreover, the vitamin D insufficiency will be related with osteoporosis. Studies performed in patients with low BMD, tested whether the presence of vitamin D insufficiency at status initial affected the response to alendronate¹²³ and raloxifene¹²⁴, both showing that this basal status does not affect BMD's response to bisphosphates when it was co-administered with Vitamin D and Calcium. Contrarily, a study performed in women with postmenopausal osteoporosis showed that optimal vitamin D repletion seems to be necessary to maximize the response to antiresorptive (alendronate, risedronate and raloxifene) in terms of both BMD changes and anti-fracture efficacy¹²⁵.

In addition, the decrease in calcium absorption could contribute to the pathogenesis of osteoporosis. A recently randomized, double-blind, placebo-controlled and multicenter clinical trial¹²⁶, evaluated whether the alendronate increased the fractional calcium absorption (FCA) in postmenopausal women with low BMD and Vitamin D ≤ 25 ng/ml. The patients treated during 5 weekly doses of alendronate 70 mg + vitamin D(3) 2800 IU (ALN+D), showed an increase in FCA compared with placebo.

In general, diet impact on osteoporosis should be taken in account in global analyses.

Translation of pharmacogenetic findings to the clinical environment

The item regarding the translation process of pharmacogenetic findings to the clinic within the global theme of the pharmacogenetic advances of osteoporosis-related bone fractures should be addressed in a general context and not particularly as an osteoporosis approach.

Once done this consideration, the first step before translating effectively pharmacogenetic discovering to the clinic environment will pass through the assessment that professionals involved in this circuit are properly formed, informed and coordinated for the management and application of requirements of pharmacogenetic tests, moreover to count with the basic infrastructure for collecting and analysing sample specimens.

Thus, general terms that covers areas of molecular biology-pharmacogenetics formation, ethical-legal issues, quality management in genetic test laboratories, ISO norms, cost-effectively successful strategies will be briefly disclose in this chapter item.

Currently, international diffusion about how to develop and the level of consensus on specific formation programmes on pharmacogenetics are scarce and limited to a number of pharmaceutical and physician schools^{127,128}. And, probably little has been shared about pilot assays performed for every school or university about effort regarding to insert basic pharmacogenetic knowledge as eligible Ph. D. courses and specific training.

In any case, this general lack of knowledge is the first barrier to overcome in order to implement pharmacogenetics test into routine medical practice. In this sense, previous experiences that are shared across literature can help to establish models of effective progress in pharmacogenetics

applications¹²⁹. There are also some specific center investigators that study racially and ethnically diverse populations and that are pioneers in the education of PharmD, MD and PhD students in pharmacogenomics, and have led the establishment of unique graduate and postdoctoral training programs focused on pharmacogenomics¹³⁰. Moreover, deeping on globalization knowledge web, there are some offered pharmacogenetic course online and many online bioinformatic tools that facilitate working with pharmacogenetics and pharmacogenomics (Pharmacgb: www.pharmacgb.com)¹³¹. Basic knowledge on general advance methodologies are revised in other item of this chapter, however, strategic designs of pharmacogenetic studies are the key for successful results in this area of research were many factors converge and they also should be well integrated and interpreted.

Ethical-privacy protection and legal issues in pharmacogenetic translational research compile concepts such as individual specimen origin (anonymization, decoding, banking, traceability, identifiable health data, etc), private authorization, informed consent, and specific regulations establishing bases about genetic privacy¹³². There are international organisms that carry out the emission, correction and control these norms of implementation (FDA, EMA), and subsequently there are National bioethics advisory commissions that warrantee the application of regulations in Hospital environment clinical research.

On the other hand, after defining "Quality" in health care areas as the degree to which health services for individuals or populations increase the likelihood of desired outcomes and are consistent with current professional knowledge, in general, there is no clear mechanism for measuring the quality dimension of genetic services. The lack of international acceptance, user-driven, rigorously developed service quality indicators for clinical genetics make difficult to follow an established and unique criteria for quality management method¹³³. Moreover, general aspects of health care should base on continuous improvements that comprise whole structure (tools, resources), process (activities) and outcome (results) are focused in setting care, what takes place during care delivery and determination if the aims have been achieved, respectively¹³⁴.

The global tendency is the implementation of a Quality Management System as first mandatory step prior to accreditation. Thus, currently, hospitals worldwide are implementing general norms for acquiring quality assurance of their health care programmes^{135,136}.

Another bottleneck to translate the validated and in progress pharmacogenetics biomarkers to clinical applications are cost-effectiveness, economic incentives and reimbursement issues and the difficulty of this real evaluations. Nowadays, there are few studies evaluating economical aspect on pharmacogenetics, and because of that it remains as abstract concept, which delay the demonstration of effectiveness to the governmental organisms in order to overcome the first step of implementation of pharmacogenetic as useful tool that is able to earn in a global hospital context, more in costly therapies that are based on error-assay determination.

All these complicated issues together with the idiosyncrasy of osteoporotic fractured patient care in hospital and controversial SNP specific description of clinical impact evaluation, constitute a huge challenge for the future advances. Finally, in this complex scenario, it will be absolutely

necessary to harmonize the pharmacogenetic implementation and interpretation of results and the fashion of reporting pharmacogenetic data⁴⁰.

Future perspectives

The exponential progress driven by the HumanGenome Project and technological advances continues to provide even more powerful analytical technologies and opportunities for gaining a better understanding of complex diseases, including osteoporosis. The success of finding osteoporosis genes should clearly be based on a collection of large cohorts of well characterized individuals. It is expected that with large-scale studies, many, if not all, of the genes that contribute to inter-individual variation in osteoporosis phenotypes and influence therapeutic responses will be identified.

Patient genotyping could be useful for targeting osteoporosis drug treatments to subjects most likely to respond well, avoiding suboptimal long-term treatments or adverse reactions. The application of specific genetic tests to identify subjects most likely to respond well and not to develop adverse reactions before the beginning of drug treatment is important mostly for those diseases, such as osteoporosis, for which numerous and effective therapies are available and, therefore, for which the selection of the optimal therapy is foreseeable. Moreover, the pharmacogenetics could help to map novel molecular drug targets, with an impact on drug discovery, moving from 'one drug fits all' to personalized therapy. Certainly, the genes to be evaluated should always encompass those encoding drug targets, drug metabolizing enzymes, and drug transporters, and pharmacogenetics will need to apply novel strategies in the search for gene variation, such as genome-wide scan association studies, microarray analysis, and others.

Moreover, pharmacogenetic association studies need to be extended and confirmed in large cohorts, in different ethnic groups and/or in multicentric studies, and all gene variants positively correlated with drug response in association studies will have to be validated by functional in vitro, in vivo, and ex vivo studies.

References

- ¹ NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy: Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *JAMA* 2001; 285(6), 785–795.
- ² Center JR, Nguyen TV, Schneider D, Sambrook PN, Eisman JA. Mortality after all major types of osteoporotic fracture in men and women: an observational study. *Lancet* 1999; 353: 878–82.
- ³ Rachner TD, Khosla S, Hofbauer LC. Osteoporosis: now and the future. *Lancet* 2011; 377: 1276–87.
- ⁴ Ralston SH. Genetic control of susceptibility to osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:2460–2466.
- ⁵ Cummings SR, Nevitt MC, Browner WS, et al. Risk factors for hip fracture in white women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *N Engl J Med*. 1995; 332(12):767-73.
- ⁶ Rojo K, Aznarte P, Calleja MA, Contreras O, Martínez JL, López-Mezquita B, et al. Factors of risk in an elderly population: evaluation for the prevention of hip fractures. *Rev Cir Ortop Traumatol* 2010; 54: 167-173.
- ⁷ Kanis JA: Diagnosis of osteoporosis and assessment of fracture risk. *Lancet* 2002; 359(9321), 1929–1936.
- ⁸ Cummings SR, Bates D, Black DM. Clinical use of bone densitometry: scientific review. *JAMA* 2002; 288: 1889–97.
- ⁹ Nguyen ND, Eisman JA, Center JR, Nguyen TV: Risk factors for fracture in nonosteoporotic men and women. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(3), 955–962.
- ¹⁰ Delmas PD, Li Z, Cooper C: Relationship between changes in bone mineral density and fracture risk reduction with antiresorptive drugs: some issues with meta-analyses. *J Bone Miner Res* 2004; 19(2), 330–327.
- ¹¹ Zebaze RM, Ghasem-Zadeh A, Bohte A, et al. Intracortical remodelling and porosity in the distal radius and post-mortem femurs of women: a cross-sectional study. *Lancet* 2010; 375: 1729–36.
- ¹² Unnanuntana A, Gladnick BP, Donnelly E, Lane JM. The assessment of fracture risk. *J Bone Joint Surg Am* 2010; 92: 743–53.
- ¹³ Kanis JA, Johansson H, Oden A, et al. The effects of a FRAX_ revision for the USA. *Osteoporos Int* 2010;21:35–40.
- ¹⁴ Hodgson SF, Watts NB, Bilezikian JP, et al, for the AACE Osteoporosis Task Force. American Association of Clinical Endocrinologists medical guidelines for clinical practice for the prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis: 2001 edition, with selected updates for 2003. *Endocr Pract* 2003; 9: 544–64.
- ¹⁵ Compston J, Cooper A, Cooper C, et al. National Osteoporosis Guideline Group (NOGG). Guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women and men from the age of 50 years in the UK. *Maturitas* 2009; 62: 105–08.
- ¹⁶ Brown JP, Josse RG. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis in Canada. *CMAJ* 2002; 167: S1–34.
- ¹⁷ Stykarsdottir U, Halldorsson BV, Gretarsdottir S, et al. Multiple genetic loci for bone mineral density and fractures. *N Engl J Med*. 2008; 358(22):2355-65.

- ¹⁸ Sawcer SJ, Maranian M, Singlehurst S, et al. Enhancing linkage analysis of complex disorders: an evaluation of high-density genotyping. *Hum Mol Genet.* 2004; 13(17):1943-9.
- ¹⁹ Styrkarsdottir U, Cazier JB, Kong A, et al. Linkage of osteoporosis to chromosome 20p12 and association to BMP2. *PLoS Biol* 2003; 1(3):E69.
- ²⁰ Allard J, Avnur Z, Nikolcheva T, et al. Regulation of bone mass in mice by the lipoxigenase gene *Alox15*. *Science* 2004; 303(5655):229-32
- ²¹ Human *ALOX12*, but not *ALOX15*, is associated with BMD in white men and women. Ichikawa S, Koller DL, Johnson ML, Lai D, Xuei X, Edenberg HJ, Klein RF, Orwoll ES, Hui SL, Foroud TM, Peacock M, Econs MJ. *J Bone Miner Res.* 2006; 21(4):556-64.
- ²² Mann V, Ralston SH. Meta-analysis of COL1A1 Sp1 polymorphism in relation to bone mineral density and osteoporotic fracture. *Bone* 2003; 32(6), 711–717.
- ²³ Ralston SH, Uitterlinden AG, Brandi ML, et al. Large-scale evidence for the effect of the COL1A1 Sp1 polymorphism on osteoporosis outcomes: the GENOMOS study. *PLoS Med.* 2006; 3(4):e90.
- ²⁴ Ioannidis JP, Stavrou I, Trikalinos TA, et al. Association of polymorphisms of the estrogen receptor alpha gene with bone mineral density and fracture risk in women: a meta-analysis. *J Bone Miner Res.* 2002; 17(11):2048-60.
- ²⁵ Ioannidis JP, Ralston SH, Bennett ST, et al. Differential genetic effects of ESR1 gene polymorphisms on osteoporosis outcomes. *JAMA* 2004; 292(17):2105-14
- ²⁶ van Meurs JB, Trikalinos TA, Ralston SH, et al. Large-scale analysis of association between LRP5 and LRP6 variants and osteoporosis. *JAMA* 2008; 299(11):1277-90.
- ²⁷ Mencej-Bedrac S, Prezelj J, Kocjan T, et al. Analysis of association of LRP5, LRP6, SOST, DKK1, and CTNNB1 genes with bone mineral density in a Slovenian population. *Calcif Tissue Int* 2009; 85(6):501-6.
- ²⁸ Liu JM, Zhang MJ, Zhao L, et al. Analysis of recently identified osteoporosis susceptibility genes in Han Chinese women. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95(9):E112-20.
- ²⁹ Tofteng CL, Bach-Mortensen P, et al. Integrin beta3 Leu33Pro polymorphism and risk of hip fracture: 25 years follow-up of 9233 adults from the general population. *Pharmacogenet Genomics* 2007; 17(1):85-91.
- ³⁰ Mencej S, Prezelj J, Kocijancic A et al. The combinations of polymorphisms in vitamin-D receptor, osteoprotegerin and tumor necrosis factor superfamily member 11 genes are associated with bone mineral density. *J. Mol. Endocrinol* 2009. 42(3), 239–247 ().
- ³¹ Garnero P, Munoz F, Borel O, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with the risk of fractures in postmenopausal women, independently of bone mineral density. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(8):4829-35.
- ³² Ralston SH, Uitterlinden AG. Genetics of osteoporosis. *Endocr Rev.* 2010; 31(5):629-62.
- ³³ Richards JB, Rivadeneira F, Inouye M, et al. Bone mineral density, osteoporosis, and osteoporotic fractures: a genome-wide association study. *Lancet* 2008; 371(9623):1505-12.
- ³⁴ Xiong DH, Liu XG, Guo YF, Tan LJ, et al. Genome-wide association and follow-up replication studies identified ADAMTS18 and TGFBR3 as bone mass

- candidate genes in different ethnic groups. *Am J Hum Genet.* 2009; 84(3):388-98.
- ³⁵ Cho YS, Go MJ, Kim YJ, et al. A large-scale genome-wide association study of Asian populations uncovers genetic factors influencing eight quantitative traits. *Nat Genet.* 2009;41(5):527-34.
- ³⁶ Zaghoul NA, Katsanis N. Functional modules, mutational load and human genetic disease. *Trends Genet.* 2010;26(4):168-76.
- ³⁷ Ioannidis JP, Ng MY, Sham PC, Zintzaras E, et al. Meta-analysis of genome-wide scans provides evidence for sex- and site-specific regulation of bone mass. *J Bone Miner Res* 2007; 22(2):173-83.
- ³⁸ Rivadeneira F, Styrkársdóttir U, Estrada K, et al. Twenty bone-mineral-density loci identified by large-scale meta-analysis of genome-wide association studies. *Nat Genet.* 2009; 41(11):1199-206.
- ³⁹ Morrison NA, Qi JC, Tokita A, et al. Prediction of bone density from vitamin-D receptor alleles. *Nature* 1994; 367(6460), 284–287.
- ⁴⁰ Rojo Venegas K, Aguilera Gómez M, Eisman JA, et al. Pharmacogenetics of osteoporosis-related bone fractures: moving towards the harmonization and validation of polymorphism diagnostic tools. *Pharmacogenomics* 2010; 11(9):1287-303.
- ⁴¹ Huang QY, Recker RR, Deng HW. Searching for osteoporosis genes in the post-genome era: progress and challenges. *Osteoporos Int* 2003; 14(9), 701–715.
- ⁴² Ioannidis JP. Why most published research findings are false? *PLOS Med* 2005; 2(8), 696–701.
- ⁴³ Cheung CL, Xiao SM, Kung AW. Genetic epidemiology of age-related osteoporosis and its clinical applications. *Nat Rev Rheumatol.* 2010; 6(9):507-17.
- ⁴⁴ Richards JB, Kavvoura FK, Rivadeneira F, et al. Collaborative meta-analysis: associations of 150 candidate genes with osteoporosis and osteoporotic fracture. *Ann Intern Med.* 2009; 151(8):528-37.
- ⁴⁵ Rivadeneira F, Styrkársdóttir U, Estrada K, et al. Twenty bone-mineral-density loci identified by large-scale meta-analysis of genome-wide association studies. *Nat Genet* 2009; 41(11):1199-206.
- ⁴⁶ Styrkársdóttir U, Halldorsson BV, Gretarsdóttir S, et al. New sequence variants associated with bone mineral density. *Nat Genet* 2009; 41(1):15-7.
- ⁴⁷ Uitterlinden AG, Ralston SH, Brandi ML, et al. The association between common vitamin D receptor gene variations and osteoporosis: a participant-level meta-analysis. *Ann Intern Med* 2006; 145: 255-264.
- ⁴⁸ Ji GR, Yao M, Sun CY, et al. BsmI, TaqI, Apal and FokI polymorphisms in the vitamin D receptor (VDR) gene and risk of fracture in Caucasians: A meta-analysis. *Bone* 2010; 47(3):681-686.
- ⁴⁹ Fang Y, Rivadeneira F, Van Meurs JB, et al. Vitamin D receptor gene BsmI and TaqI polymorphisms and fracture risk: a meta-analysis. *Bone* 2006; 39: 938-945.
- ⁵⁰ Macdonald H, McGuigan F, Stewart A, Black A, Fraser W, Ralston S, et al. Large-scale population-based study shows no evidence of association between common polymorphism of the VDR gene and BMD in british women. *J Bone Miner Res* 2006; 21(1), 151-162.

- ⁵¹ Mann V, Ralston SH. Meta-analysis of COL1A1 Sp1 polymorphism in relation to bone mineral density and osteoporotic fracture. *Bone* 2003; 32(6): 711–717
- ⁵² Yazdanpanah N, Rivadeneira F, van Meurs JB, et al. The -1997 G/T and Sp1 polymorphisms in the collagen type I a1 (COL1A1) gene in relation to changes in femoral neck bone mineral density and the risk of fracture in the elderly: the Rotterdam study. *Calcif Tissue Int* 2007; 81(1):18–25.
- ⁵³ MacLaughlin E. Improving osteoporosis screening, risk assessment, diagnosis, and treatment initiation: role of the health-system pharmacist in closing the gap. *Am J Health Syst Pharm* 2010; 67(3), 4–8.
- ⁵⁴ Lamberts S, Uitterlinden A. Genetic testing in clinical practice. *Annu Rev Med* 2009; 60, 431–442.
- ⁵⁵ van Straaten T, Van Schaik R. Genetic techniques for pharmacogenetic analyses. *Curr Pharm Des* 2010; 16(2), 231–237.
- ⁵⁶ Cho C, Nuttall M. Emerging techniques for the discovery and validation of therapeutic targets for skeletal diseases. *Expert Opin Ther Targets* 2002; 6(6):679-89.
- ⁵⁷ Reppe S, Refvem H, Gautvik VT, et al. Eight genes are highly associated with BMD variation in postmenopausal Caucasian women. *Bone* 2010; 46(3):604-12.
- ⁵⁸ Trost Z, Trebse R, Prezelj J, et al. A microarray based identification of osteoporosis-related genes in primary culture of human osteoblasts. *Bone* 2010; 46(1):72-80.
- ⁵⁹ Zhu Z, Xue LM, Han T, et al. Antiosteoporotic effects and proteomic characterization of the target and mechanism of an Er-Xian Decoction on osteoblastic UMR-106 and osteoclasts induced from RAW264.7. *Molecules* 2010; 15(7):4695-710.
- ⁶⁰ Gervasini G, Benítez J, Carrillo JA. Pharmacogenetic testing and therapeutic drug monitoring are complementary tools for optimal individualization of drug therapy. *Eur J Clin Pharmacol* 2010; 66(8):755-74.
- ⁶¹ Gates BJ, Sonnett TE, DuVall CAK, et al. Review of osteoporosis pharmacotherapy for geriatric patients. *Am J Geriatr Pharmacother* 2009; 7(6), 293–323.
- ⁶² Gates BJ, Sonnett TE, DuVall CAK, Dobbins EK. Review of osteoporosis pharmacotherapy for geriatric patients. *Am J Geriatr Pharmacother* 2009; 7(6): 293–323.
- ⁶³ Delmas PD, Rizzoli R, Cooper C, Reginster JY. Treatment of patients with postmenopausal osteoporosis is worthwhile. The position of the International Osteoporosis Foundation. *Osteoporos Int* 2005; 16(1), 1–5.
- ⁶⁴ National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE): Technology appraisal guidance 160 (amended January 2010): Alendronate, etidronate, risedronate, raloxifene and strontium ranelate for the primary prevention of osteoporotic fragility fractures in postmenopausal women. <http://www.nice.org.uk/nicemedia/pdf/TA160guidance.pdf>
- ⁶⁵ National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE): Technology appraisal guidance 161 (amended January 2010): Alendronate, etidronate, risedronate, raloxifene and strontium ranelate for the primary prevention of osteoporotic fragility fractures in postmenopausal women. <http://www.nice.org.uk/nicemedia/live/11748/47177/47177.pdf>

- ⁶⁶ Palomba S, Numis FG, Mossetti G, et al. Raloxifene administration in postmenopausal women with osteoporosis: effect of different Bsm1 vitamin D receptor genotypes. *Hum Reprod* 2003, 18:192-8.
- ⁶⁷ Marc J, Prezelj J, Komel R, et al. VDR genotype and response to etidronate therapy in late postmenopausal women. *Osteoporos Int* 1999, 10:303-6.
- ⁶⁸ Palomba S, Orio F Jr, Russo T, et al. Bsm1 vitamin D receptor genotypes influence the efficacy of antiresorptive treatments in postmenopausal osteoporotic women. A 1-year multicenter, randomized and controlled trial. *Osteoporos Int* 2005, 16:943-52.
- ⁶⁹ Kurabayashi T, Matsushita H, Tomita M, et al. Association of vitamin D and estrogen receptor gene polymorphism with the effects of long term hormone replacement therapy on bone mineral density. *J Bone Miner Metab* 2004, 22:241-7.
- ⁷⁰ Heilberg IP, Hernandez E, Alonzo E, et al. Estrogen receptor (ER) gene polymorphism may predict the bone mineral density response to raloxifene in postmenopausal women on chronic hemodialysis. *Ren Fail* 2005, 27:155-61.
- ⁷¹ Arko B, Prezelj J, Komel R, et al. No major effect of estrogen receptor beta gene Rsa1 polymorphism on bone mineral density and response to alendronate therapy in postmenopausal osteoporosis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2002, 81:147-52.
- ⁷² Qureshi AM, Herd RJ, Blake GM, et al. COL1A1 Sp1 polymorphism predicts response of femoral neck bone density to cyclical etidronate therapy. *Calcif Tissue Int* 2002, 70:158-63.
- ⁷³ Simsek M, Cetin Z, Bilgen T, et al. Effects of hormone replacement therapy on bone mineral density in Turkish patients with or without COL1A1 Sp1 binding site polymorphism. *J Obstet Gynaecol Res* 2008, 34:73-7.
- ⁷⁴ Marini F, Falchetti A, Silvestri S, et al. Modulatory effect of farnesyl pyrophosphate synthase (FDPS) rs2297480 polymorphism on the response to long-term amino-bisphosphonate treatment in postmenopausal osteoporosis. *Curr Med Res Opin* 2008, 24:2609-15.
- ⁷⁵ Kruk M, Ralston SH, Albagha OM. LRP5 polymorphisms and response to risedronate treatment in osteoporotic men. *Calcif Tissue Int* 2009, 84:171-9.
- ⁷⁶ Choi HJ, Choi JY, Cho SW, Kang D, Han KO, Kim SA, Kim SY, Chung YS, Shin CS: Genetic polymorphism of geranylgeranyl diphosphate synthase (GGSP1) predicts bone density response to bisphosphonate therapy in Korean women. *Yonsei Med J* 2010, 51:231-8.
- ⁷⁷ Siris ES, Selby PL, Saag KG, et al. Impact of osteoporosis treatment adherence on fracture rates in North America and Europe. *Am J Med.* 2009; 122(2 Suppl):S3-13.
- ⁷⁸ Kennel KA, Drake MT. Adverse effects of bisphosphonates: implications for osteoporosis management. *Mayo Clin Proc.* 2009; 84(7):632-7.
- ⁷⁹ Reid IR. Osteonecrosis of the jaw: who gets it, and why? *Bone* 2009; 44:4-10.
- ⁸⁰ Franken AA, van Blijderveen NJ, Witjes MJ, et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *Ned Tijdschr Geneesk.* 2011; 155(18):A3077.
- ⁸¹ Sarasquete ME, García-Sanz R, Marín L, et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw is associated with polymorphisms of the cytochrome P450 CYP2C8 in multiple myeloma: a genome-wide single nucleotide polymorphism analysis. *Blood* 2008; 112(7): 2709-12.

- ⁸² Sarasquete ME, González M, San Miguel JF, et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis: genetic and acquired risk factors. *Oral Diseases* 2009; 15, 382–387.
- ⁸³ Lehrer S, Montazem A, Ramanathan L, et al. Bisphosphonate-induced osteonecrosis of the jaws, bone markers, and a hypothesized candidate gene. *J Oral Maxillofac Surg*. 2009; 67(1):159-61.
- ⁸⁴ Katz J, Gong Y, Salmasinia D, et al. Genetic polymorphisms and other risk factors associated with bisphosphonate induced osteonecrosis of the jaw. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2011; 40(6):605-11.
- ⁸⁵ Martin TJ, Seeman E. Bone remodelling: its local regulation and the emergence of bone fragility. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2008; 22(5): 701–722.
- ⁸⁶ Harada S, Rodan G. Control of osteoblast function and regulation of bone mass. *Nature* 2003; 423 (6937): 349-355.
- ⁸⁷ Rawadi G, Roman-Roman S. Wnt signalling pathway: a new target for the treatment of Osteoporosis. *Expert Opin Ther Targets* 2005; 9(5):1063-1077.
- ⁸⁸ Hoepfner L, Secreto F, Westendorf J.. Wnt Signaling as a Therapeutic Target for Bone Diseases. *Expert Opin Ther Targets* 2009; 13(4): 485–496.
- ⁸⁹ Canalis E, Giustina A, Bilezikian JP. Mechanisms of anabolic therapies for osteoporosis. *N Engl J Med* 2007; 357: 905–916.
- ⁹⁰ Pierre JM. The calcium-sensing receptor in bone cells: a potential therapeutic target in osteoporosis. *Bone* 2010; 46: 571-576.
- ⁹¹ Gowen M, Stroup GB, Dodds RA, et al. Antagonizing the parathyroid calcium receptor stimulates parathyroid hormone secretion and bone formation in osteopenic rats. *J Clin Invest* 2000; 105: 1595–604.
- ⁹² Balan G, Bauman J, Bhattacharya S, et al. The discovery of novel calcium sensing receptor negative allosteric modulators. *Bioorg Med Chem Lett* 2009; 19: 3328–32.
- ⁹³ Kumar S, Matheny CJ, Hoffman SJ, et al. An orally active calcium-sensing receptor antagonist that transiently increases plasma concentrations of PTH and stimulates bone formation. *Bone* 2010; 46: 534–42.
- ⁹⁴ Younes A, Kadin ME. Emerging applications of the tumor necrosis factor family of ligands and receptors in cancer therapy. *J Clin Oncol*. 2003; 21(18):3526-34.
- ⁹⁵ Boyce BF, Yoneda T, Lowe C, et al. Requirement of pp60c-src expression for osteoclasts to form ruffled borders and resorb bone in mice. *J Clin Invest* 1992; 90: 1622–27.
- ⁹⁶ Marzia M, Sims NA, Voit S, et al. Decreased c-Src expression enhances osteoblast differentiation and bone formation. *J Cell Biol* 2000; 151: 311–20.
- ⁹⁷ Wilson S, Peters C, Saftig P, et al. Cathepsin K Activity-dependent Regulation of Osteoclast Actin Ring Formation and Bone Resorption. *J Biol Chem* 2009; 284(4): 2584–2592.
- ⁹⁸ Bekker PJ, Holloway D, Nakanishi A, et al. The effect of a single dose of osteoprotegerin in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 348–60.
- ⁹⁹ Emery JG, McDonnell P, Burke MB, et al. Osteoprotegerin is a receptor for the cytotoxic ligand TRAIL. *J Biol Chem* 1998; 273: 14363–67.
- ¹⁰⁰ European Medicines Agency: Pre-authorisation evaluation of medicines for

human use: denosumab. Available in www.ema.europa.eu/pdfs/human/opinion/Prolia_77616809en.pdf

¹⁰¹ Bone HG, Bolognese MA, Yuen CK, et al. Effect of Denosumab on bone mineral density and bone turnover in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93(6):2149-2157.

¹⁰² McClung M, Lewiecki M, Cohen S, et al. Denosumab in postmenopausal Women with low bone mineral density. *N Engl J Med* 2006; 354(22):821-831.

¹⁰³ Cummings SR, San Martin J, McClung MR, et al. Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2009; 361(8):756-765.

¹⁰⁴ Brown J, Prince R, Deal Ch, et al. Comparison of the effect of denosumab and alendronate on BMD and biochemical markers of bone turnover in postmenopausal women with low bone mass: a randomized, blinded, phase 3 trial. *J Bone Miner Res* 2009; 24(1):153-161.

¹⁰⁵ Kendler D, Roux C, Benhamou C, et al. Effects of denosumab on bone mineral density and bone turnover in postmenopausal women transitioning from alendronate therapy. *J Bone Miner Res* 2010; 25(1):72-81.

¹⁰⁶ Gauthier JY, Chauret N, Cromlish W, et al. The discovery of odanacatib (MK-0822), a selective inhibitor of cathepsin K. *Bioorg Med Chem Lett* 2008; 18: 923-28.

¹⁰⁷ Stoch SA, Zajic S, Stone J, et al. Effect of the cathepsin K inhibitor odanacatib on bone resorption biomarkers in healthy postmenopausal women: two double-blind, randomized, placebo-controlled phase I studies. *Clin Pharmacol Ther* 2009; 86:175-82.

¹⁰⁸ Bone HG, McClung MR, Roux C, et al. Odanacatib, a cathepsin-K inhibitor for osteoporosis: a two-year study in postmenopausal women with low bone density. *J Bone Miner Res* 2010; 25: 937-47.

¹⁰⁹ Hannon RA, Clack G, Rimmer M, et al. Effects of the Src kinase inhibitor saracatinib (AZD0530) on bone turnover in healthy men: a randomized, double-blind, placebo-controlled, multiple-ascending-dose phase I trial. *J Bone Miner Res* 2010; 25: 463-71.

¹¹⁰ Weinshilboum R. Inheritance and drug response. *N Engl J Med* 2003; 348:529-537.

¹¹¹ Voy BH. Systems genetics: a powerful approach for gene-environment interactions. *J Nutr*. 2011; 141(3):515-9.

¹¹² Eisman JA. Genetics of osteoporosis. *Endocrine review* 1999, 20(6):788-804.

¹¹³ Johnell O, Kanis JA. A estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures. *Osteoporos Int* 2006; 17:1726-33.

¹¹⁴ Gullberg B, Johnell O, Kanis JA. World-wide projections for hip fracture. *Osteoporos Int* 1997; 7(5):407-13.

¹¹⁵ Hasserijs R, Karlsson MK, Nilsson BE, et al. Prevalent vertebral deformities predict increased mortality and increased fracture rate in both men and women: a 10-year population-based study of 598 individuals from the Swedish cohort in the European Vertebral Osteoporosis Study. *Osteoporos Int* 2003; 14:61-8.

¹¹⁶ Lenise A, Cummings-Vaughn, Gammack JK. Falls, osteoporosis and hip fractures. *Med Clin N Am* 2010; 95: 495-506.

- ¹¹⁷ Burge R, Dawson-Hughes B, Solomon DH, Wong JB, King A, Tosteson A. Incidence and economic burden of osteoporosis-related fractures in the United States, 2005–2025. *J Bone Miner Res* 2007; 22: 465–75.
- ¹¹⁸ Pietschmann P, Rauner M, Sipos W, et al. Osteoporosis: An Age-Related and Gender-Specific Disease – A Mini-Review. *Gerontology* 2009; 55:3–12.
- ¹¹⁹ Patsch JM, Deutschmann J, Pietschmann P. Gender aspects of osteoporosis and bone strength. *Wien Med Wochenschr.* 2011;161(5-6):117-23.
- ¹²⁰ Haney E, M. Bliziotes M. Male Osteoporosis: New Insights in an Understudied Disease *Curr Opin Rheumatol.* 2008; 20(4):423-428.
- ¹²¹ Dagdelen S, Sener D, Bayraktar M. Influence of type 2 diabetes mellitus on bone mineral density response to bisphosphonates in late postmenopausal osteoporosis. *Adv Ther* 2007; 24(6):1314-20.
- ¹²² Mani A, Radhakrishnan J, Wang H, et al. LRP6 mutation in a family with early coronary disease and metabolic risk factors. *Science* 2007; 315(5816):1278-82.
- ¹²³ Antoniucci DM, Vittinghoff E, Palermo L, et al. Vitamin D insufficiency does not affect response of bone mineral density to alendronate. *Osteoporos Int.* 2009; 20(7):1259-66.
- ¹²⁴ Antoniucci DM, Vittinghoff E, Blackwell T, et al. Vitamin D insufficiency does not affect bone mineral density response to raloxifene. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90(8):4566-72.
- ¹²⁵ Adami S, Giannini S, Bianchi G, et al. Vitamin D status and response to treatment in post-menopausal osteoporosis. *Osteoporos Int* 2009; 20(2):239-44.
- ¹²⁶ Shapses SA, Kendler D, Robson R, et al. Effect of alendronate and vitamin D(3) on fractional calcium absorption in a double-blind, randomized, placebo-controlled trial in postmenopausal osteoporotic women. *J Bone Miner Res* 2011 Mar 29. doi: 10.1002/jbmr.395.
- ¹²⁷ Murphy JE, Green JS, Adams LA, et al. Pharmacogenomics in the curricula of colleges and schools of pharmacy in the United States. *Am J Pharm Educ.* 2010; 74(1):7.
- ¹²⁸ Maize DF, Fuller SH, Hritcko PM, et al. A review of remediation programs in pharmacy and other health professions. *Am J Pharm Educ* 2010; 74(2):25.
- ¹²⁹ Gurwitz D. Pharmacogenetics education: 10 years of experience at Tel Aviv University. *Pharmacogenomics* 2010; 11(5):647-9.
- ¹³⁰ Kroetz DL, Ahituv N, Burchard EG, et al. Institutional Profile: The University of California Pharmacogenomics Center: at the interface of genomics, biological mechanisms and drug therapy. *Pharmacogenomics* 2009; 10(10):1569-76.
- ¹³¹ Pharmacogenomic knowledge base (Pharmgkb). Gene, Variants, Pathway. <http://www.pharmgkb.org/> (Available January 2011).
- ¹³² UNESCO. Universal Declaration on the Human Rights. 11th November 1997. <http://unesdoc.unesco.org/images/0011/001102/110220e.pdf#page=47>
- ¹³³ Zellerino BC, Milligan SA, Gray JR, et al. Identification and prioritization of quality indicators in clinical genetics: an international survey. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2009; 151C(3):179-90.
- ¹³⁴ Lacalamita R, Schirone M, Paradiso A. ISO 9001:2000 applied to a research oncology laboratory: which problems? The experience of National Cancer Institute-Bari. *Ann Oncol* 2008; 19(6):1207-8.

¹³⁵ Torrenta L, Sánchez M, Santana L, et al. Gestión de la calidad en una unidad de cuidados intensivos: implementación de la norma ISO9001:2008 *Med Intensiva* 2010; 34(7):476–482

¹³⁶ Guzel O, Guner E. ISO 15189 Accreditation: Requirements for quality and competence of medical laboratories, experience of a laboratory. *Clinical Biochemistry* 2009; 42:274–278

Estudio 5: (Artículo original)



ARS Pharmaceutica

ISSN: 0004 -2927

<http://farmacia.ugr.es/ars/>

ARTÍCULO ORIGINAL

Polimorfismos del gen VDR en el riesgo de fracturas osteoporótica de cadera en una población adulta española

VDR gene polymorphisms on risk of osteoporotic hip fracture in an adult Spanish population

*Rojo-Venegas K¹, Aguilera M¹, Cañadas Garre M¹, Eisman JA², García A³, López JM⁴, Llamas JM⁴, Martínez JL⁵, López-Mezquita B⁵, Calleja MA¹.

¹ Unidad de Farmacogenética. Servicio de farmacia. Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada, España.

² Universidad New South Wales. Hospital St Vincent's. Bone Research Program-Garvan Institute of Medical Research, Sydney, Australia.

³ Servicio de Reumatología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada, España.

⁴ Servicio de Medicina Nuclear. Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada, España.

⁵ Servicio de Traumatología. Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada, España.

*krojo@correo.ugr.es

RESUMEN

La osteoporosis es una enfermedad esquelética compleja multifactorial con un fuerte componente genético, caracterizada por un deterioro en la microestructura ósea que causa fragilidad ósea y un incremento en el riesgo de fracturas osteoporóticas. El gen VDR podría estar fuertemente involucrado en el riesgo de fractura. El objetivo de este trabajo fue investigar la asociación entre polimorfismos del gen VDR y la susceptibilidad a fractura de cadera (FC). Se reclutaron 147 pacientes andaluces (102 con factores de riesgos de fracturas osteoporóticas y 45 con metabolismo óseo normal). El aislamiento de ADN se realizó a partir de 300 mL de sangre, genotipando 2 SNPs: *BsmI* y *FokI* mediante PCR-RFLP (PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism). Todas las fracturas fueron confirmadas por rayos-X mientras que el riesgo de fracturas a través de la escala FRAX y DMO. Los resultados se evaluaron estadísticamente, considerando significativo valores de $p < 0,05$. La edad media de los pacientes fracturados fue de 68,5 años, cuyas frecuencias alélicas fueron 64,7% G y 68,6% C para *BsmI* y *FokI*, respectivamente. La prevalencia de estos SNPs en la población caso fueron: 43,3% GA, 43,3% GG y 13,7% AA para *BsmI* y 49,0% CC, 39,20% CT, 11,8% TT para *FokI*. Las frecuencias de los alelos y genotipos no mostraron diferencias entre pacientes con riesgo de fracturas y pacientes control. Las frecuencias están acorde con las demostradas en HapMap para población europea-caucásica. No se encontró ninguna asociación significativa entre estos SNPs y la susceptibilidad a las FC en la población adulta andaluza.

PALABRAS CLAVE: *BsmI* - *FokI* - Fracturas de cadera - Gen VDR - polimorfismos - Osteoporosis.

ABSTRACT

Osteoporosis is a multifactorial complex skeletal disease with strong genetic component, characterized by a deterioration of bone microstructure that causes bone fragility and an increased risk of osteoporotic fractures. VDR gene could be strongly involved in the risk of fracture. The aim of this study was to investigate the association between VDR gene polymorphisms and susceptibility to hip fracture (HF). 147 Andalusian patients were recruited (102 with risk factors for osteoporotic fractures and 47 with normal bone metabolism). DNA isolation was performed from 300 ml of blood, genotyping 2 SNPs: *BsmI* and *FokI* by PCR-RFLP (PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism). All fractures were confirmed by X-rays while the risk of fractures through FRAX level and BMD. The results were statistically evaluated, considering significant p-values < 0.05 . The average age of fractured patients was 68.5 years, whose allele frequencies were 64.7% G and 68.6% C for *BsmI* and *FokI*, respectively. Prevalence of these SNPs in the case population were: 43.3% GA, 43.3% GG and 13.7% AA *BsmI* and 49.0 % CC, 39.2% CT, 11.8% TT for *FokI*. The frequencies of alleles and genotypes showed no differences between patients with and without risk of hip fracture. The frequencies are agree to HapMap for European-Caucasian population. It was found no significant association between these SNPs and susceptibility to HF in the adult population of Andalusia.

KEYWORDS: *BsmI* - *FokI* - Hip fracture - VDR Gene - polymorphisms - Osteoporosis.

Fecha de recepción (Date received): 16-06-2010

Fecha de aceptación (Date accepted): 29-10-2010

Ars Pharm 2010; 51.Suplemento 3:193-201.

INTRODUCCIÓN

La osteoporosis es una enfermedad esquelética sistémica, caracterizada por una baja densidad mineral ósea (DMO) y cambios estructurales en la microestructura del tejido óseo, con la consecuente fragilidad ósea y aumento del riesgo de fracturas osteoporóticas¹.

La fractura de cadera (FC) es la fractura osteoporóticas más temida debido a su alta mortalidad que puede llegar a alcanzar el 30% en el primer año de la fractura².

Además, el 40% de las personas que sobrevive no recupera su estado previo y comienzan a depender de terceras personas para sus actividades diarias³.

Debido a que la osteoporosis es una enfermedad poligénica (compleja, multifactorial)⁴, la probabilidad individual de tener una fractura depende de la combinación de varios factores de riesgo, como caídas, baja DMO y factores genéticos⁵⁻⁷. Esta última juega un papel fundamental en la predicción de fracturas de cadera y valores de la DMO⁸.

Previos estudios genéticos en la osteoporosis han focalizado a la DMO como un fuerte componente genético y el predictor más influyente del riesgo de fracturas⁹⁻¹². Estos estudios han sido desarrollados por la evidencia de que las características del hueso han demostrado ser altamente heredables en gemelos y familias^{10,13}.

Dado que la osteoporosis tiene un fenotipo complejo y variable, y debido a su interés epidemiológico, se han buscado muchos factores causales para establecer una asociación entre genes específicos responsables o grupos de genes cuyos efectos podrían interactuar^{13,14}. En este sentido, el gen receptor de la vitamina (VDR) es uno de los genes que podría estar fuertemente involucrado en la DMO y riesgo de FC¹⁵ y ha sido el primer gen candidato estudiado con el propósito de establecer una asociación genética¹⁶.

La vitamina D es un cofactor importante que estimula la absorción de calcio en el intestino y su reabsorción en los riñones, y desempeña un papel esencial en la homeostasis del calcio y fósforo, así como también en el metabolismo mineral óseo¹⁷.

Varios estudios han mostrado resultados controvertidos sobre la asociación entre polimorfismos (SNPs) del gen VDR y el riesgo de fracturas. Los 5 SNPs del gen VDR (*FokI*, *BsmI*, *TaqI*, *Cdx2*, *ApaI*) han sido propuestos para ser asociados a la DMO y riesgo de fractura. Sin embargo, recientes meta-análisis en estos SNP no han logrado un acuerdo sobre la existencia de asociación, ya que mientras algunos han encontrado una fuerte asociación^{18,19}, otros estudios no han encontrado ninguna relación^{20,21}.

El presente trabajo evaluó la influencia de relevancia clínica de 2 SNP del gen VDR con la susceptibilidad al riesgo de fracturas de cadera en una población caucásica-española.

Rojo-Venegas K et al. Polimorfismos del gen VDR en el riesgo de fracturas osteoporótica. 195

MATERIALES Y MÉTODOS

Población de estudio:

El diseño del estudio fue un caso-control. Los pacientes eran de origen caucásicos (españoles) y reclutados en el hospital Universitario Virgen de las Nieves. El grupo caso se reclutó de los servicios de Traumatología-Cirugía Ortopédica y Reumatología, mientras que el grupo control se reclutaron de los servicios de Reumatología y Medicina Nuclear.

El grupo caso estaba constituido por pacientes mayores de 55 años con altos factores de riesgo de fracturas (de acuerdo a la escala de FRAX), con DMO de osteopenia (T-score entre -1 y -2.5) y/o con osteoporosis (T-score \geq -2.5).

El grupo control estaba constituido por pacientes mayores de 55 años, no institucionalizados, funcionalmente independientes. Se excluyeron aquellos con: fracturas de cadera previa, artritis reumatoides, diabetes tipo 1, hiperparatiroidismo, enfermedades del metabolismo mineral óseo, fibrosis quística, hipogonadismo o menopausia precoz (antes de los 45 años), enfermedad nutricional o mala absorción, enfermedad hepática crónica, fármacos con efecto sobre el metabolismo óseo en los últimos 3 años (calcio, vitamina D, antiresortivo, anabolizantes, etc.)

El estudio fue aprobado por el Comité Ética de Investigación Clínica del hospital de acuerdo a la Declaración de Helsinki y la Ley Española de Investigación Biomédica. Se obtuvo consentimiento informado de todos los participantes para la participación del estudio.

Análisis de SNPs/Genotipado:

Para evaluar la asociación de los polimorfismos con las variantes fenotípicas se genotiparon los polimorfismos de la siguiente manera:

Las muestras de sangre (3 ml) fueron recolectadas en tubos BD Vacutainer® K3E (BD, Plymouth, Reino Unido), y se extrajo el ADN a partir de células blancas mediante el Kit QIAamp DNA Mini Kit (GmbH Qiagen, Hilden, Alemania). La calidad del ADN se comprobó por electroforesis en un gel de agarosa al 1%.

En todos los polimorfismos la reacción en cadena de polimerasa (PCR) se realizó en el Applied Biosystems 2720 Termociclador (Life Technologies Corporation, Carlsbad, California, EE.UU.) en tubos separados para cada polimorfismo en un volumen final de 25 μ L, que contenía 50 ng de ADN. Polimorfismos VDR (rs1544410- *BsmI*, rs10735810- *FokI*) se determinaron por PCR-RFLP. La reacción de amplificación de ambos polimorfismos fue: 200 dNTPs nM (Roche, Indianapolis, IN, EE.UU.), 400 nM de cada primer, 4 mM de MgCl₂, 1x PCR Buffer II y 0,15 U de AmpliTaq Gold (Life Technologies Corporation, Carlsbad, EE.UU). Programa de amplificación fue realizada por un touchdown PCR, con un paso de desnaturalización inicial de 15 minutos a 94 °C, seguido de 35 ciclos de 30 seg a 94 °C, 60 segundos a 65-55 °C (la temperatura de annealing disminuyó en 0,5 °C cada ciclo), 30 seg a 72°C, y un paso de elongación final de 7 minutos a 72 °C.

Royo-Venegas K et al. Polimorfismos del gen VDR en el riesgo de fracturas osteoporótica. 196

El ADN amplificado fue digerido con la correspondiente enzima de restricción durante toda la noche, de acuerdo con las especificaciones del fabricante (New England Biolabs Inc®, Massachusetts, EE.UU.). Los fragmentos de la digestión se analizaron en 3,5 a 4,5% en gel de agarosa con bromuro de etidio y se visualizaron bajo luz ultravioleta. Todos los resultados fueron con firmados por secuenciación.

Medidas clínicas

Para evaluar los parámetros clínicos y determinar el riesgo de fractura de cadera, se realizó una medición del índice de masa corporal (IMC) y del estado mineral óseo (DMO g/cm³) en cada paciente.

Para ambos grupos, la medición de la DMO del cuello femoral (FN) y la columna lumbar (LS, L2-L4) se midieron a través del equipo scanner densitométrico Hologic QDR 4500 C (Hologic, Bedford, MA, EE.UU.). El escáner fue calibrado diariamente con fantasmas apropiado. Las mediciones fueron tomadas desde el lado derecho de la fractura de cadera en el grupo casos (en caso de prótesis que se midió en la cadera izquierda) y de la cadera derecha en el grupo control.

Mediciones antropométricas de peso y altura fueron medidas con una balanza calibrada y una regla de pared. El índice de masa corporal (IMC, kg/m²) fue calculado como el peso (kg) dividido por la altura al cuadrado (m²). Todas las fracturas fueron confirmadas por rayos X, y los factores de riesgo se calcularon mediante el índice FRAX.

Métodos estadísticos:

Todos los resultados de genotipado fueron comprobados utilizando la herramienta calculadora de equilibrio Hardy-Weinberg²².

El cálculo estadístico se realizó con el software SPSS (versión 15, SPSS, Inc. Chicago, Illinois, EE.UU.). También se utilizó el Programa Epidemiológico EPIDAT (versión 3.1, Galicia, España) para comparar la distribución de los alelos. La prueba de Pearson-Chi² se utilizó para comparar la distribución de los genotipos en ambos grupos. Valores de p <0,05 fueron considerados estadísticamente significativos.

Rojo-Venegas K et al. Polimorfismos del gen VDR en el riesgo de fracturas osteoporóticas. 197

RESULTADOS

Datos clínicos:

147 pacientes fueron incluidos en el estudio. 102 fueron pacientes del grupo caso (92 mujeres y 10 hombres), con una edad promedio de 68 años, 50 de los cuales habían sufrido un fractura de cadera debido a un traumatismo simple. El grupo control estuvo constituido por 45 pacientes sanos (41 mujeres y 4 hombres) con una edad promedio de 66 años.

Un resumen de las características clínicas de ambos grupos se muestra en la Tabla 1. Se encontraron diferencias significativas en el peso, altura e IMC pero no en las edades.

Características clínicas	Grupo Caso	Grupo Control	valor P
Edad (años)	68,55±9,10	66,00±3,36	0,071
Peso (kg)	68,66±11,15	80,60±14,71	<0,001
Altura (cm)	1,54±0,07	1,62±0,07	<0,001
IMC (kg/cm ²)	28,67±4,86	30,67±5,21	0,026

Distribución del genotipado:

Las frecuencias del genotipo de los 2 SNPs estudiados se muestran en la Tabla 2. La distribución de los alelos en los dos grupos de estudio estaba acorde con el equilibrio Hardy-Weinberg.

Los polimorfismos *BsmI* (G63980A) y *FokI* (T2C) mostraron prácticamente las mismas frecuencias entre los diferentes grupos. No se encontró diferencias significativas entre el grupo caso y control. El análisis combinado de los dos marcadores polimórficos (haplotipos) no mostró asociación relevante entre ambos grupos.

Tabla 2. Genotipos y frecuencias alélicas en el grupo caso y control de los polimorfismos del gen receptor de vitamina D (VDR).

Gen (SNP, posición)	Genotipo /alelo	Grupo Caso n (%)	Grupo Control n (%)	Chi square	valor p
VDR (<i>BsmI</i> -rs1544410, G63980A)	GG	44 (43,1)	19 (42,2)	0,42	0,810
	GA	44 (43,1)	18 (40,0)		
	AA	14 (13,7)	8 (17,8)		
	G	132 (64,7)	56 (62,2)	0,07	0,781
	A	72 (35,3)	34 (37,8)		
VDR (<i>FokI</i> -rs10735810, T2C)	CC	50 (49,0)	19 (42,2)	0,73	0,696
	CT	40 (39,2)	19 (42,2)		
	TT	12 (11,8)	7 (15,6)		
	C	140 (68,6)	57 (63,3)	0,57	0,450
	T	64 (31,4)	33 (36,7)		

DISCUSIÓN

La investigación sobre enfermedades complejas y multifactoriales, como la osteoporosis, ha sido objeto para el establecimiento de estudios con impacto entre asociaciones genéticas y factores ambientales⁴.

La detección temprana de una predisposición genética a la osteoporosis permitiría una prevención adecuada, y/o la demora en los cambios desfavorables de los tejidos óseos. El análisis de polimorfismos validados, así como también la aplicación de eficaces herramientas de diagnóstico de genotipo contribuiría a dar imagen relativa de susceptibilidad de fracturas osteoporóticas⁸.

En nuestro estudio, hemos contribuido y evaluado la influencia de la relevancia clínica de los polimorfismos del gen VDR en el riesgo de fractura de cadera. De acuerdo con nuestros datos generales, y tal como se esperaba los pacientes con factores de riesgo de fractura de cadera presentaron menor DMO que el grupo control, a pesar de la misma edad.

En ambos SNPs, la distribución de las frecuencias de genotipado no mostraron diferencias significativamente entre el grupo caso y control.

Estos hallazgos han sido ampliamente discutidos en estudio de la genética osteoporosis. Por ejemplo, la existencia de una asociación de genotipos de VDR con DMO y la osteoporosis ha sido un punto de discusión y controversia en numerosos estudios¹⁸⁻²⁸ por lo tanto, ha sido difícil discutir los resultados presentes en nuestra población de estudio con los anteriores datos publicados.

Rojo-Venegas K et al. Polimorfismos del gen VDR en el riesgo de fracturas osteoporóticas. 199

Nosotros no encontramos diferencias significativas en las frecuencias del SNP *BsmI* entre el grupo caso y control (Tabla 2). Estos datos están de acuerdo con el estudio multicéntrico GENOMOS (9 equipos de investigación europeos) donde los autores no encontraron ninguna asociación significativa²⁰.

De la misma manera, un meta-análisis (1.632 casos de fracturas y los controles de 5323) que evaluó el efecto genético y el riesgo de fractura asociados al SNP *BsmI* tampoco encontró ninguna asociación²¹.

En otro estudio de meta-análisis que incluyó 17 estudios de poblaciones caucásicas, no se encontró ninguna asociación, aunque una modesta diferencia entre la FC y el genotipo GG del SNP *BsmI*²³.

Del mismo modo, en un estudio caso-control no se encontró asociación entre este SNP y los parámetros de DMO y fracturas de cadera²⁴.

Otros estudios similares realizados en mujeres posmenopáusicas osteoporóticas y mujeres normales, encontraron una asociación entre este SNP y el riesgo de fractura, pero esta asociación era independiente de la pérdida de DMO^{17,25}.

Por otra parte, en el proyecto Nurses Healthy, que incluían mujeres posmenopáusicas de 43 a 69 años de edad, se demostró que el genotipo AA del SNP *BsmI* estaba asociado con más del doble del incremento en el riesgo de fractura de cadera en comparación con el genotipo GG^{26,27}.

Nosotros no encontramos ninguna diferencia significativa entre el genotipo *FokI* y el riesgo de fractura de cadera. Un meta-análisis realizado en una población con riesgo de fracturas, no encontró ninguna diferencia significativa del SNP *FokI* con la incidencia de fractura²³. Asimismo, otro estudio no encontró ninguna asociación en mujeres premenopáusicas, posmenopáusicas con o sin osteoporosis y este último SNP²⁷.

Por último, considerando el poder estadístico de los polimorfismos estudiados, se concluye que al parecer no existe una influencia genética sobre la incidencia del riesgo de fractura de cadera en esta población.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer al equipo médico del servicio de Traumatología y Reumatología, a los técnicos del Servicio de Medicina Nuclear y a las enfermeras del Servicio de Análisis Clínico.

REFERENCES

1. National Institutes of Health (USA). Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis. *JAMA*. 2001; 285(6), 785-795.
2. Franzo A, Francescutti C, Simon G. Risk factors correlated with post operative mortality for hip fracture surgery in the elderly: a population-based approach. *Eur J Epidemiol* 2005; 20(12), 985-991.
3. National Osteoporosis Foundation (NOF). Clinical's Guide to prevention and treatment of osteoporosis. Washington, DC. National Osteoporosis Foundation 2008. Disponible en: www.nof.org/professionals/Clinicians_Guide.htm (Acceso el enero 2011).
4. Ralston SH. Genetic control of susceptibility to osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:2460-2466.
5. Nguyen ND, Eisman JA, Center JR, et al. Risk factors for fracture in osteoporotic men and women. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92, 955-962.
6. Rojo-Venegas K, Aznarte-Padial P, et al. Factors of risk in an elderly population: Evaluation scales for the prevention of hip fractures. *Rev Esp Cir Ortp Traumatol* 2010, 54(3), 167-173.
7. Cummings SR, Nevitt MC, Browner WS, et al. Risk factors for hip fracture in white women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. 1995; 332:767-773.
8. Rojo Karen, Aguilera M, Eisman J, et al. Pharmacogenetics of osteoporosis-related bone fractures: moving towards the harmonization and validation of polymorphism diagnostic tools. *Pharmacogenomics* 2010; 11(9), 1287-1303.
9. Diagnosis of osteoporosis and assessment of fracture risk. *Lancet* 2002; 359: 1929-1936.
10. Pocock NA, Eisman JA, Hopper JL, et al. Genetic determinants of bone mass in adults. A twin study. *J Clin Invest* 1987; 80:706-710.
11. Slemenda CW, Turner CH, Peacock M, et al. The genetics of proximal femur geometry, distribution of bone mass and bone mineral density. *Osteoporos Int* 1996; 6:178-182.
12. Uitterlinden A, Pols H. Manual Práctico de osteoporosis y enfermedades del metabolismo mineral: Genética de la Osteoporosis. ISBN: 84-88992-91-2. Cap 10, 49-54 (2004). Disponible en: www.medicrit.com/libros/OSTEOPOROSIS/49.pdf. (Acceso en enero 2011).
13. Nguyen TV, Howard GM, Kelly PJ, Eisman J. Bone mass, lean mass, and fat mass: same genes or same environments? *Am J Epidemiol* 1998; 147: 3-16.
14. Chen Y, Shen H, Yang F, et al. Choice of study phenotype in osteoporosis genetic research. *J Bone Miner Metab* 2009; 27: 121-126.
15. Nguyen TV, Center JR, Eisman JA. Pharmacogenetics of osteoporosis and the prospect of individualized prognosis and individualized therapy. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2008; 15(6),481-488.
16. Morrison NA, Qi JC, Tokita A, et al. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature* 1994; 367: 284-287.
17. Jurutka PW, Bartik L, Whitfield GK, et al. Vitamin D receptor: key roles in bone mineral pathophysiology, molecular mechanism of action, and novel nutritional ligands. *J Bone Miner Res* 2007; 22: V2-V10.
18. Cooper GS, Umbach DM. Are vitamin D receptor polymorphisms associated with bone mineral density? A meta-analysis. *J Bone Miner Res* 1996; 11:1841-1849.
19. Thakkinstian A, D'Este C, Eisman J, et al. Meta-analysis of molecular association studies: vitamin D receptor gene polymorphisms and BMD as a case study. *J Bone Miner Res* 2004; 19: 419-428.
20. Uitterlinden AG, Ralston SH, Brandi ML, et al. The association between common vitamin D receptor gene variations and osteoporosis: a participant-level meta-analysis. *Ann Intern Med* 2006; 145: 255-264.
21. Fang Y, Rivadeneira F, Van Meurs JB, et al. Vitamin D receptor gene BsmI and TaqI polymorphisms and fracture risk: a meta-analysis. *Bone* 2006; 39: 938-945

Ars Pharm 2010; 51.Suplemento 3:193-201.

22. Rodriguez S, Gaunt T, Day I. Hardy-Weinberg Equilibrium Testing of Biological Ascertainment for Mendelian Randomization Studies. *Am J Epidemiol*. 2009; 169(4): 505–514.
23. Ji GR, Yao M, Sun CY, Li ZH, Han Z. BsmI, TaqI, ApaI and FokI polymorphisms in the vitamin D receptor (VDR) gene and risk of fracture in Caucasians: A meta-analysis. *Bone* 2010; 47: 681-686.
24. Aerssens J, Dequeker J, Peeters J, Breemans S, Broos P, Boonen S. Polymorphisms of the VDR, ER and COL1A1 genes and osteoporotic hip fracture in elderly postmenopausal women. *Osteoporos Int* 2000; 11: 583-591.
25. Garnero P, Muñoz F, Borel O, Sornay-Rendu E, Delmas PD. Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms Are Associated with the Risk of Fractures in Postmenopausal Women, Independently of Bone Mineral Density. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 4829–4835.
26. Feskanich D, Hunter DJ, Willett WC, Hankinson SE, Hollis BW, Hough HL, et al. Vitamin D receptor genotype and the risk of bone fractures in women. *Epidemiology* 1998; 9:535-539.
27. Mencej S, Prezelj J, Kocijancic A, Kocjan T, Teskac K, Ostanek B, et al. The combinations of polymorphisms in vitamin D receptor, osteoprotegerin and tumor necrosis factor superfamily member 11 genes are associated with bone mineral density. *J Mol Endocrinol* 2009; 42, 239-247.
28. Horst-Sikorska W, Kalak R, Wawrzyniak A, Marcinkowska M, Celczynska-Bajew L, Slomski R. Association analysis of the polymorphisms of the VDR gene with bone mineral density and the occurrence of fractures. *J Bone Miner Metab* 2007; 25: 310-319.

Estudio 6: (Artículo original)

Página de presentación del manuscrito:

Elsevier Editorial System(tm) for Bone
Manuscript Draft

Manuscript Number:

Title: INFLUENCE OF VDR, DBP (GC) AND CASR GENE POLYMORPHISMS ON BONE MINERAL DENSITY, COMPRESSIVE STRENGTH INDEX AND RISK HIP FRACTURE IN CAUCASIAN POPULATION.

Article Type: Original Full Length Article

Keywords: CaSR, CSI; BMD; DBP, Osteoporosis Hip Fracture; VDR.

Corresponding Author: Dr. Margarita Aguilera,

Corresponding Author's Institution:

First Author: Karen Rojo-Venegas

Order of Authors: Karen Rojo-Venegas; Margarita Aguilera; Marisa Cañadas-Garre; John A Eisman; Antonio García-Sánchez; José L Martínez-Montes; José M Llamas; MaríaJosé Faus-Dáder; Miguel A Calleja-Hernández

Abstract: Osteoporosis is a complex multi-factorial disease with a strong genetic component characterized by reduced bone mass and an increased risk of fractures by fragility. The present study evaluated the clinical influence of Vitamin-D receptor (VDR), Vitamin-D Binding Protein (DBP) and Calcium Sensing Receptor (CaSR) gene polymorphisms (SNP) on bone mineral density (BMD), risk of hip fracture (HF) and compressive strength index (CSI). A pilot case-control study included 147 Spanish-Caucasian patients. Femoral-neck BMD (BMD-FN), lumbar spine BMD (BMD-LS), and CSI were obtained and calculated through DEXA data. The SNPs Bsm1, FokI (VDR); rs4588, rs7041 (DBP) and rs1801725, rs1042636, rs1801726 (CaSR) were genotyped. Pearson Chi2/Fisher tests were used to compare the distribution of the genotypes in both groups. ANOVA and ANCOVA were used to investigate and adjust the relation between genotypes and phenotype variables.

A significant difference was observed for individuals harbouring GG 986-CaSR, which presented higher risk of HF (OR: 2.65, CI95%: 1.21-5.80). Stratification in both groups according to VDR, DBP and CaSR genotype revealed differences for BMD-FN and FokI ($p=0.023$); rs7041-DBP and FNW ($p=0.031$), FN area ($p=0.033$), and CSI ($p=0.002$) in risk HF patients. However, no association was found in the control-patients.

These findings contribute to support modest association tendencies of FokI-VDR and rs7041-DBP SNPs with BMD-FN and CSI, respectively. Moreover, considering consistent statistical data, the non-mutated homozygous individuals for G986T CaSR showed more than two-fold increased risk HF, independently of BMD. The present results proved that CSI should not be used as unique predictor of risk HF.

Suggested Reviewers: Ron Van Schaik
r.vanschaik@erasmus.mc.nl

Gregory Livshits
grcgl@post.tau.ac.il

Vita Dolzan
vita.dolzan@mf.uni-lj.si

ABSTRACT

Osteoporosis is a complex multi-factorial disease with a strong genetic component characterized by reduced bone mass and an increased risk of fractures by fragility. The present study evaluated the clinical influence of Vitamin-D receptor (VDR), Vitamin-D Binding Protein (DBP) and Calcium Sensing Receptor (CaSR) gene polymorphisms (SNP) on bone mineral density (BMD), risk of hip fracture (HF) and compressive strength index (CSI). A pilot case-control study included 147 Spanish-Caucasian patients. Femoral-neck BMD (BMD-FN), lumbar spine BMD (BMD-LS), and CSI were obtained and calculated through DEXA data. The SNPs *Bsm1*, *FokI* (VDR); rs4588, rs7041 (DBP) and rs1801725, rs1042636, rs1801726 (CaSR) were genotyped. Pearson Chi²/Fisher tests were used to compare the distribution of the genotypes in both groups. ANOVA and ANCOVA were used to investigate and adjust the relation between genotypes and phenotype variables.

A significant difference was observed for individuals harbouring GG 986-CaSR, which presented higher risk of HF (OR: 2.65, CI_{95%}: 1.21-5.80). Stratification in both groups according to VDR, DBP and CaSR genotype revealed differences for BMD-FN and *FokI* (p=0.023); rs7041-DBP and FNW (p=0.031), FN area (p=0.033), and CSI (p=0.002) in risk HF patients. However, no association was found in the control-patients.

These findings contribute to support modest association tendencies of *FokI*-VDR and rs7041-DBP SNPs with BMD-FN and CSI, respectively. Moreover, considering consistent statistical data, the non-mutated homozygous individuals for G986T CaSR showed more than two-fold increased risk HF, independently of BMD. The present results proved that CSI should not be used as unique predictor of risk HF.

Keywords: CaSR, CSI; BMD; DBP, Osteoporosis Hip Fracture; VDR.

INTRODUCTION:

Osteoporosis is a systemic skeletal disease characterized by low bone mass and deteriorated bone microarchitecture leading an increased susceptibility to fracture risk (FR) [1]. Hip fracture (HF) is the most threatening osteoporotic fracture. Reduced bone strength at the proximal femur is the leading cause of HF [2]. The high mortality rate of HF can reach 30% in the first year after the fracture, and 40% in the second year [3]. In addition, 40% of people who survive does not regain their previous status and become dependent on other people for activities of daily living [4]. Osteoporosis is a multifactorial and polygenetic disease [5], thus the individual likelihood of having a fracture depends on the combination of several risk factors, such as low bone mineral density (BMD) and genetic polymorphisms [6]. BMD is the most used and the best clinical determinant to assess bone strength and predict FR [7]. Nevertheless, it has been estimated that over 50-70% patients who had suffered fractures did not presented "osteoporotic" BMD values [8]. It has been reported that other factors can take part in the estimation of hip strength, such as geometric parameters of the femoral neck. An example is the femoral neck width (FNW) [9]. It has been described that the greater FNW the greater resistance to fracture on the FN, irrespectively of area BMD [10], but the data are controversial [11]. Lower weight body was found to be associated to unfavourable changes in some of the geometric parameters of the FN, which subsequently compromises hip strength [12].

The concept of Compressive Strength Index (CSI) of the FN was developed because several bone phenotypes are linked to hip bone strength and risk HF in non-additive ways [13]. CSI is a function of bone size, body size, and BMD and are based on theoretical considerations from a biomechanical viewpoint [13]. CSI is calculated as $BMD \times FNW / weight$, its value is related to the withstand of the FN axis to compressive forces and it has been considered as a parameter that improves the assessment of hip bone strength and FR. Since the heritability of BMD, FNW, and weight are high [14], it is highly probable that CSI is influenced by genetic factors. However, the heritability estimation and the determination of putative genes responsible for CSI variation in humans have not been achieved yet [15].

Previous studies in osteoporosis have been focused on BMD with a strong genetic influence [16]. Since osteoporosis has a complex phenotype, and due to its epidemiologic interest, many related causative factors have been sought, making an effort specially directed to establish an association between specific responsible genes or gene groups whose effects could interact [17]. Current high-throughput methodologies as GWA studies have been performed on patients with osteoporosis in order to find and identify the most important and common gene variants associated with osteoporosis and FR [18]. Studies in different populations have found many associations to this disorder [19], but the results have been frequently controversial, particularly in those focused on the impact of polymorphism molecular structures. For this reason, the individual contribution of these polymorphisms in the pathogenesis of osteoporosis remains to be established.

Vitamin-D receptor (VDR) is a cofactor essential in serum calcium and phosphate homeostasis and bone metabolism [20]. However, several studies have shown conflicting results about the association between VDR gene

polymorphisms (SNPs) and FR. Five common SNPs (*BsmI*, *TaqI*, *Cdx2*, *Apal*, *FokI*) have been proposed to be associated to BMD and FR, but meta-analysis and a large-scale population studies on these SNPs differ in demonstrating associations [21,22,23,24].

Vitamin-D binding protein (DBP), also known as group-specific component of globulin [GC], is involved in the vitamin-D endocrine system, and therefore this gene is among the possible candidates for susceptibility to osteoporosis. DBP or GC globulin component is a serum protein with differential functions [25], and two of them involve skeletal metabolism: the first one is through vitamin-D endocrine system [20]. DBP binds to Vitamin-D metabolites and to the active form of vitamin-D (1,25(OH)₂D₃), at the sterol binding domain, transports vitamin-D to bone and other target tissues and stores and prolongs the half-life of circulating vitamin-D metabolites [26]. As a second function, serum DBP can be converted to a DBP-Macrophage activating factor (DBP-MAF) by deglycosylation of DBP at the non-sterol binding domain, which involves the osteoclast activating domain [27]. DBP-MAF plays a role in osteoclast differentiation and mediates bone resorption by direct activation of osteoclasts [28]. Hence, the contribution of DBP to bone metabolism is not only through the vitamin-D endocrine system, but also by direct influence on bone resorption. There are three common co-dominant phenotype alleles known as haplotypes: Gc1s, Gc2, Gc1f, differing by amino acid substitutions as well as glycosylation. These variations are identified by two SNPs in exon 11: rs4588 (C1307A) at codon 436 (T436K), and rs7041 (T1296G) at codon 432 (D432E) [25].

Calcium Sensing Receptor (CaSR), belongs to the G-protein coupled receptor super-family and serves as a sensor of the extracellular calcium levels in different tissues [29]. It is predominantly expressed in the parathyroid chief cells and tubular epithelial cells [30], but also in bone cells and recent data indicate this receptor can be involved in regulation of osteoclastic bone resorption [31]. Mutations of the CaSR gene results in loss or gain of function, which leads to significant alterations in circulating concentrations of calcium, which may result in either hyper or hypocalcemia [32]. Studies in different populations have investigated associations between BMD and the G986T, A990G and C1011G CaSR SNPs and they have reported not significantly influence on fracture rate or BMD [33]. However, other studies have found association with at least one CaSR SNP [34,35,36]. In addition, G986T SNP has been associated to circulating calcium level and BMD or bone and mineral metabolism disease in healthy adolescent patients [37,38], healthy postmenopausal women [39] and postmenopausal women [40]. These studies have established the role of the CaSR SNPs in calcium homeostasis and bone metabolism. However, the role of CaSR SNPs in BMD remains controversial, and therefore it constitutes an interesting candidate gene for its evaluation.

Thus, the present pilot assay has explored the influence of clinically relevant VDR, DBP and CaSR gene SNPs on BMD, risk of HF and CSI in a Caucasian-Spanish population.

MATERIAL AND METHODS

Patients

The study design was a pilot case-control. Patients were Caucasian born in Spain and recruited at the Virgen de las Nieves University Hospital (VNUH). Case group was recruited from Orthopaedics & Traumatology and Rheumatology Departments and Traumatology Outpatient, while the control group was recruited from Rheumatology Outpatient and Nuclear Medicine Department. The case group consisted in patients over 55 years old with high risk of HF (according to FRAX index), including patients with BMD of osteopenia (T-score between -1 and -2.5) and/or osteoporosis (T-score \leq -2.5). The control group included patients over 55 years old, functionally independent with normal BMD. Control group patients were excluded when they fulfilled any of the following criteria: previous hip fracture, rheumatoid arthritis, type 1 diabetes, hyperparathyroidism, bone and calcium-phosphorus metabolism disease, Paget disease, cystic fibrosis, hypogonadism or premature menopause (menopause before age 45), chronic malnutrition or malabsorption, chronic liver disease, medications known to affect bone metabolism in the previous 3 years (calcium, vitamin D, antiresorptive/anabolic drugs, etc).

The Clinical Research & Ethics Committee of the VNUH approved the study (# ref. 08/116) according to the Declaration of Helsinki and the Spanish Biomedical Research Law. Informed consent was obtained from every participant in both groups.

Anthropometric, Bone Mineral Density, CSI and Hip Fracture Measurements.

In order to evaluate whether the VDR, DBP and CaSR SNPs were associated with BMD, we performed measurements of BMD (g/cm^2) in each patient. For both groups, BMD area of the femoral neck (FN) and lumbar spine (LS, L2-L4), as well as bone area (cm^2) at the femoral neck (FN) were measured by a Hologic QDR 4500 C Dual-energy x-ray absorptiometry (DEXA) scanner (Hologic, Bedford, MA, USA). The scanner was calibrated daily using appropriate phantoms. In both groups, the measurements were taken from the right side, but in case of prosthesis in the case group, it was measured in the opposite side.

Height and weight anthropometric measurements were taken by a nurse using a calibrated balance beam scale and a standard wall-mounted ruler. Body mass index (BMI, Kg/m^2) was calculated by DEXA, as weight (Kg) divided by height squared (m^2).

To evaluate whether the VDR, DBP and CaSR SNPs were associated with CSI, we used the formula $\text{CSI} = (\text{BMD} \times \text{FNW})/\text{weight}$ [13], using a measurement data of BMD to FN level (g/cm^2) in each patient. FNW is the periosteal diameter of the FN and can be approximated by dividing the area bone size of the FN (FNa) by the width of the region of interest (in Hologic DEXA systems, the width of the FN region is standardized at 1.5 cm) [15]. The adjustment equation for the study samples was $\text{adjusted BMD} (\text{g}/\text{cm}^2) = \text{measured BMD} (\text{g}/\text{cm}^2) - 0.006375 \times (58.39 - \text{age} (\text{years})) + 0.008961 \times (23.65 - \text{BMI} (\text{Kg}/\text{cm}^2))$.

To evaluate whether the VDR, DBP and CaSR SNPs were associated with risk of HF, we confirmed the osteoporotic fracture in each patients by conventional radiography or computed tomography. Fractures were not classified according to fracture mechanism.

SNPs Analysis/Genotyping.

To evaluate the SNP association with phenotype variants, we performed genotype as follows:

Blood samples (3 ml) were collected in BD Vacutainer® K₃E Plus Blood Collection Tubes (BD, Plymouth, UK), and DNA was extracted from white blood cells using the QiaAmp® DNA Mini Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany). For all polymorphisms, polymerase chain reaction (PCR) was performed on an Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler (Life Technologies Corporation, Carlsbad, California, USA) in a 25 µL final volume, containing 50 ng of DNA.

VDR SNPs (*rs1544410-BsmI*, *rs10735810-FokI*), were determined by PCR-RFLP. *BsmI* and *FokI* VDR SNPs amplification reaction was: 200 nM dNTPs (Roche, Indianapolis, IN, USA), 400 nM of each primer, 4 mM MgCl₂, 1x PCR Buffer II and 0,15 U of AmpliTaq Gold (Life Technologies Corporation, Carlsbad, USA). Amplification program was conducted by a touchdown PCR, with an initial denaturation step of 15 min at 94°C, followed by 35 cycles of 30 sec at 94°C, 60 sec at 65-55°C (the annealing temperature decreased in 0.5°C every cycle), 30 sec at 72°C, and a final elongation step of 7 min at 72°C. Amplified DNA was digested with the correspondent restriction enzyme overnight (T° C showed table 1), according to the manufacturer's specifications (New England Biolabs® Inc, Massachusetts, USA). The digestion fragments were analysed on 3.5-4% agarose gel. All results were confirmed by sequencing.

DBP SNPs (*rs4588*, *rs7041*) and CaSR SNPs (*rs1042636*, *rs1801725*, *rs1801726*) were determined by PCR and direct sequencing.

PCR reaction for DBP included 200 nM dNTPs (Roche Applied Science, Hague Road, IN, USA), 600 nM of each primer, 1.5 mM MgCl₂, 1x PCR Buffer II and 0,75 U of AmpliTaq Gold® DNA Polymerase (Life Technologies Corporation, Carlsbad, CA, USA).

PCR reaction for CASR included 200 mM dNTPs (Roche Applied Science, Hague Road, IN, USA), 400 nM of each primer, 4 mM MgCl₂, 1x PCR Buffer II and 0,75 U of AmpliTaq Gold® DNA Polymerase (Life Technologies Corporation, Carlsbad, CA, USA). PCR amplification program for CaSR and DBP SNPs were: initial denaturation 10 minutes at 95°C; them 35 cycles at 95°C for 30 sec, followed by 60°C for 1 minute and 72°C for 1 minute; final elongation step at 72°C for 10 min.

PCR products purified using the MinElute® PCR Purification Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany). Sequencing reaction was performed using 5 µl of Big Dye® Terminator v1.1 cycle sequencing reactive (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), 0.5 µl of the purified PCR product and 2 pmol of the reverse PCR primer. Sequencing products were purified using the DyeEx 2.0 Spin Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany) and analyzed on an ABI PRISM® 3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

The table 1 summarizes specific genes, SNPs positions, primers (forward/reverse), genotyping methodology, PCR annealing temperature (°C), PCR product size, restriction enzyme and restriction fragments size (bp).

Statistical Analysis.

All genotyping results were tested for Hardy-Weinberg equilibrium, using the Hardy-Weinberg calculator tool [41].

The statistical calculation was performed using SPSS software packages (version 15; SPSS, Inc. Chicago, Illinois, USA). Continuous normal data were expressed as mean \pm SD or median [P₂₅, P₇₅] in case of non-normality. Categorical variables were expressed as number of subjects and percentage.

Normality was tested with Shapiro-Wilks to decide the use of parametric or non-parametric methods.

T-student's test for independent samples was used to compare quantitative variables between case and control groups. Mann-Whitney test was used by no-normality variables. Pearson Chi² test was used to compare the distribution of the genotypes in both groups. When the expected frequencies were below to 5 or above to 20%, data were gathered in the corresponding cells. Fisher test was used for 2x2 tables.

Analysis of covariance (ANCOVA) model was adjusted for potential confounders, such as age, BMI used to compare the BMD-LS variable and BMD-FN between groups (case and control), considering the genotype. Adjustment for multiple comparisons test was performed. ANOVA was used to investigate the relation between genotypes and BMI, BMD-LS, BMD-FN, corrected BMD-LS, corrected BMD-FN, bone geometric parameters (CSI, FNW). Tukey post-hoc test was used to evaluate 2x2 differences. Kruskal-Wallis test was used in case of non-normality. All analyses were performed independently for case and control groups. P-values <0.05 were considered statistically significant.

RESULTS

Clinical data

One hundred forty seven Caucasian-Spanish participants were included in the study. One hundred and two (92 women and 10 men) belonged to case group, average aged 68 \pm 9.10 years, 50 of which had suffered a proximal femur (hip) fracture due to simple low-energy trauma falls or resting, and the others showed some risk fracture factor. The control group included 45 bone healthy patients (41 women and 4 men), with an average age of 66 \pm 3.36 years.

A summary of the clinical characteristics, densitometric and geometric parameters from case and control groups are shown in Table 2. Patients in risk of HF (case group) had significant lower weight, height and BMI, but similar age. As expected, case patients presented lower BMD values, and BMD-LS and BMD-FN values were statistically different between case and control patients. On the other hand, it is remarkable that FNW and FN_a values were similar in both groups. In addition, CSI, the parameter that summarizes and adjusts the impact of bone phenotype parameters showed similar values in both groups.

Genotype population distribution

Genotype frequency distributions of the seven polymorphisms examined from the subjects analyzed are shown in Table 3. The allele distributions were all in Hardy-Weinberg equilibrium in the two study groups.

BsmI (G63980A) and *FokI* (T2C) VDR gene polymorphisms showed the same frequencies between different groups; consequently, no significant differences between case and control groups were found. As well, in DBP gene, for the SNP rs4588 (C1307A), was not show significant differences, presenting higher frequency in the noncarriers (CC genotype). For SNP rs7041 (T1296G), heterozygous GT presented the highest frequency, without significant differences in both population.

Conversely, significant differences between case group and bone healthy population were only found when analysing genotype and allele frequency data regarding CaSR gene, specifically for G986T polymorphism, which presented the highest frequency distributions for GG genotype noncarriers (Genotype OR_{GT+TT/GG}: 2.65, CI: 1.21-5.80, p=0.021; and allele analysis OR_{GT}: 2.1, CI: 1.05-4.08, p=0.042). However, for A990G SNP, noncarriers AA presented the highest frequency in both populations. It is remarkable the presence of an individual presenting uncommon homozygous GG in Caucasian population, interestingly found in the control group. Finally, CC genotype noncarriers for C1011G SNP presented similar highest frequencies in both groups.

The combined analysis of the three VDR polymorphic markers (haplotypes) did not show relevant association between targeted patients with hip fracture risk and control group. The same tendency was found for the two DBP SNPs and the three CaSR polymorphic markers analyzed (data not shown).

Genotype-Bone Mineral Density (BMD), Genotype-Geometric bone parameters (FNW, CSI) and genotype-risk hip fracture analyses

In order to assess the clinical impact of VDR, DBP and CaSR gene polymorphisms on case patients comparing to bone healthy subjects, BMD parameters (FN and LS), CSI (FNW, FNa) measurements and risk of hip fracture were crossed analyzed for stratification data according to genotype separately within each of the two study groups (Table 4). Moreover, after multiple comparison adjustments p values remain invariable (data not shown).

Specific results obtained for *BsmI*-VDR SNP did not show any association between the studied phenotype parameters and genotypes. Moreover, *FokI*-VDR analyzed did not reveal associations in the control group, but showed to be associated to BMD-FN (p=0.023) in the case group, where the posthoc Tukey test showed that TT patients had significantly higher values than CT patients (p=0.008).

For DBP gene SNP, rs4588 (C1307A) did not show relation in any group of patients. For rs7041 (T1296G) did not show association in control group, but showed two significant values for the cases, one for FWN (p=0.031), where TT patients showed higher values than GT (Tukey Test p=0.020); and other for CSI (p=0.002), where GT patients showed curiously lower values than both homozygous genotypes (2.92 g/Kg m ± 0.90). Considering that none of these BMD measurements were related with differential genotypes, we proceeded to

calculate the impact of other parameter affecting CSI, FN_a (that represent the area of FN), and this association resulted to be significant ($p=0.033$) between TT and GT patients ($p=0.020$).

G986T, A990G, and C1011G SNPs of CaSR gene did not show any association with the clinical parameters studied in any group of patients. However, when G986T SNP was analyzed independently of modified and non modified phenotype values, it showed a significant difference on the risk of hip fracture (table 3), where the presence of GG genotype demonstrated to have more than two-fold increased risk of HF compared with patients with genotype GT or TT.

DISCUSSION

Research concerning complex, multifactorial and heterogeneous phenotype diseases, such as osteoporosis, has been targeted for studies establishing impact links between genetic and environmental factors [42]. The examination of several validated polymorphisms as biomarkers and effective genotype diagnostic tools would contribute to give relative picture of susceptibility [17]. In addition, the use of well-defined population groups is mandatory as relevant research designing study step. Factors such as race, sex, age, geometric bone site (hip, lumbar-spine) and environmental interaction (exercise, smoking, diet, calcium intake, estrogens levels) may all have a significant impact on the outcome of association studies making difficult comparison studies. Thus, in the same way, several factors can affect genetic associations found on present study, which can explain discrepancies or similarities observed in other investigations.

In our present research study, we provide a contribution by testing the influence of clinical relevance from VDR, DBP and CaSR gene polymorphisms on bone BMD, risk of HF and CSI parameters. It is noteworthy that, to our knowledge, this is the first time that an evaluation and results of DBP and CaSR genes have been performed in related osteoporosis Caucasian-Spanish population.

Thus, according to our general data (table 2), patients with risk factors of HF show significant differences compared with healthy patients on BMD despite similar age. It is well known that adaptive changes in proximal femoral anatomy are related to elderly and decreased BMD values. With aging, the amount of bone tissue gradually declines and structural elements are lost [43]. It is thought that other adaptive changes related to bone morphology and mineral distribution arise from genetic properties. The different adaptations result in variable bone strengths and degrees of fracture risk. However, the measurement of geometry parameters for both groups in the present study was similar ($p=0.635$), and therefore, CSI value by itself, in our study, has been worthless as a predictor of HF risk [44]. Therefore, it is possible to think there must be in our populations some putative genetic links to explain these differences.

In this genetic context research, we did not find any association between genotype *BsmI*, BMD values and risk fracture in case and control groups, and these remained stable even after stratification and several adjustments. However, in the group of patients with risk factors, a clear association in the BMD-FN ($p=0.023$) with *FokI* (T2C) genotype was found, with TT patients having significantly higher values than CT (0.72 g/cm^2 vs. 0.61 g/cm^2).

Regarding to VDR gene these findings are consistent with the controversy found in previous numerous studies since 1994 [21-24,45-47]. Three meta-

analysis performed in elderly women and/ men (fractured, osteoporotic and healthy) have summarized studies of association between VDR SNP and BMD and/or risk of HF. Two of them meta-analysis determined that there was no association between these specific parameters [22,24], and the third one found out a modest significance between risk of HF and GG *BsmI* genotypes [23].

On the other hand, a study performed in women and elderly men with or without osteoporosis demonstrated that in osteoporotic postmenopausal women, there was an association between BMD-FN values and GG genotype *BsmI*, and that in elderly men there was a significant association between *FokI* SNP and BMD-FN and BMD-LS measurement [45]. In addition, in a cohort study, including postmenopausal women from 43-69 years old, AA genotype of *BsmI* was associated with lower BMD and with more than two-fold increased risk of HF compared with the GG genotype [46]. Yet, another study figured out an association between *FokI* SNP and BMD-LS showing the dose effect of allele C [47]. We did not find any relation between *BsmI* and *FokI* with geometric parameters evaluated. Moreover, it was not possible to compare the results obtained on CSI and geometric parameters and these SNPs with other studies, because to our knowledge there are no previous approaches about this issue.

On the other hand, in our study no relevant results about haplotypes were found. However, other authors described strong linkage disequilibrium between *BsmI*-*TaqI*-*Apal* SNP in Caucasian population, and an association was observed between the occurrence of fracture and the GCT haplotypes of *BsmI*, *Apal* and *TaqI*, but no significant association with BMD-FN or BMD-LS [47].

In relation to DBP gene polymorphisms, few studies have evaluated the specific impact of rs7041 and rs4588 SNPs on BMD-LS, BMD-FN and risk fracture. Therefore, it has been difficult to compare our results. We did not find differences in these SNP frequencies neither case nor control groups. Nevertheless, when they were analysed together to BMD, FNW and CSI in the case group we found two significant associations regarding rs7041 SNP (T1296G). Interestingly, one of this was regarding FNW ($p=0.031$), TT patients showing higher phenotypic values than GT patients ($p=0.020$). The other assumed linkage was with CSI ($p=0.002$). In this geometric parameter the two significant differences were for TT and GG patients ($p=0.003$ and $p=0.027$, respectively), showing very similar trait CSI values despite being opposite genotype. It was possible due to this hip measurable effect through a formula including several parameters (FNW, FNa, body weight) that is silencing the genetic impact on fragility bone. Moreover, different DBP SNPs have been previously described as moderate determinants for global CSI values [48]. There are only significant studies performed for evaluating rs7041, rs4588 clinical effects on predicting serum vitamin D concentrations that are also supposed to be determinant in anabolism bone [25,49].

In a recent study, a large-scale prospective population-based cohort of elderly Caucasians individuals, authors did not find significant association of rs7041 and rs4588 SNPs and neither with haplotype 1 (Gc1s), haplotype 2 (Gc2) and haplotype 3 (Gc1f) in relation to BMD and fracture risk (hip, vertebral and other). However, when these DBP gene polymorphisms analysis was combined with alleles of VDR there was association with fracture osteoporosis risk (subjects homozygous VDR block 5- haplotype 1 showing a third of increased fracture risk compared to noncarriers) [50]. All these results suggest the need to

evaluate links of these genetic with environmental factors, especially with diet component as vitamin D, calcium and phosphorous concentrations [51].

Bone metabolism is a complex trait that undoubtedly is affected by phosphorous/calcium balance. In this regard, few pharmacogenetics and nutrigenomics CaSR gene SNP studies have evaluated associations between genotype and osteoporosis parameters in Caucasians. In our study, we investigated for the first time the effect of G986T, A990G and C1011G SNPs on BMD, risk of HF and CSI variables. We did not find any association on BMD, even when these values were adjusted. The majority of the studies conducted in several populations (English, Hungarian, Australian and Italian) agree with our results about BMD because none of SNPs G986T, A990G and C1011G showed significant influence on BMD-LS, BMD-forearm and BMD total hip [33,35,36]. On the other hand, studies that have found associations between CaSR polymorphisms and BMD have been focused in adolescent population [37,38,39]. These conflicting results may be due in part to small sample sizes, differences in the populations based in their health status, sex, and age, that can have an influence on a better adaptation capability of whole metabolism. Similarly, but analysing CaSR SNP combined with VDR SNP gene results from case-control study in premenopausal Jewish Israeli patients with low BMD, a significant difference was found between lower BMD women and healthy control women regarding heterozygosity for G986T CaSR [52].

Furthermore, interestingly we found a significant association for the first time that there is more than two-fold risk of HF in individual homozygous non-carriers for G986T in Caucasian Spanish population. On the other hand, a large cohort in Australian study did not document relevant finding about this SNP with fractures risk [34]. However, an Italian postmenopausal study did not evidence the lack of association with the bone fracture risk based in the power statistical values obtained [36]. Nor does, any study have been previously approaching these SNPs together with CSI.

The pilot character of the present study evidences some limitations to establish an association; then, in spite that results were stratified conveniently, they have not been yet replicated in other samples or supported by previous functional studies as is recommended by STREGA [53].

Moreover, in general, the influence of genetics factors over fragility fracture risk may become even more difficult to be identified in elderly populations. The lack of association of SNPs in most of studies emphasizes the need for new approaches to replicate GWAs data, thus new biomarkers and applying advanced therapy research (tissue, genetic and cellular therapies) could be useful to identify other candidate susceptibility gene contributing to osteoporosis, osteoporotic fracture risk and the development of drugs that preferentially target some receptors in bone cells⁵⁴.

In the present work there was not found any associations between CaSR SNPs and the quality/quantity bone parameters evaluated.

In summary, a special association was found between the SNP *FokI* (VDR gene) and BMD-FN. Furthermore, rs7041 (DBP gene SNP) was associated with low CSI and low FNW values. Individuals non mutated homozygous for G986T SNP have more than two-fold increased risk of HF, independently of BMD. Finally, considering consistent statistical genetic associations identified within phenotypic parameters, our results contribute to support the important role of

VDR, DBP and CaSR on the risk HF. However, from this study it becomes clear that CSI should not be used as unique predictor of risk HF.

Acknowledgements

The authors wish to acknowledge the staff of Department of Traumatology for assisting patients suffering hip fracture risk factors, the technicians from Department Nuclear Medicine for the densitometric analyses, and nurses from Department of Clinical Analysis for patient blood collection. In addition, we wish to kindly thank Manuela Expósito for the support in statistic analysis.

REFERENCES:

- [1] National Institutes of Health (USA). Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis. JAMA 2001; 285:785-795.
- [2] Lauritzen JB. Hip fractures. Epidemiology, risk factors, falls, energy absorption, hip protectors, and prevention. Dan Med Bull 1997; 44(2):155-68.
- [3] Haentjens P, Magaziner J, Colón-Emeric CS, Vanderschueren D, Milisen K, Velkeniers B, et al. Meta-analysis: excess mortality after hip fracture among older women and men. Ann Intern Med 2010; 152:380-390.
- [4] National Osteoporosis Foundation (NOF). Clinical's Guide to prevention and treatment of osteoporosis. Washington, DC. 2008. www.nof.org/professionals/Clinicians_Guide.htm
- [5] Ralston SH. Genetic control of susceptibility to osteoporosis. J Clin Endocrinol Metab 2002; 87:2460-2466.
- [6] Rojo K, Aznarte P, Calleja MA, Contreras O, Martínez JL, López-Mezquita B, et al. Factors of risk in an elderly population: evaluation for the prevention of hip fractures. Rev Cir Ortp Traumatol 2010; 54:167-173.
- [7] Kanis JA. Diagnosis of osteoporosis and assessment of fracture risk. Lancet 2002; 359:1929-1936.
- [8] Nguyen ND, Eisman JA, Center JR, Nguyen TV. Risk factors for fracture in non-osteoporotic men and women. J Clin Endocrinol Metab 2007; 92:955-962.
- [9] Black DM, Bouxsein ML, Marshall LM, Cummings SR, Lang TF, Cauley JA, et al. Proximal femoral structure and the prediction of hip fracture in men: a large prospective study using QCT. J Bone Miner Res 2008; 23:1326-1333.
- [10] Cheng XG, Lowet G, Boonen S, Nicholson PH, Brys P, Nijs J, et al. Assessment of the strength of proximal femur in vitro: relationship to femoral bone mineral density and femoral geometry. Bone 1997; 20:213-218.
- [11] Faulkner KG, Cummings SR, Black D, Palermo L, Gluer CC, Genant HK. Simple measurement of femoral geometry predicts hip fracture: the study of osteoporotic fractures. J Bone Miner Res 1993; 8:1211-1217.
- [12] Brownbill RA, Ilich JZ. Hip geometry and its role in fracture: what do we know so far? Curr Osteoporos Rep 2003; 1:25-31.
- [13] Karlamangla AS, Barrett-Connor E, Young J, Greendale GA. Hip fracture risk assessment using composite indices of femoral neck strength: the Rancho Bernardo study. Osteoporos Int 2004; 15:62-70.
- [14] Peacock M, Koller DL, Lai D, Hui S, Foroud T, Econs MJ. Sex-specific quantitative trait loci contribute to normal variation in bone structure at the proximal femur in men. Bone 2005; 37:467-473.
- [15] Rivadeneira F, Houwing-Duistermaat JJ, Beck TJ, Janssen JA, Hofman A, Pols HA, et al. The influence of an insulin-like growth factor I gene promoter polymorphism on hip bone geometry and the risk of nonvertebral fracture in the elderly: the Rotterdam Study. J Bone Miner Res 2004; 19:1280-1290.
- [16] Slemenda CW, Turner CH, Peacock M, Christian JC, Sorbel J, Hui SL, et al. The genetics of proximal femur geometry, distribution of bone mass and bone mineral density. Osteoporos Int 1996; 6:178-182.
- [17] Rojo K, Aguilera M, Eisman J, García A, Faus MJ, Calleja MA. Pharmacogenetics of osteoporosis-related bone fractures: moving towards the harmonization and validation of polymorphism diagnostic tools. Pharmacogenomics 2010; 11:1287-1303.

- [18] Richards JB, Rivadeneira F, Inouye M, Pastime TM, Soranzo N, Wilson SG, et al. Bone mineral density, osteoporosis, and osteoporotic fracture: a genome-wide association study. *Lancet* 2008; 371:1505-1512.
- [19] Rivadeneira F, Styrkársdóttir U, Estrada K, Halldórsson BV, Hsu YH, Richards JB, et al. Genetic Factors for Osteoporosis (GEFOS) Consortium. Twenty bone-mineral-density loci identified by large-scale meta-analysis of genome-wide association studies. *Nat Genet* 2009; 41:1199-1206.
- [20] Jurutka PW, Bartik L, Whitfield GK, Mathern DR, Barthel TK, Gurevich M, et al. Vitamin D receptor: key roles in bone mineral pathophysiology, molecular mechanism of action, and novel nutritional ligands. *J Bone Miner Res* 2007; 22: V2-V10.
- [21] Thakkinstian A, D'Este C, Eisman J, Nguyen T, Attia J. Meta-analysis of molecular association studies: vitamin D receptor gene polymorphisms and BMD as a case study. *J Bone Miner Res* 2004; 19:419-428.
- [22] Uitterlinden AG, Ralston SH, Brandi ML, Carey AH, Grinberg D, Langdahl BL, et al. The association between common vitamin D receptor gene variations and osteoporosis: a participant-level meta-analysis. *Ann Intern Med* 2006; 145:255-264.
- [23] Fang Y, Rivadeneira F, Van Meurs JB, Pols HA, Ioannidis JP, Uitterlinden AG. Vitamin D receptor gene Bsm1 and Taq1 polymorphisms and fracture risk: a meta-analysis. *Bone* 2006; 39:938-945.
- [24] Ji GR, Yao M, Sun CY, Zhi-Hao Li, Zhu Han. Bsm1, Taq1, Apal and FokI polymorphisms in the vitamin D receptor (VDR) gene and risk of fracture in Caucasians: A meta-analysis. *Bone* 2010; 47(3):681-686.
- [25] Fu L, Yun F, Oczak M, Wong BY, Vieth R, Cole DE. Common genetic variants of the vitamin D binding protein (DBP) predict differences in response of serum 25-hydroxyvitamin D [25(OH)D] to vitamin D supplementation. *Clin Biochem* 2009; 42:1174-1177.
- [26] White P, Cooke N. The multifunctional properties and characteristics of vitamin D-binding protein. *Trends Endocrinol Metab* 2000; 11:320-327.
- [27] Haddad JG. Plasma vitamin D-binding protein (Gc-globulin): multiple tasks. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1995; 53:579-582.
- [28] Schneider GB, Benis KA, Flay NW, Ireland RA, Popoff SN. Effects of vitamin D binding protein-macrophage activating factor (DBP-MAF) infusion on bone resorption in two osteopetrotic mutations. *Bone* 1995; 16:657-662.
- [29] Pearce SH, Thakker RV. The calcium-sensing receptor: insights into extracellular calcium homeostasis in health and disease. *J Endocrinol* 1997; 154:371-378.
- [30] Brown EM, Hebert SC. Calcium-receptor-regulated parathyroid and renal function. *Bone* 1997; 20: 303-309.
- [31] Kameda T, Mano H, Yamada Y, Takai H, Amizuka N, Kobori M, et al. Calcium-sensing receptor in mature osteoclasts, which are bone resorbing cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 245:419-422.
- [32] Pearce SH, Brown EM. Disorders of calcium ion sensing. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81:2030-2035.
- [33] Harding B, Curley AJ, Hannan FM, Christie PT, Bowl MR, Turner JJ, et al. Functional characterization of calcium sensing receptor polymorphisms and absence of association with indices of calcium homeostasis and bone mineral density. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006; 65:598-605.

- [34] Bollerslev J, Wilson SG, Dick IM, Devine A, Dhaliwal SS, Prince RL. Calcium-sensing receptor gene polymorphism A986S does not predict serum calcium level, bone mineral density, calcaneal ultrasound indices, or fracture rate in a large cohort of elderly women. *Calcif Tissue Int* 2004; 74: 12-17.
- [35] Takács I, Speer G, Bajnok E, Tabák A, Nagy Z, Horváth C, et al. Lack of association between calcium-sensing receptor gene "A986S" polymorphism and bone mineral density in hungarian postmenopausal women. *Bone* 2002; 30:849–852.
- [36] Cetani F, Pardi E, Borsari S, Vignali E, Dipollina G, Braga V, et al. Calcium-sensing receptor gene polymorphism is not associated with bone mineral density in Italian postmenopausal women. *Eur J Endocrinol* 2003; 148:603-607.
- [37] Lorentzon M, Lorentzon R, Lerner UH, Nordström P. Calcium sensing receptor gene polymorphism, circulating calcium concentrations and bone mineral density in healthy adolescent girls. *Eur J Endocrinol* 2001; 144:257-261.
- [38] Cole DE, Vieth R, Trang HM, Wong BY, Hendy GN, Rubin LA. Association between total serum calcium and the A986S polymorphism of the calcium-sensing receptor gene. *Mol Genet Metab* 2001; 72:168-174.
- [39] Cole DE, Peltekova VD, Rubin LA, Hawker GA, Vieth R, Liew CC, et al. A986S polymorphism of the calcium-sensing receptor and circulating calcium concentrations. *Lancet* 1999; 353:112-115.
- [40] Tsukamoto K, Orimo H, Hosoi T, Miyao M, Ota N, Nakajima T, et al. Association of bone mineral density with polymorphism of the human calcium-sensing receptor locus. *Calcif Tissue Int* 2000; 66:181-183.
- [41] Rodriguez S, Gaunt T, Day I. Hardy-Weinberg Equilibrium Testing of Biological Ascertainment for Mendelian Randomization Studies. *Am J Epidemiol.* 2009 February 15; 169(4):505–514.
- [42] Ralston SH, Uitterlinden AG. Genetics of osteoporosis. *Endocr Rev.* 2010; 31(5):629-662.
- [43] Seeman E, Tsalamandris C, Formica C, Hopper JL, McKay J. Reduced femoral neck bone density in the daughters of women with hip fractures: the role of low peak bone density in the pathogenesis of osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1994; 9: 739-743.
- [44] Na Yu, Yong-Jun Liu, Yufang Pei, Lei Zhang, Shufeng Lei, Niraj R. Kothari, et al. Evaluation of Compressive Strength Index of the Femoral Neck in Caucasians and Chinese. *Calcif Tissue Int* 2010; 87(4):324-32.
- [45] Mencej S, Preželj J, Kocijancic A, Kocjan T, Teskac K, Ostanek B, et al. The combinations of polymorphisms in vitamin D receptor, osteoprotegerin and tumor necrosis factor superfamily member 11 genes are associated with bone mineral density. *J Mol Endocrinol* 2009; 42: 239-247.
- [46] Feskanich D, Hunter DJ, Willett WC, Hankinson SE, Hollis BW, Hough HL, et al. Vitamin D receptor genotype and the risk of bone fractures in women. *Epidemiology* 1998; 9:535-539.
- [47] Horst-Sikorska W, Kalak R, Wawrzyniak A, Marcinkowska M, Celczynska-Bajew L, Ryszard Slomski. Association analysis of the polymorphisms of the VDR gene with bone mineral density and the occurrence of fractures. *J Bone Miner Metab* 2007; 25:310-319.

- [48] Xu XH, Xiong DH, Liu XG, Guo Y, Chen Y, Zhao J, et al. Association analyses of vitamin D-binding protein gene with compression strength index variation in Caucasian nuclear families. *Osteoporos Int* 2010; 21(1): 99–107.
- [49] Engelman CD, Fingerlin TE, Langefeld CD, Hicks PJ, Rich SS, Wagenknecht LE, et al. Genetic and environmental determinants of 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D levels in Hispanic and African Americans. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93(9):3381-3388.
- [50] Fang Y, van Meurs JB, Arp P, van Leeuwen JP, Hofman A, Pols HA, et al. Vitamin D binding protein genotype and osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 2009; 85: 85-93.
- [51] Stathopoulou MG, Dedoussis GV, Trovas G, Katsalira A, Hammond N, Deloukas P, et al. Low-density lipoprotein receptor-related protein 5 polymorphisms are associated with bone mineral density in Greek postmenopausal women: an interaction with calcium intake. *J Am Diet Assoc* 2010; 110(7):1078-83.
- [52] Eckstein M, Vered I, Ish-Shalom S, Ben Shlomo A, Shtriker A, Koren-Morag N, et al. Vitamin D and Calcium-Sensing Receptor Genotypes in Men and Premenopausal Women with Low Bone Mineral Density. *Isr Med Assoc J* 2002; 4:340-344.
- [53] Little J, Higgins JP, Ioannidis JP, Moher D, Gagnon F, von Elm E, et al. STrengthening the REporting of Genetic Association Studies (STREGA)—an extension of the STROBE statement. *Genet Epidemiol* 2009; 33(7):581-98.
- [54] Marie PJ. The calcium-sensing receptor in bone cells: a potential therapeutic target in osteoporosis. *Bone* 2010; 46(3):571-6.

Tablas

Table 1: Summary table of SNPs features and genotyping methodology.

Gene	SNP	SNP Position	Primers (F/R)	Methodology	T ^a	PCR Product Size (bp)	RE (T _d)	Restriction Fragments Size (bp)	Allele
VDR	rs1544410 (BsmI)	G63980A	F: 5'-GGCAACCTGAAGGGAGAGCGTA-3' R: 5'-CTCTTTGGACCTCATCACCAGAC-3'	PCR-RFLP*	55-65	522	BsmI (65°C)	259+263	G
	rs2228570 (FokI)	T2C	F: 5'-GCTGGCCCTGGCACTGACTCTGCTCT-3' R: 5'-ATGGAACACCTTCTCTCCCTC-3'					207,60	T
DBP	rs4588 rs7041	C1307A T1296G	F: 5'-GGCATGTTTCACTTTCTGATCTC-3' R: 5'-ACAGCAGTTGGAGGCAAGT-3'	PCR- Sequencing	55	283	-	-	A,C
	CaSR	rs1042636 rs1801725 rs1801726	A990G G986T C1011G					F: 5'-AGAAGGTCATCTTTGGCAGGGCA-3' R: 5'-TCTTCTCAGAGGAAAGGAGTCTGG-3'	PCR- Sequencing

DBP: Vitamin D binding protein. VDR: Vitamin D receptor. CaSR: Calcium sensing receptor. F: forward. R: reverse. PCR: Polymerase Chain Reaction. RFLP: restriction fragment length polymorphism. T^a: annealing temperature (°C). T_d: digestion temperature (°C). RE: restriction enzyme. * was checked by PCR-Sequencing.

Tablas

Table 2: Comparison of clinical and densitometric parameters in case and control patients.

Phenotypes Characteristics	Case Group (mean ± SD)	Control Group (mean ± SD)	p values
Age (years)	68.55±9.10	66.00±3.36	0.071
Weight (Kg)	68.66±11.15	80.60±14.71	<0.001*
Height (cm)	1.54±0.073	1.62±0.075	<0.001*
Body mass index (Kg/cm ²)	28.67±4.86	30.67±5.21	0.026
BMD-LS (g/cm ²)	0.77±0.12	1.05±0.11	<0.001*
BMD-FN (g/cm ²)	0.62±0.11	0.85±0.09	<0.001*
FNa (cm ²)	4.37±0.81	4.63±0.85	0.075
FNW (cm)	2.91±0.54	3.08±0.56	0.078
CSI (g/Kg m)	3.21±1.10	3.36±0.82	0.635

*Significant results are highlighted in bold (p<0.05).

BMD-FN: bone mineral density of femoral neck. BMD-LS: bone mineral density of lumbar spine. FNa: Femoral neck area. CSI: compressive strength index.

Tablas

Table 3: Genotype population analysis and allele frequencies in case and control groups of polymorphisms on the genes coding for the Vitamin D Receptor (VDR), Vitamin D Binding Protein (DBP) and Calcium Sensing Receptor (CaSR).

Gene (SNP, position)	Genotype /allele	Case Group n (%)	Control Group n (%)	Chi square	d.f.	p values
VDR (<i>BsmI</i> -rs1544410, G63980A)	GG	44 (43.1)	19 (42.2)	0.42	2	0.810
	GA	44 (43.1)	18 (40.0)			
	AA	14 (13.7)	8 (17.8)			
	G	132 (64.7)	56 (62.2)	0.07	1	0.781
	A	72 (35.3)	34 (37.8)			
VDR (<i>FokI</i> -rs10735810, T2C)	CC	50 (49.0)	19 (42.2)	0.73	2	0.696
	CT	40 (39.2)	19 (42.2)			
	TT	12 (11.8)	7 (15.6)			
	C	140 (68.6)	57 (63.3)	0.57	1	0.450
	T	64 (31.4)	33 (36.7)			
DBP (rs4588, C1307A)	CC	50 (49.0)	25 (55.6)	0.70	2	0.705
	CA	42 (41.2)	17 (37.8)			
	AA	10 (9.8)	3 (6.7)			
	C	142 (69.1)	67 (74.4)	0.49	1	0.482
	A	62 (30.4)	23 (25.6)			
DBP (rs7041, T1296G)	TT	20 (19.6)	4 (8.9)	3.26	2	0.196
	TG	50 (49.0)	22 (48.9)			
	GG	32 (31.4)	19 (42.2)			
	T	90 (44.1)	30 (33.3)	2.58	1	0.108
	G	114 (55.9)	60 (66.7)			
CaSR (rs1801725, G986T)	GG	83 (81.4)	28 (62.2)	5.20	2	0.021*
	GT+TT ^a	19 (18.6)	17 (37.8)			
	G	182 (98.2)	72 (80.0)	3.87	1	0.042*
	T	22 (10.8)	18 (20.0)			

...continuación de la tabla anterior.

CaSR	AA	89 (87.3)	37 (82.2)	0.30	2	0.584
(rs1042636, A990G)	AG+GG^b	13 (12.7)	8 (15.6)			
	A	191 (93.6)	81 (90.0)	0.72	1	0.396
	G	13 (6.4)	9 (10.0)			
CaSR	CC	95 (93.1)	41 (91.1)	0.67	2	0.737
(rs1801726, C1011G)	CG	7 (6.9)	4 (8.9)			
	GG	0 (0.0)	0 (0.0)			
	C	197 (96.6)	86 (95.6)	0.01	1	0.929
	G	7 (3.4)	4 (4.4)			

^a Significant results are highlighted in bold ($p < 0.05$). d.f. degree of freedom.

^a TT plus GT genotype were statistically evaluated together due to the low number of patients with TT genotype. (TT case patient: 3, TT control patient: 1).

^b GG plus GA genotype were statistically evaluated together due to the low number of patients in GG. (GG case patient: 0, GG control patient: 1).

Table 4: Bone Phenotypic data from Case and Control Groups, stratified according to VDR, DBP and CASR gene polymorphisms.

Variable	Case Group				Control Group			
	BsmI-rs1544410 (G63980A)				BsmI-rs1544410 (G63980A)			
	GG, n=44	GA, n=44	AA, n=14	p-values	GG, n=19	GA, n=18	AA, n=8	p-values
VDR								
BMI (Kg/m ²)	27.95±4.63	29.69±5.00	27.76±4.91	0.186	31.76±6.22	30.01±4.27	29.43±4.58	0.480
BMD-LS (g/cm ²)	0.76±0.11	0.79±0.12	0.79±0.12	0.437	1.05 [1.01-1.10]	0.99 [0.96-0.12]	1.03 [0.99-1.06]	0.239
BMD-FN (g/cm ²)	0.63 [0.55-0.67]	0.65 [0.52-0.70]	0.62 [0.57-0.62]	0.562	0.81 [0.79-0.91]	0.83 [0.77-0.95]	0.82 [0.80-0.91]	0.951
corrected BMD-LS (g/cm ²)	0.79±0.13	0.81±0.16	0.82±0.14	0.708	1.01 [0.98-1.09]	0.95 [0.90-1.03]	0.98 [0.93-1.09]	0.239
corrected BMD-FN (g/cm ²)	0.65 [0.59-0.70]	0.65 [0.59-0.70]	0.66 [0.62-0.73]	0.596	0.76 [0.74-0.86]	0.79 [0.72-0.90]	0.79 [0.72-0.88]	0.853
FNW (cm)	2.94 [2.50-3.16]	3.01 [2.87-3.29]	3.09 [2.66-3.19]	0.254	3.08 [2.94-3.25]	3.22 [3.08-3.48]	3.33 [3.02-3.57]	0.256
CSI (g/Kg m)	3.16±1.00	3.27±0.99	3.70±1.07	0.219	3.20±0.70	3.48±1.00	3.49±0.87	0.576
VDR								
	FokI-rs10735810 (T2C)				FokI-rs10735810 (T2C)			
	CC, n=50	CT, n=40	TT, n=12	p-values	CC, n=19	CT, n=19	TT, n=7	p-values
BMI (Kg/m ²)	28.54±4.71	28.41±5.02	30.06±5.17	0.578	29.82 [26.45-34.72]	1.06 [0.96-1.13]	0.99 [0.97-1.05]	0.712
BMD-LS (g/cm ²)	0.75 [0.67-0.84]	0.77 [0.73-0.82]	0.77 [0.69-0.88]	0.986	1.03 [0.99-1.09]	1.06 [0.96-1.13]	0.99 [0.97-1.05]	0.296
BMD-FN (g/cm ²)	0.66 [0.61-0.70]	0.61 [0.52-0.66]	0.72 [0.61-0.73]	0.023	0.86±0.09	0.86±0.10	0.83±0.07	0.789
corrected BMD-LS (g/cm ²)	0.81±0.15	0.80±0.13	0.77±0.14	0.704	1.02 [0.93-1.07]	1.00 [0.94-1.07]	0.97 [0.85-0.99]	0.327
corrected BMD-FN (g/cm ²)	0.66 [0.61-0.70]	0.64 [0.57-0.69]	0.66 [0.58-0.78]	0.346	0.80±0.10	0.80±0.09	0.76±0.08	0.538

...continuación de tabla anterior.

rs4588 (C1307A)										
	CC, n=50	CA, n=42	AA, n=10	p-values	CC, n=25	CA, n=17	AA, n=3	p-values		
FNW (cm)	3.00 [2.72-3.28]	3.08 [2.70-3.20]	3.08 [2.82-3.38]	0.855	3.17 [3.02-3.41]	3.13 [2.83-3.45]	3.35 [3.08-3.47]	0.489		
CSI (g/Kg m)	3.26±1.00	3.27±1.02	3.38±1.07	0.937	3.37±0.99	3.28±0.79	3.59±0.78	0.727		
DBP										
rs4588 (C1307A)										
	CC, n=50	CA, n=42	AA, n=10	p-values	CC, n=25	CA, n=17	AA, n=3	p-values		
BMI (Kg/m ²)	28.80±4.70	28.90±5.06	27.14±5.17	0.580	29.90±4.70	31.70±6.26	31.10±1.93	0.575		
BMD-LS (g/cm ²)	0.77±0.13	0.77±0.10	0.80±0.79	0.724	1.03 [0.97-1.07]	1.02 [0.99-1.10]	1.14 [0.97-1.15]	0.493		
BMD-FN (g/cm ²)	0.62 [0.53-0.67]	0.66 [0.57-0.72]	0.65 [0.57-0.71]	0.310	0.82 [0.80-0.93]	0.81 [0.78-0.90]	0.85 [0.74-0.96]	0.824		
corrected BMD-LS (g/cm ²)	0.80±0.16	0.80±0.13	0.81±0.13	0.958	0.98 [0.93-1.07]	1.02 [0.96-1.07]	1.06 [0.94-1.08]	0.555		
corrected BMD-FN (g/cm ²)	0.65 [0.59-0.69]	0.67 [0.61-0.71]	0.65 [0.58-0.70]	0.266	0.80±0.09	0.80±0.09	0.81±0.16	0.974		
FNW (cm)	3.00 [2.81-3.22]	3.03 [2.55-3.23]	3.14 [2.83-3.37]	0.431	3.17 [2.95-3.37]	3.33 [3.03-3.51]	3.15 [2.23-3.20]	0.543		
CSI (g/Kg m)	3.29±0.91	3.11±1.03	3.86±1.22	0.116	3.39 [2.81-3.96]	3.71 [2.62-3.81]	3.00 [2.74-3.44]	0.930		
DBP										
rs7041 (T1296G)										
	TT, n=20	TG, n=50	GG, n=32	p-values	TT, n=4	TG, n=22	GG, n=19	p-values		
BMI (Kg/m ²)	28.10±5.28	28.90±4.64	28.50±5.07	0.788	32.7±3.61	30.16±6.12	30.84±4.38	0.668		
BMD-LS (g/cm ²)	0.74±0.08	0.76±0.12	0.78±0.13	0.391	1.07 [0.78-1.16]	1.02 [0.98-1.10]	1.05 [0.97-1.09]	0.870		
BMD-FN (g/cm ²)	0.66 [0.57-0.72]	0.63 [0.54-0.69]	0.63 [0.52-0.70]	0.497	0.81 [0.75-1.00]	0.83 [0.79-0.91]	0.81 [0.80-0.94]	0.930		
corrected BMD-LS (g/cm ²)	0.82±0.12	0.78±0.15	0.82±0.15	0.469	1.00 [0.89-1.08]	1.01 [0.97-1.08]	0.98 [0.92-1.05]	0.700		
corrected BMD-FN (g/cm ²)	0.67 [0.62-0.74]	0.65 [0.59-0.68]	0.65 [0.61-0.71]	0.279	0.78±0.14	0.80±0.79	0.79±0.10	0.876		

...continuación de tabla anterior.

	rs1801725 (G986T)		rs1801725 (G986T)		rs1801725 (G986T)		rs1801725 (G986T)	
	GG, n=83	GT, n=16	TT, n=3	p-values	GG, n=28	GT, n=16	TT, n=1	p-values
FNW (cm)	3.15 [2.90-3.40]	2.91 [2.35-3.16]	3.04 [2.86-3.27]	0.031	3.09 [2.43-3.23]	3.26 [2.98-3.52]	3.16 [2.95-3.35]	0.341
CSI (g/Kg m)	3.78±1.15	2.92±0.90	3.50±0.87	0.002	3.01±0.63	3.45±0.64	3.34±1.06	0.649
CaSR								
	GG, n=83	GT, n=16	TT, n=3	p-values	GG, n=28	GT, n=16	TT, n=1	p-values
BMI (Kg/m ²)	28.20 [25.90-31.11]	27.60 [26.20-36.70]	24.80 [24.40-26.76]	0.381	31.24 [25.65-33.31]	30.66 [26.62-34.34]	-	0.929
BMD-LS (g/cm ²)	0.78±0.12	0.77±0.11	0.77±0.10	0.969	1.02 [0.98-1.06]	1.04 [0.961.09]	-	0.325
BMD-FN (g/cm ²)	0.63 [0.56-0.69]	0.66 [0.51-0.72]	0.70 [0.41-0.72]	0.771	0.81 [0.76-0.91]	0.83 [0.80-0.98]	-	0.295
corrected BMD-LS (g/cm ²)	0.80±0.14	0.78±0.16	0.84±0.05	0.769	0.99 [0.93-1.04]	1.05 [0.92-1.06]	-	0.378
corrected BMD-FN (g/cm ²)	0.65 [0.60-0.70]	0.63 [0.58-0.72]	0.71 [0.55-0.73]	0.791	0.78±0.09	0.83±0.09	0.71	0.174
FNW (cm)	3.07 [2.82-3.27]	2.91 [2.06-3.23]	3.03 [1.69-3.13]	0.251	3.19 [2.94-3.41]	3.16 [3.02-3.49]	-	0.661
CSI (g/Kg m)	3.31±0.99	3.14±1.15	3.15±1.03	0.815	3.28±0.73	3.50±1.07	3.58	0.711
CaSR								
	AA, n=89	AG, n=13	GG, n=0	p-values	AA, n=37	AG, n=7	GG, n=1	p-values
BMI (Kg/m ²)	27.85 [25.90-32.53]	29.27 [26.60-29.90]	-	0.557	31.63 [26.68-34.30]	27.19 [25.44-31.18]	-	0.108
BMD-LS (g/cm ²)	0.77±0.11	0.76±0.12	-	0.719	1.05 [0.97-1.1]	1.00 [0.97-1.09]	-	0.962
BMD-FN (g/cm ²)	0.63 [0.56-0.670]	0.65 [0.55-0.70]	-	0.836	0.82 [0.79-0.93]	0.81 [0.78-0.94]	-	0.892
corrected BMD-LS (g/cm ²)	0.80±0.15	0.79±0.10	-	0.821	0.98 [0.93-1.07]	1.01 [0.99-1.11]	-	0.470
corrected BMD-FN (g/cm ²)	0.65 [0.60-0.70]	0.65 [0.59-0.69]	-	0.805	0.77 [0.72-0.88]	0.79 [0.76-0.85]	-	0.563

...continuación de tabla anterior.

	rs1801726 (C1011G)				rs1801726 (C1011G)			
	CC, n=95	CG, n=7	GG, n=0	p-values	CC, n=41	CG, n=4	GG, n=0	p-values
FNW (cm)	3.04 [2.80-3.23]	3.09 [2.55-3.62]	-	0.617	3.19 [3.02-3.42]	2.91 [1.84-3.96]	-	0.424
CSI (g/Kg m)	3.28±1.04	3.28±0.811	-	0.996	3.36±0.74	3.33±1.41	3.94	0.996
CaSR								
BMI (Kg/m ²)	28.10 [25.98-31.11]	28.35 [23.48-33.93]	-	0.989	30.48 [32.08-31.18]	32.08 [31.18-38.08]	-	0.216
BMD-LS (g/cm ²)	0.77±0.11	0.74±0.12	-	0.450	1.02 [0.97-1.09]	1.01 [0.94-1.10]	-	0.549
BMD-FN (g/cm ²)	0.63 [0.560.70]	0.63 [0.51-0.66]	-	0.535	0.82 [0.79-0.91]	0.87 [0.76-1.02]	-	0.811
corrected BMD-LS (g/cm ²)	0.801±0.14	0.79±0.14	-	0.800	1.00 [0.94-1.06]	0.97 [0.90-1.06]	-	0.576
corrected BMD-FN (g/cm ²)	0.65 [0.60-0.70]	0.65 [0.57-0.70]	-	0.814	0.77 [0.72-0.88]	0.82 [0.77-0.96]	-	0.188
FNW (cm)	3.04 [2.73-3.24]	2.93 [2.75-3.17]	-	0.694	3.18 [3.01-3.42]	3.26 [2.36-3.86]	-	0.705
CSI (g/Kg m)	3.19 [2.49-3.93]	3.14 [2.27-4.13]	-	0.880	3.37±0.88	3.32±0.67	-	0.906

Values are mean ± SD or median [P₂₅ - P₇₅]. The p value indicates the probability of rejecting the hypothesis that there are no differences at the 0.05 significance level.

BMD-FN: bone mineral density of femoral neck. BMD-LS: bone mineral density of lumbar spine. FN: Femoral neck area. CSI: compressive strength index.

DISCUSIÓN GLOBAL

7. DISCUSIÓN GLOBAL

El desarrollo de este proyecto de investigación ha abordado una serie de bloques temáticos de gran interés en la osteoporosis, concretamente centrados en los pacientes con fractura de cadera, que han sido la diana fundamental del estudio global. Como se ha comentado anteriormente, los resultados de las diferentes investigaciones se fueron concretando en modo de trabajos científicos tales como artículos, revisiones y capítulo de libro. A medida que los resultados obtenidos iban cumpliendo los objetivos de investigación se fueron documentando y aportando las pertinentes conclusiones.

A continuación se discutirá cada uno de los trabajos de forma independiente, resaltando en cada uno de ellos, los resultados más revelantes.

7.1 Discusión estudio 1: *“Pharmacotherapy follow-up and conciliation of medication in hospitalized hip-fracture patients”*.

En el primer estudio abordado se realizó un SFT en un servicio clínico, cuyos pacientes hospitalizados debían ser polimedicados, pluripatológicos, y que además el equipo médico sintiera la necesidad y oportunidad de contar con un experto en medicamentos para colaborar en su trabajo diario, y así intervenir y conciliar aquella medicación de difícil y complicado seguimiento. Por este motivo, se escogió el servicio de traumatología, un servicio quirúrgico donde cada año aumenta drásticamente el número de pacientes ancianos con fracturas osteoporóticas. Además fue de especial interés implantar el programa de SFT en este servicio ya que los facultativos tienen menos experiencia con la medicación habitual del paciente polimedicado. Estas condiciones crean un ambiente propicio para que el farmacéutico trabaje con el equipo médico (auxiliares, enfermeras y médicos) integrando competencias múltiples.

Durante el periodo de la realización del SFT, el farmacéutico se integró con el equipo médico con un alto nivel de aceptación, interviniendo y trabajando diariamente en la conciliación de la medicación hospitalaria con la habitual, intentando con esto, que el paciente durante su estancia hospitalaria recibiera un adecuado tratamiento ajustado a sus condiciones; y una vez dado de alta, continuara con el adecuado uso y la mayor adherencia posible al tratamiento habitual. Es así como numerosos trabajos han demostrado que la intervención oportuna del farmacéutico en los servicios hospitalarios podría mejorar aún más el circuito de prescripción de medicamentos en el ámbito pre y postoperatorio^{204,205,206,207,208,209,210,211,212}. Se ha demostrado también, que pacientes con un alto número comorbilidades y medicamentos habituales son más propensos a presentar RNM⁷⁴. Nuestra población al tratarse de pacientes polimedicados y pluripatológicos, sumado a que eran pacientes ancianos la probabilidad de presentar RNM era muy alta. Es así que se ha demostrado que este tipo de población puede presentar dos o tres veces más riesgo de reacciones adversas e interacciones medicamentosas³⁰³. En nuestro caso, la mayoría de los RNM presentados en esta población fueron debidos principalmente a RNM de “necesidad”, ocasionados por falta del registro o supervisión de la medicación en la pre-admisión hospitalaria o la falta de la medicación habitual que requería el paciente una vez retornado del quirófano. Estos resultados coinciden también con lo demostrado por otros estudios^{304,305}. Todos estos RNM fueron resueltos mediante la intervención farmacéutica (IF)

que según el caso se dirigía al médico, equipo de enfermería y paciente/cuidador. Cabe destacar el alto número de IF aceptadas por parte del equipo médico, y que coinciden con previos estudios que han demostrado una aceptación del 98%^{306,307,308}. Se ha descrito que las IF hospitalarias son dirigidas mayoritariamente a los médicos de la planta^{307,308}, y nuestros resultados coinciden con lo anterior al determinar que los médicos recibieron el 60% de las IF. Además en nuestro estudio, se demostró que los pacientes con RMN tenían mayor estancia hospitalaria que aquellos que no presentaron ningún RNM. Estos datos también se reflejan en otros estudios que han afirmado que las existencias de RNM en los pacientes supone un incremento en las estancia hospitalaria de los mismos^{306,307,308}. Con lo anterior se podría confirmar que la estancia hospitalaria de un paciente puede disminuir cuando un farmacéutico de hospital está incluido en el equipo de atención médica, participando diariamente en las sesiones clínicas y otras actividades para la optimización de la farmacoterapia en el paciente^{309,310}.

Una de las causas que determinaron el alto número promedio de días de estancia hospitalaria en nuestra población, se debió a la tardanza en la intervención quirúrgica de los pacientes. Según el protocolo de FC, estas deben ser intervenidas dentro de las 24 horas post fractura⁴⁷, sin embargo en nuestra población el 75% fue operada después de 5 días de la fractura, debido a la disponibilidad de quirófano o bien a las descompensaciones en las pruebas pre-anestésicas. Este retraso en la intervención quirúrgica, sumado a las características del paciente, es decir de avanzada edad, pluripatológico y polimedicado, ha provocado en nuestra población el doble de mortalidad en comparación a lo registrado en España²³. Por otro lado, nuestros resultados coinciden en que la proporción de fallecidos durante la hospitalización era mayor en hombres que en mujeres^{36,37,38,39,40,41}.

Cabe resaltar en los resultados de este trabajo la evidencia de que el funcionamiento del SFT en un servicio quirúrgico donde diariamente se atiende a pacientes ancianos, para prevenir los RNM, resulta ideal para que el farmacéutico contribuya positivamente con el equipo de salud. Esta contribución quedó de manifiesto en la calidad del trabajo realizado. Primero por la integración del farmacéutico en el equipo médico; segundo por la aceptación del alto número de intervenciones farmacéuticas realizadas, aceptadas y resueltas junto al equipo (98,6%); y tercero por la destacada puntuación obtenida en la satisfacción de la labor del farmacéutico durante el periodo de estudio por parte del equipo de salud (4,7/5,0).

7.2 Discusión estudio 2: “Factores de riesgo en una población anciana: escalas de evaluación para la prevención de fracturas de cadera”.

El segundo estudio de investigación desarrollado nació a consecuencia del alto número de ingresos hospitalarios por FC documentados, que generó la necesidad de plantear diversos objetivos en este servicio quirúrgico para obtener una mayor información exhaustiva sobre la realidad de esta población. Para llevar a cabo este proyecto, se propuso determinar y analizar los factores de riesgo de la fractura de cadera presente en esta población; cuantificar el número de pacientes con alto riesgo de fracturas y determinar la probabilidad de una nueva fractura a los 10 años. Los resultados de este trabajo, señalan que de los FR encontrados, ser mujer (77%) predominó como FR no

modificable, así como también ser pacientes de avanzada edad (83 años), lo que coincidió con numerosos estudios realizados en España y el resto del mundo^{21,22,23,24,25,26,27,28,29,30,51,59,60}. Además, y tal como lo ha demostrado la literatura científica⁸², el principal motivo de las FC se produjo por caídas desde la posición de bipedestación y principalmente ocurridas en los domicilios, debido que al estar viviendo solos están más expuestos²³. Asimismo, las fracturas tienen relación con el hecho de que aproximadamente la mitad de la población consumía fármacos desencadenantes de caídas, como las benzodiacepinas, inhibidores de la bomba de protones como el omeprazol, entre otros^{99,100,101,102,103}.

Clínicamente era evidente que nuestra población era muy susceptible de presentar una FC, ya que un porcentaje considerable de la población señaló otros FR tales como signos y síntomas característicos de enfermedades osteoarticulares como la osteoporosis^{79,80,81,82,83,84} y fracturas previas después de los 50 años⁸⁸, y que en su mayoría no habían sido referidos en las historias clínicas. Lo anterior hace referencia a que no existían registros de la realización de la prueba de la DMO para evaluar su estado mineral óseo, es decir, ningún paciente al parecer se había realizado este examen, a pesar de ser la prueba más aceptada como evaluación del estado mineral óseo^{119,120}. De igual modo, sólo un bajo porcentaje de los pacientes estaba en tratamiento con fármacos antiosteoporóticos, una situación lamentablemente también encontrada en otros países³¹¹. Otros FR modificables que están relacionados con el estilo de vida del propio paciente, fue la baja actividad física diaria que realizaban^{96,97}, así como también incluir a partir de la tercera edad el consumo de productos lácteos en la dieta diaria. No obstante, en este último factor se ha demostrado que el consumo alto de proteínas de origen animal tiene un efecto negativo en los huesos, ya que genera una mayor cantidad de ácidos, principalmente como sulfatos y fosfatos que provocan un aumento de la excreción de calcio urinario³¹². Por otro lado, desde el punto de vista del factor genético, 4 de cada 10 pacientes reconocieron tener antecedentes familiares directos de FC, cuya información demuestra el amplio componente genético poblacional de esta enfermedad^{285,286,287,292,298,302}.

Lo preocupante de los resultados obtenidos es la puesta de manifiesto de la carencia en la determinación de factores de riesgo; la baja atención al tratamiento, prevención y educación oportuna de la osteoporosis, así como también el alto número de fallecimientos.

En el presente estudio, al tratarse de un análisis descriptivo transversal, fue oportuno realizar las intervenciones pertinentes una vez obtenido un panorama global de los resultados. Además, sólo cuando el facultativo médico ve la realidad de un servicio y es consciente de la importancia de la enfermedad y de un tratamiento adecuado para evitar el alto número de ingresos y costes hospitalarios, esta situación es posible revertirla. Es por esto, que junto al facultativo médico de la planta se vio la necesidad de intervenir hacia al médico de familia para considerar un tratamiento farmacológico oportuno como alendronato asociado con calcio y vitamina D^{173,174,179,180,181,182,183}, y transmitir la importancia de los FR modificables precisamente en su posibilidad de corrección. Otra de las medidas realizadas durante la estancia hospitalaria de los pacientes fue emprender una educación preventiva y medidas higiénico-dietéticas dirigidas a pacientes/cuidadores y

personal de enfermería con material didáctico específico elaborado en este trabajo.

Los resultados de este trabajo evidencian el alto número de pacientes con riesgo de fractura osteoporótica según la escala de Black; resultando además que 1 de cada 10 de estos pacientes volverán a tener una nueva fractura de acuerdo a la escala de FRAX. Estas escalas son herramientas muy útiles y prácticas, sin embargo la escala de FRAX es la escala más recomendada ya que está validada en hombres y mujeres, así como también su fácil manejo y rápido acceso online¹¹⁶.

Hasta el momento, al no existir un consenso o protocolo para el tratamiento global de fracturas osteoporóticas en un servicio quirúrgico, donde diariamente se atienden fracturas osteoporóticas, las probabilidades de prevenir una nueva fractura son bajas. Por tanto, la prevención de las fracturas debería centrarse en evitar FR potencialmente reversibles como son las caídas, DMO baja, y en utilizar los tratamientos farmacológicos pertinentes, lo que permitiría disminuir el número de fracturas osteoporóticas de cadera y tener, por tanto, un impacto positivo en la salud pública.

7.3 Discusión estudio 3: *“Pharmacogenetics of osteoporosis-related bone fractures: moving towards the harmonization and validation of polymorphism diagnostic tools”.*

El tercer protocolo de estudio surgió de la necesidad de indagar sobre los factores genéticos que podrían influir en la osteoporosis y riesgo de fractura osteoporótica debido a que esta enfermedad es multifactorial²⁵⁸.

A raíz de las conclusiones de la publicación 2, llamó altamente la atención el porcentaje de pacientes con historia familiar de FC (40%), así como también el porcentaje de pacientes con antecedentes de fracturas previas después de los 50 años (42.5%). De esta manera, los resultados de la búsqueda plasmados en la revisión bibliográfica sobre farmacogenética de la osteoporosis, podrían constituir una interesante aportación a la investigación. Los resultados descritos en el artículo 3, muestran el amplio impacto genético de la osteoporosis y la relación existente entre las más destacadas vías metabólicas específicas y genes candidatos tales como: OPG, RANK, RANK-L, LRP5, LARP6, VDR, OST, ESR- α , ESR- β , COL1A1, FDPS, CASR con la DMO, riesgo de fracturas osteoporóticas (tabla 1)³⁰², así como también polimorfismos asociados a respuesta antiosteoporótica y efectos adversos. No obstante, se han obtenido resultados contradictorios específicamente en aquellos estudios que han examinado el impacto de las estructuras moleculares polimórficas. Recientemente, grandes esfuerzos han dado lugar a la aplicación de la metodología de alto rendimiento como los GWAS³¹³ para dilucidar polimorfismos relevantes asociados con los datos clínicos. La información obtenida de estos estudios es muy apreciada, pero su validez debe ser confirmada y debe ser replicada para cada población específica. La validación funcional de las variantes polimórficas en diferentes poblaciones es una tarea para el futuro próximo que no debe limitarse exclusivamente a la toma de muestras de gran tamaño o la investigación de perfiles de expresión³¹⁴, sino que se deben validar en cada población con sus características particulares.

También en la revisión realizada, se observó que las herramientas metodológicas de biología molecular y los genes candidatos eran poco claros o

controvertidos. La amplia revisión realizada permitió poner de manifiesto la necesidad de armonización en la nomenclatura de los SNPs con posible asociación genética para la investigación hospitalaria de rutina, así como también presentar una metodología molecular para la determinación de los SNPs específicos (tabla 2)³⁰². En este sentido, se propone que la revisión efectuada sirva como modelo en la recopilación y el uso de herramientas para la validación hospitalaria de genotipos y estudios de replicación clínica. Aunque estos estudios son preliminares, apoyan firmemente el concepto de la farmacogenética como un gran complemento a los estudios de estratificación de los medicamentos existentes y nuevos. Estos estudios son un área rica para investigar relevantes aplicaciones de la farmacogenética centradas en las vías metabólicas activas en el metabolismo del hueso.

7.4 Discusión estudio 4: “Pharmacogenetics Advances of Osteoporosis-Related Bone Fractures”.

La elaboración del cuarto trabajo de investigación, surgió como resultado de la excelente aceptación e impacto en la comunidad científica internacional sobre el artículo de revisión previamente discutido (artículo 3). Este alentador proyecto se concretó con una destacada invitación de una editorial para la confección de un capítulo de un libro en la sección de Farmacogenética (INTECH open®). En este documento de revisión actualizada, hemos querido ampliar y actualizar la revisión con nuevos genes candidatos con impacto clínico genético en la osteoporosis (DMO) y riesgos de fracturas osteoporóticas que día a día van emergiendo a una velocidad exponencial.

Este capítulo pretende ser un material de apoyo didáctico y útil para todos aquellos profesionales que están en constante contacto con pacientes con osteoporosis o factores de riesgo de fracturas osteoporóticas y que deseen contribuir con el entendimiento de estas patologías a través de sus propias investigaciones y de esta forma validar genotipos y estudios de replicación clínica con orientación marcada a la personalización de la farmacoterapia.

En este tratado se abordará los antecedentes generales de la osteoporosis, así como también factores de riesgo asociados. Principalmente daremos mayor énfasis en la farmacogenética de los tratamientos para la osteoporosis, debido a que esta patología multifactorial además de presentar una baja eficacia (48%) en la respuesta a los tratamientos²⁴⁰, carece de una adecuada precisión diagnóstica, y tiene una baja sensibilidad, estimado que más del 50% de las mujeres y el 70% de los hombres que han sufrido fracturas no han presentado una medida de la DMO indicativo de osteoporosis¹¹³.

Es por esto, que discutiremos sobre nuevos genes que actuarían como potenciales dianas terapéuticas en el tratamiento de nuevos fármacos en la osteoporosis tal como anticuerpos monoclonales, anticuerpos antagonistas de proteínas, entre otros³¹⁵, y analizar la existencia de posibles diferencias de sexo que pueden afectar a la farmacogenética de los tratamientos para la osteoporosis.

Por otra parte, uno de los desalentadores resultados de los tratamientos de la osteoporosis, se debe a los considerables efectos adversos (osteonecrosis de mandíbula, problemas gastro-esofágicos) y la ineficacia. Por tal motivo daremos a conocer las limitaciones en la eficacia terapéutica y continuidad de

los tratamientos para la osteoporosis³¹⁶, atribuidas precisamente a factores genéticos. También, se ha demostrado que existen interacciones ambientales como las nutricionales que afectan al fenotipo de la osteoporosis³¹⁷ o que afecten en la respuesta del tratamiento. A raíz de esto, analizaremos los posibles factores nutrigenéticos que afectan en esta enfermedad compleja.

Asimismo, es fundamental y evidente que la información disponible sobre la farmacogenética de la osteoporosis, así como también la metodología para su determinación, deban y puedan ser aplicables desde el punto de vista hospitalario. De tal manera que en este documento daremos a conocer las medidas que deben ser tomadas para facilitar y agilizar este proceso de traslación clínica.

Es fundamental conocer importantes métodos de detección genética y genómica que han sido utilizados hoy en día en la osteoporosis como los GWAS²⁸². Sin embargo, debido al rápido auge tecnológico, así como también el interés por entender el desarrollo de patologías crónicas, han surgido novedosos métodos potenciales para el análisis de vínculos y asociación de genes, que serán detallados en el capítulo del libro.

Finalmente, y como perspectiva futura plantearemos aquellos factores genéticos dignos de explorar en un futuro próximo que favorezcan el avance.

Considerando que la elaboración de este documento está en pleno desarrollo, las temáticas de este capítulo han abarcado importantes directrices focalizados a la farmacogenética, con alentadores resultados, ya que la investigación en la farmacogenética de la osteoporosis es el descubrimiento de genes nuevos y de su implicación en los mecanismos biológicos que determinan la masa ósea u otros factores fenotípicos. Esos hallazgos pueden conducir al desarrollo de nuevos fármacos para tratar la osteoporosis y llevarán a investigar la existencia de polimorfismos en esos genes; y aquellos alelos asociados con un mayor riesgo se añadirán a la lista creciente de “genes de la osteoporosis”, pero sin perder de vista la necesidad de la validación de biomarcadores farmacogenéticos como herramientas útiles de diagnóstico clínico y tratamiento personalizado.

7.5 Discusión estudio 5: “Polimorfismos del gen VDR y el riesgo de fracturas osteoporóticas de cadera en una población adulta española”.

La elaboración del quinto proceso de la presente investigación, se puso en marcha como un proyecto piloto poblacional a nivel hospitalario a consecuencia de los 2 trabajos anteriores. En estos últimos trabajos, se escudriñaron los genes con impacto clínico en la genética de la osteoporosis y sus consecuencias. Por lo tanto, era ideal trasladar los resultados obtenidos a la práctica clínica.

El propósito de este proyecto ha sido evaluar la influencia y relevancia clínica de 2 polimorfismos (*BsmI* y *FokI*) del gen VDR previamente discutidos, con la susceptibilidad al riesgo de fracturas osteoporóticas de cadera en una población caucásica-española. Los resultados de este trabajo, al igual que lo demostrado por otros estudios^{43,78,79,80,81,82,83,84,85}, señalan que ser mujer, así como también presentar baja DMO y bajo IMC son factores de riesgo más susceptibles a una FC. Desde el punto de vista genético, la distribución de las frecuencias de genotipado de los SNPs en estudio no mostraron diferencias significativamente entre el grupo caso y control, lo cual demostró que estos

SNPs no estarían asociados al riesgo de fracturas de cadera en la población estudiada. Los hallazgos encontrados en estudios de genética de la osteoporosis han sido ampliamente discutidos en grandes números poblaciones con controvertidos resultados^{318,319,320,321}, por lo que ha sido difícil discutir los resultados presentes en nuestra población. En concordancia con nuestros resultados, uno de los metaanálisis, determinó que no existía ninguna relación entre los SNP (*Bsm1* y *Fok1*) y la DMO y/o riesgo de fracturas osteoporóticas^{318,319}, aunque se observó una modesta significancia entre el genotipo GG del SNP *Bsm1* y el riesgo de fracturas³²². Contrariamente, un estudio de cohorte, se observó que el genotipo AA del SNP *Bsm1* estaba asociado con la baja DMO y a más del doble del incremento del riesgo de FC en comparación con el genotipo GG³²¹. De la misma manera, otro antiguo estudio encontró una asociación entre este SNP con el riesgo de fractura pero esta asociación era independiente de la pérdida de la masa ósea²⁶⁴. Este preliminar estudio ha permitido tener una primera visión global del estado de situación de los análisis genéticos de la población específica estudiada, y que ha demostrado estar en completa armonía con a las bases de datos farmacogenéticos y epidemiológicos disponibles.

7.6 Discusión estudio 6: *“Influence of DBP, VDR and CaSR gene polymorphisms on bone mineral density, compressive strength index and risk hip fracture in Caucasian population”.*

El desarrollo del sexto bloque de investigación, se ejecuta como punto de partida tras los previos resultados genéticos obtenidos del bloque anterior. En este trabajo se determinó la influencia de SNP específicos de los genes VDR, DBP y CaSR en determinados fenotipos de la osteoporosis como son: DMO, fracturas de cadera, y parámetros geométricos como el índice de resistencia a la compresión (siglas en inglés CSI), destacando la determinación de influencia por primera vez de los SNPs DBP y CaSR en la población caucásica española.

De acuerdo con nuestros resultados, y tal como se esperaba los pacientes con factores de riesgo de FC presentaron menor DMO que el grupo control, a pesar de presentar una similar edad. También se debía esperar que el parámetro geométrico óseo denominado CSI o sus componentes (FNW, FNa) presentaran diferencias entre ambos grupos, sin embargo no hubo diferencias significativas entre ambas poblaciones. Posiblemente esto es debido a que su determinación matemática $CSI = DMO \times FNW / \text{peso}$, particularmente $FNW = FNa / 1.5$, esté influenciado por otros factores como el tamaño y peso del hueso³²³ o bien por una influencia genética y por lo tanto el valor de la CSI no debería ser considerado como un valor predictivo único en el riesgo de fracturas.

Desde el punto de vista de la masa ósea, no se encontró ninguna asociación entre el grupo caso y control en ninguno de los SNPs estudiados, datos que son coincidentes con lo demostrado en otros estudios realizados en amplias poblaciones^{318,319}. Sin embargo al evaluar los grupos de manera independiente y compararlos por genotipos, encontramos que en el grupo caso existía una asociación entre el SNP *Fok1* y la DMO-FN ($p=0.023$), observando que individuos con genotipo CT tenían menor DMO que los pacientes con genotipo TT. Este resultado no ha sido previamente evaluado por otros

estudios, lo que ha limitado su comparación. Por lo tanto, nuestro trabajo implica un aporte pionero que sin duda debe justificarse con estudios de replicación en similares poblaciones.

En relación a los parámetros geométricos óseos, se observó que el SNP rs7041 (T1296G) estaba fuertemente asociado a dos fenotipos geométricos: uno de estos fue para FNW ($p=0,031$), donde pacientes con genotipo TT mostraron valores más altos que los heterocigotos ($p=0,020$). La otra destacada asociación fue para el parámetro CSI ($p=0,002$). En este último parámetro, curiosamente se observaron dos valores significativos correspondientes a los dos genotipos opuestos, TT y GG ($p=0,003$ y $p=0,027$, respectivamente). Esto fue posiblemente a causa de que el efecto medido en la cadera a través de la fórmula que incluye los parámetros genotípicos (FNW, FNA, peso corporal) silencia el impacto genético sobre la fragilidad del hueso. Es por esto, que diferentes SNPs del gen DBP han sido descritos previamente como moderadamente determinantes para el valor global CSI³²⁴.

También, se encontró por primera vez una destacada asociación del SNPs G986T CaSR ($p<0,027$) con el riesgo de FC, demostrando que individuos homocigotos GG presentaron más del doble de riesgo de fracturas de cadera. Uno de los pocos estudios realizados en similar población, no encontraron ninguna asociación con el riesgo de fractura de cadera en mujeres australianas³²⁵. No obstante, otro estudio realizado en una población postmenopáusica italiana, no descartó una posible asociación debido al valor estadístico obtenido en el estudio³²⁶.

A pesar de que estos resultados son preliminares y por tanto necesitan ser replicados y validados, ha permitido crear una interesante base de datos farmacogenética en el hospital que ha servido como información adicional a la clínica habitual, ya que estos datos han sido facilitados al médico solicitante como “resultados farmacogenéticos pilotos”.

Actualmente en la unidad y en conjunto con médicos especialistas de distintos servicios tales como Nefrología, Reumatología y Traumatología, se están desarrollando tres proyectos farmacogenéticos relacionados con el metabolismo mineral calcio-fósforo en pacientes del HUVN.

Uno de estos bloques de investigación, se puso en marcha a comienzos del año 2010, con el objetivo de evaluar la respuesta farmacogenética en los pacientes con alto riesgo de fracturas osteoporóticas sometidos al tratamiento de alendronato asociado a calcio más vitamina D durante 18 meses. En este grupo de pacientes, que trimestralmente se citaban a las consultas externas de las especialidades de Reumatología, Traumatología y Farmacia, se obtuvieron los datos epidemiológicos, densitométricos y analíticas de laboratorio (sangre y orina) tanto iniciales como finales de cada uno de ellos. Estos resultados, están siendo evaluados estadísticamente para evaluar posibles asociaciones con los polimorfismos genéticos determinados previamente y valorar nuestra hipótesis de estudio.

En el segundo proceso que comenzó a mediados del año 2010, se propuso explorar la funcionalidad de los polimorfismos del gen VDR (*BsmI*, *FokI*) y CaSR (G986T, A990G y C1011G) en los parámetros bioquímicos (PTH, Calcio y Fósforo, Vitamina D, etc) de pacientes con alteración del metabolismo calcio-fósforo y bioquímica del suero. Este grupo de pacientes, ha sido comparado con una población sana de similar edad pero sin alteración o

enfermedades relacionadas con el metabolismo mineral óseo. Considerando los alentadores resultados obtenidos mediante un riguroso análisis estadístico, las conclusiones de esta investigación que ha contribuido modestamente en el entendimiento de patologías complejas con alteración ósea como la insuficiencia renal crónica y osteoporosis están siendo reflejadas en un artículo original científico que está en estado de preparación.

El tercer y último proceso de la investigación, se lleva a cabo a comienzos del año 2011 a consecuencia del proyecto anterior, debido a la presencia de un polimorfismo mutado no común en una población caucásica. El polimorfismo de este gen (CaSR) es una diana terapéutica para fármacos utilizados pacientes con alteración del metabolismo calcio-fósforo como Cinacalcet. A raíz de lo anterior, el objetivo de este curioso hallazgo fue examinar el impacto clínico del polimorfismo A990G homocigoto mutado del gen CaSR como posible causa de la diferencia a la respuesta a Cinacalcet en pacientes caucásicos. Este estudio que puso en marcha un nuevo protocolo de investigación farmacogenético y que ha sido aprobado por el comité ético del propio hospital, está en la fase estadística. De tal manera que las consecuencias obtenidas de esta exploración serán plasmadas en la elaboración de un artículo científico.

PERSPECTIVAS FUTURAS

8. PERSPECTIVAS FUTURAS

Como punto de reflexión para proyecciones futuras sobre la aplicación de las innovadoras y útiles herramientas de la atención farmacéutica (SFT) y la farmacogenética a la traslación clínica, cuyos resultados han demostrado tener un impacto positivo en la salud del paciente, resulta indispensable realizar adaptaciones en la intervención diaria del farmacéutico en el área asistencial, esto es, apoyando activamente la función del médico en planta, y apoyando en la decisión final del tratamiento habitual específico y concomitante de la osteoporosis con la información sumatoria de su perfil genético.

Por otra parte, es necesaria de manera inmediata la elaboración de un protocolo o guía clínica sobre el tratamiento farmacológico y no farmacológico de la osteoporosis para evitar en la medida de lo posible su principal consecuencia, la fractura de cadera. Este documento debe elaborarse y revisarse anualmente en conjunto con el médico traumatólogo y personal de enfermería, considerando para esto la realidad poblacional de nuestro hospital.

Facilitar la traslación de la farmacogenética a nivel hospitalario, implica que el personal del área de la salud deba realizar inicialmente cursos básicos de: formación, manejo de metodologías, información e interpretación de los resultados, elaboración de guías e informes farmacogenéticos.

Una aportación importante de esta tesis en la dirección de la aplicabilidad de la farmacogenética en ambiente hospitalario y rutina clínica es la parte de gestión clínica que debe respetar las normativas ético-legales de la interacción paciente-farmacéutico-médico a través de peticiones para estudios basados en ADN, diseminación de una apropiada información y consentimiento del paciente. Todos estos criterios deben ser respetados para generar las bases de datos de genotipado de pacientes con alto riesgo de fracturas osteoporóticas en tratamiento con antirresortivos, donde el farmacéutico realizará además el SFT e informa de los datos. La validación de una dinámica de trabajo en farmacogenética a integrar entre las tareas asistenciales depende del apoyo de instituciones gubernamentales y legislativas y de la superación de las barreras de los programas coste-efectividad.

CONCLUSIONES

9. CONCLUSIONES

1.- Los pacientes hospitalizados por fractura de cadera presentaron numerosos resultados negativos a la medicación, principalmente relacionados con la categoría de necesidad. El principal factor de riesgo asociado a la aparición de resultados negativos a la medicación fue la polimedicación.

2.- El seguimiento farmacoterapéutico realizado por el farmacéutico dentro del servicio quirúrgico fue altamente aceptado y satisfactorio para el equipo médico y pacientes, ayudando a resolver y prevenir los principales resultados negativos a la medicación mediante la selección de los medicamentos más apropiados, eficaces y seguros.

3.- Los pacientes con una fractura de cadera previa al ingreso hospitalario presentaron un alto riesgo de sufrir una nueva fractura, con una probabilidad del 12% al 40% de que ocurra en los próximos 10 años según la escala de FRAX.

4.- Se proponen la determinación y validación del impacto clínico en osteoporosis los SNPs de los genes: ALOX-15, CaSR, COL1A1, DBP, ERS- α , ERS- β , FDPS, GGPS1, ITGB, LRP-5, LRP-6, OPG, RANK, RANK-L, SCR, SOST, VDR.

5.- Las frecuencias genotípicas de los SNPs analizados en la población objeto de estudio fueron similares a las mostradas por HapMap para poblaciones Caucásicas. Sin embargo, se observó la presencia excepcional de un individuo homocigoto mutado GG para el polimorfismo 990 del gen CaSR.

6.- El SNP rs10735810-*FokI* (T2C) del gen VDR está asociado con la densidad mineral ósea a nivel femoral en pacientes con riesgo de fracturas. Los pacientes TT tienen mayor densidad mineral ósea que individuos heterocigotos.

7.- Los pacientes homocigotos GG para el SNP rs1042636 (G986T) del gen CaSR presentaron más del doble del riesgo de fractura de cadera que pacientes TT o GT.

8.- El genotipo T1296G del gen DBP está asociado al parámetro geométrico óseo CSI en pacientes con riesgo de fracturas, presentando un menor valor significativo. Sin embargo, por el momento este valor no debe ser usado como predictor único en el riesgo de fracturas.

BIBLIOGRAFÍA

10. BIBLIOGRAFÍA

- ¹ Nacional Institute for health (NIH) consensus panel: Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis and treatment of osteoporosis. *Am J Med* 1993; 94(6):646-650.
- ² Nacional Institute for health (NIH) consensus development panel on osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *JAMA* 2001; 285:785-795.
- ³ Nacional Institute for health (NIH) Osteoporosis and Related Bone Diseases. Osteoporosis overview http://www.niams.nih.gov/Health_Info/Bone/Osteoporosis/overview.asp#e.
- ⁴ Dictionary of Cancer Terms. National Cancer Institute. US National Institute of Health. Available in <http://cme.nci.nih.gov/diccionario/?print=1&cdrid=415875>.
- ⁵ Report of a WHO Study Group. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1994; 843:1-129.
- ⁶ Sociedad Navarra de Medicina de Familia y atención primaria. Documento para el Manejo de la Osteoporosis en Atención Primaria (SNAMFAP). Diciembre 2006.
- ⁷ Kanis JA, Johnell O, Oden A, et al. Diagnosis of osteoporosis and fracture threshold in men. *Calcif Tissue Int* 2001; 69(4):218-221.
- ⁸ Vescini F, Francucci CM, Buffa A, et al. Does bone mineral density predict fractures comparably in women and men? *J Endocrinol Invest* 2005; 28(10):48-51.
- ⁹ Guidelines for preclinical evaluation and clinical trials in osteoporosis. Geneva: WHO; 1998:59.
- ¹⁰ Scottish Intercollegiate Guideline Network (SIGN). Management of osteoporosis SING 71 2003. ISBN: 189893733. Disponible en: <http://www.sign.ac.uk/pdf/sign71.pdf> (Acceso en septiembre 2010).
- ¹¹ Brown JP, Josse RG. Scientific Advisory Council of the Osteoporosis Society of Canada. 2002 clinical practice guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis in Canada. *CMAJ* 2002; 167(10): s1-s34.
- ¹² Kanis JA, Johnell O, De Laet C, et al. A meta-analysis of previous fracture and subsequent fracture risk. *Bone* 2004; 35(2):375-382.
- ¹³ World Health Organization (WHO). International Osteoporosis Foundation. Disponible en: <http://www.iofbonehealth.org/> (Acceso el 10 Septiembre 2010).
- ¹⁴ National Osteoporosis Foundation (NOF). Disponible en: http://www.nof.org/physguide/impact_and_overview.htm. (Acceso en Septiembre 2010).
- ¹⁵ Cummings SR, Melton LJ. Epidemiology and outcomes of osteoporotic fractures. *Lancet*. 2002; 359(9319):1761-1767.
- ¹⁶ Holmberg AH, Johnell O, Nilsson PM, et al. Risk factors for fragility fracture in middle age. A prospective population-based study of 33,000 men and women. *Osteoporos Int* 2006;17(7):1065-1077.
- ¹⁷ American Academy of Orthopaedic Surgeons (AAOS) website. Disponible en: <http://www.orthoinfo.aaos.org/topic.cfm?topic=A00392>. (Acceso el septiembre 2010).
- ¹⁸ Monográficos de fracturas de cadera. Disponible en: http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/rehabilitacionadulto/fracturas_de_la_cadera.pdf (Acceso el septiembre 2010).
- ¹⁹ Parker M, Johansen A. Hip Fracture. *BMJ* 2006; 333 (7557):27-30.

- ²⁰ Medline plus. US. National Library of Medicine. Disponible en: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/fractures.html> (Acceso en Septiembre 2010)
- ²¹ Muñoz S, Lavanderos J, Vilches L, et al. Fractura de cadera. Cuad Cir 2008; 22(1):73-81.
- ²² Brunner LC, Eshilian-Oates L. Hip Fractures in Adults. Am Fam Physician 2003; 67(3):537-542.
- ²³ Pagés E, Cuxart A, Iborra J, et al. Fractura de cadera en Ancianos determinantes de la mortalidad y capacidad de marcha. Med Clin Barc 1998; 110:687-691.
- ²⁴ Roche JJ, Wenn RT, Sahota O, et al. Effects of comorbidities and postoperative complications on mortality after hip fractures in elderly people: prospective observational cohort study. BMJ 2005; 331: 1374-1376.
- ²⁵ Gillespie WJ. Extracts from "clinical evidence": hip fracture. BMJ. 2001; 322(7292): 968-975.
- ²⁶ Singer BR, Mclauchlan GL, Robinson CM. Epidemiology of fractures in 15.000 adults: The influence of age and gender. J Bone Joint Surgery 1998; 80: 243-248.
- ²⁷ Johnell O, Gullberg B, Allander E, et al. The apparent incidence of hip fracture in Europe: a study of national register sources. MEDOS Study Group. Osteoporos Int 1992; 2(2):298-302.
- ²⁸ Kanis JA. The incidence of hip fracture in Europe. Osteoporos Int 1993; 3 Suppl 1:10-5.
- ²⁹ Kanis JA, Johnell O, De Laet C, et al. International variations in hip fracture probabilities: implications for risk assessment. J Bone Miner Res 2002; 17(7):1237-1244.
- ³⁰ Sotorres J. Morbilidad y mortalidad en pacientes con fractura de cadera. Estudio prospectivo. Tesis Doctoral. Departamento de Cirugía. Facultad de Medicina y Cirugía de la Universidad de Valencia. 2004
- ³¹ Cooper C, Campion G, Melton LJ. Hip fractures in the elderly: a worldwide projection. Osteoporos Int 1992; 2(6):285-289.
- ³² Gullberg B, Johnell O, Kanis JA. World-wide projections for hip fracture. Osteoporos Int 1997;7(5):407-413.
- ³³ Sambrook P, Cooper C. Osteoporosis. Lancet 2006; 367(9527):2010-2018.
- ³⁴ Johnell O, Kanis JA. An estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures. Osteoporos Int 2006; 17(12):1726-1733.
- ³⁵ Serra JA, Garrido G, Vidán M, et al. Epidemiología de la fractura de cadera en ancianos en España. An Med Interna 2002; 19(8): 389-395.
- ³⁶ Haentjens P, Magaziner J, Colón-Emeric CS, et al. Meta-analysis: excess mortality after hip fracture among older women and men. Ann Intern Med 2010; 152(6):380-390.
- ³⁷ Melton LJ, Therneau TM, Larson DR. Long-term trends in hip fracture prevalence: the influence of hip fracture incidence and survival. Osteoporos Int. 1998; 8(1):68-74.
- ³⁸ Franzo A, Francescutti C, Simon G. Risk factors correlated with post-operative mortality for hip fracture surgery in the elderly: a population-based approach. Eur J Epidemiol 2005; 20(12): 985-991.
- ³⁹ Moran CG, Wenn RT, Sikand M, et al. Early Mortality after hip fractures: Is delay before surgery important? J Bone Joint Surg 2005; 87(3):483-489.
-

-
- ⁴⁰ Sosa M, Navarro R, Arbelo A. Fractura de cadera: la realidad española. En: Díaz Curiel M, ed. Actualización de osteoporosis. Madrid: FHOEMO, 2001: 13-22.
- ⁴¹ Jiang HX, Majumdar S, Dick D, et al. Development and initial validation of risk score for predicting in-hospital and 1-year mortality in patients with hip fractures. *J Bone Miner Res* 2005; 20(3): 494-500.
- ⁴² Walker N, Norton R, Vander Hoorn S, et al. Mortality after hip fracture: regional variations in New Zealand. *N Z Med J* 1999; 112(1092):269-271.
- ⁴³ Rojo K, Aznarte P, Calleja MA, Contreras C, et al. Factores de riesgo en una población anciana: escalas de valoración para la prevención de fracturas de cadera. *Rev esp cir ortop traumatol* 2010; 54(3):167-173.
- ⁴⁴ Roberts SE, Goldacre MJ. Time trends and demography of mortality after fractured neck of femur in an English population, 1968-98: database study. *BMJ* 2003; 327(7418):771-775.
- ⁴⁵ Brauer C, Coca-Perrillon M, Cutler D, et al. Incidence and Mortality of Hip Fractures in the United States *JAMA* 2009; 302(14):1573-1579.
- ⁴⁶ Streubel PN, Ricci WM, Wong A, et al. Mortality After Distal Femur Fractures in Elderly Patients. *Clin Orthop Relat Res* 2011; 469(4):1188-1196.
- ⁴⁷ Consejería de Salud. Junta de Andalucía. Proceso asistencial integrado. Fractura de cadera; 2007 Mayo. Disponible en: <http://www.csalud.junta-andalucia.es/procesos>.
- ⁴⁸ Jorge Manzarbeitia. Las fracturas de cadera suponen un coste de 25.000 millones de euros al año en la UE. *Rev Esp Econ Salud* 2005; 4(4), 216-217.
- ⁴⁹ Jensen JS, Tøndevold E. A prognostic evaluation of the hospital resources required for the treatment of hip fractures. *Acta Orthop Scand* 1980, 51(3):515-22.
- ⁵⁰ Sexson SB & Lehner JT. Factors affecting hip fracture mortality. *Journal of Orthopaedic Trauma* 1987; 1(4): 298e305.
- ⁵¹ Alvarez-Nebreda ML, Jiménez AB, Rodríguez P, et al. Epidemiology of hip fracture in the elderly in Spain. *Bone* 2008; 42(2):278-285.
- ⁵² Becker DJ, Yun H, Kilgore ML, et al. Health services utilization after fractures: evidence from Medicare. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2010; 65(9):1012-1020.
- ⁵³ Rodríguez-Fernández P, Adarraga-Cansino D, Carpintero P. Effects of Delayed Hip Fracture Surgery on Mortality and Morbidity in Elderly Patients. *Clin Orthop Relat Res* 2011 [Epub ahead of print].
- ⁵⁴ Lankester BJ, Paterson MP, Capon G, Belcher J. Delays in orthopaedic trauma treatment: setting standards for the time interval between admission and operation. *Ann R Coll Surg Engl* 2000; 82(5): 322-326.
- ⁵⁵ Ferrucci L, Guralnik J, Pahor M, et al. Hospital diagnoses, medicare charges, and nursing home admissions in the year when older persons become severely disabled. *JAMA* 1997; 277(4): 728-34.
- ⁵⁶ Compston J. Osteoporosis: social and economic impact. *Radiol Clin North Am* 2010; 48(3):477-482.
- ⁵⁷ Altadill A, Gómez C, Virgós M, et al. Epidemiología de la fractura de cadera en Asturias. *Med Clin (Barc)* 1995; 105(8):281-286.
- ⁵⁸ Baztán J, Fernández-Alonso M, Aguado R, et al. Resultados al año de la rehabilitación tras fractura de fémur proximal en mayores de 84 años. *An Med Interna* 2004; 21(9):433-440.
-

- ⁵⁹ Herrera A, Martínez AA, Fernández L, et al. Epidemiology of osteoporotic hip fractures in Spain. *Int Orthop* 2006; 30(1):11-4.
- ⁶⁰ Johnell O, Kanis J. Epidemiology of osteoporotic fractures. *Osteoporos Int* 2005; 16(2):S3-7.
- ⁶¹ Johnell O. The socioeconomic burden of fractures: today and in the 21st century. *Am J Med*. 1997; 103(2A):20S-26S.
- ⁶² Burge R, Dawson-Hughes B, Solomon DH, et al. Incidence and economic burden of osteoporosis-related fractures in the United States, 2005-2025. *J Bone Miner Res* 2007; 22(3):465-475.
- ⁶³ Melton LJ 3rd. Adverse outcomes of osteoporotic fractures in the general population. *J Bone Miner Res* 2003; 18(6):1139-1141.
- ⁶⁴ Keen R. Osteoporosis: strategies for prevention and management. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2007; 21(1):109-122.
- ⁶⁵ Melton LJ, Gabriel SE, Crowson CS, et al. Cost-equivalence of different osteoporotic fractures. *Osteoporos Int* 2003; 14(5): 383-388.
- ⁶⁶ Schmidt A, Asnis S, Haidukewych GJ, et al. Femoral Neck Fractures. *AAOS Instructional Course Lectures* 2005; 54:417-445.
- ⁶⁷ No authors. The Economic Cost of Hip Fracture in the UK. Centre for Health Economics, University of York. June 2000.
- ⁶⁸ Borgquist L, Lindelöw G, Thorngren KG. Costs of hip fracture. Rehabilitation of 180 patients in primary health care. *Acta Orthop Scand* 1991; 62(1):39-48.
- ⁶⁹ Bouee S, Lafuma A, Fagnani F, et al. Estimation of direct unit costs associated with non-vertebral osteoporotic fractures in five European countries. *Rheumatol Int* 2006; 26(12):1063-1072.
- ⁷⁰ International Osteoporosis Foundation (IOF). Osteoporosis in the European Union in 2008: Ten years of progress and ongoing challenges. 2008. Disponible en: <http://www.iofbonehealth.org/publications/eu-policy-report-of-2008.html>. (Acceso en Octubre 2010).
- ⁷¹ Nymark T, Lauritsen JM, Ovesen O, et al. Short time-frame from first to second hip fracture in the Funen County Hip Fracture Study. *Osteoporos Int* 2006; 17(9):1353-1357.
- ⁷² Van den Bussche H, Koller D, Kolonko T, et al. Which chronic diseases and disease combinations are specific to multimorbidity in the elderly? Results of a claims data based cross-sectional study in Germany. *BMC Public Health* 2011;11(1):101.
- ⁷³ Proceso asistencial integrado: Atención a pacientes pluripatológicos. Edición Conserjería de salud. 2007 ISBN: 978-84-690-6500-6
- ⁷⁴ Blasco F, Martínez López de Letona J, Villares P, et al. El anciano polimedcado: efectos sobre su salud y sobre el sistema sanitario. *Inf Ter Sist Nac Salud* 2005; 29: 152-162.
- ⁷⁵ Stewart RB, Cooper JW. Polypharmacy in the aged. *Practical solutions. Drugs Aging* 1994; 4: 449-61.
- ⁷⁶ Blasco F, Martínez López de Letona J, Pérez Maestu R, et al. Estudio piloto sobre el consumo de fármacos en ancianos que ingresan en un hospital. *An Med Intern* 2004; 21(2):69-71.
- ⁷⁷ Hohl CM, Dankoff J, Colacone A, Afilalo M. Polypharmacy, adverse drugs-related events and potential adverse drugs interactions in elderly patients presenting to an emergency department. *Ann Emerg Med* 2001; 38(6):666-671.

- ⁷⁸ National Institute of Health (NHI). Osteoporosis. Disponible en: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/tutorials/osteoporosisspanish/op3191s4.pdf> (Acceso en Octubre 2010).
- ⁷⁹ Scottish Intercollegiate Guideline Network (SIGN). SING 56 (2002): Prevention y management of hip fracture in older people. Disponible en: <http://www.sign.ac.uk/pdf/sign56.pdf> / (Acceso en Octubre 2010).
- ⁸⁰ Anónimo. Osteoporosis postmenopáusica: ¿estamos previniendo las fracturas? INFAC 2006; 14(10): 43-48.
- ⁸¹ Programa de uso racional de medicamentos del servicio de andaluz de salud. Grupo de fractura de cadera Prevención de fractura de cadera. Recomendaciones farmacoterapéuticas 2007 (actualizada en Marzo 2008, y febrero 2009).
- ⁸² National Institute for health and Clinical Excellence (NICE 2004). Fall: the assessment and prevention of falls in older people. (NICE guideline 21). Disponible en <http://www.nice.org.uk/CG021NICEguiline>. (Acceso en Septiembre 2010)
- ⁸³ Grupo de trabajo de menopausia y postmenopausia. Guía de la práctica clínica sobre la menopausia y postmenopausia. Barcelona: Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia, Asociación Española para el estudio de la menopausia, Sociedad Española de Medicina de Familia y Comunitaria y Centro Cochrane Iberoamericano; 2004.
- ⁸⁴ Kanis JA, Oden A, Johnell O, et al. The use of clinical risk factors enhances the performance of BMD in the prediction of hip and osteoporotic fractures in men and women. *Osteoporos Int* 2007; 18(8):1033-46.
- ⁸⁵ Sociedad Española de Investigación Ósea y Metabolismo Mineral. SEIOMM. Osteoporosis posmenopáusica. Guía de práctica clínica. Versión resumida. *Rev Clin Esp* 2003; 203(10): 496-506.
- ⁸⁶ Mendoza N. Guía de práctica clínica de la osteoporosis en ginecología. Factores de riesgo de la osteoporosis posmenopáusica. Capítulo 4, pag 41-51.
- ⁸⁷ Mackey DC, Eby JG, Harris F, et al. Prediction of clinical non-spine fractures in older black and white men and women with volumetric BMD of the spine and areal BMD of the hip: the Health, Aging, and Body Composition Study. *J Bone Miner Res* 2007; 22(12):1862-1868.
- ⁸⁸ Kanis JA, Johnell O, De Laet C, et al. A meta-analysis of previous fracture and subsequent fracture risk. *Bone* 2004; 35(2):375-82.
- ⁸⁹ Redonda M, Ashar B, Cohen J, et al. Disparities in osteoporosis screening between at-risk African-American and white women. *J Gen Intern Med*. 2005; 20(9):847-851.
- ⁹⁰ Ward KD, Klesges RC. A meta-analysis of the effects of cigarette smoking on bone mineral density. *Calcif Tissue Int* 2001; 68(5):259-270.
- ⁹¹ Kanis JA, Johnell O, Oden A, et al. Smoking and fracture risk: a meta-analysis. *Osteoporos Int* 2005; 16: 155-162.
- ⁹² Vestergaard P, Mosekilde L. Fracture risk associated with smoking: a meta-analysis. *J Intern Med* 2003; 254(6):572-583.
- ⁹³ Kanis JA, Johansson H, Johnell O, et al. Alcohol intake as a risk factor for fracture. *Osteoporos Int*. 2005; 16(7):737-742.
- ⁹⁴ Ganry O, Baudoin C, Fardellone P. Effect of alcohol intake on bone mineral density in elderly women: The EPIDOS Study. *Am J Epidemiol* 2000; 151(8):773-780.

- ⁹⁵ Rapuri PB, Gallagher JC, Kinyamu HK, et al. Caffeine intake increases the rate of bone loss in elderly women and interacts with vitamin D receptor genotypes. *Am J Clin Nutr* 2001; 74(5): 694-700.
- ⁹⁶ Feskanich D, Willett W, Colditz G. Walking and leisure-time activity and risk of hip fracture in postmenopausal women. *JAMA* 2002; 288(18):2300-2306.
- ⁹⁷ Wallace BA, Cumming RG. Systematic review of randomized trials of the effect of exercise on bone mass in pre and postmenopausal women. *Calcif Tissue Int* 2000; 67(1):10-18.
- ⁹⁸ Järvinen T, Sievänen H, Khan K, et al. Shifting the focus in fracture prevention from osteoporosis to falls. *BMJ* 2008; 336(7636): 124-126.
- ⁹⁹ Richards JB, Papaionnou A, Adachi JD, et al. Effect of Selective Serotonin Reuptake Inhibitors on the Risk of Fracture. *Arch Intern Med* 2007; 167:188-94.
- ¹⁰⁰ Yang YX, Lewis JD, Epstein S, et al. Long-term Proton Pump Inhibitor Therapy and Risk of Hip Fracture *JAMA* 2006; 296(24):2947-2953.
- ¹⁰¹ Tsiropoulos I, Andersen M, Nymark T, et al. Exposure to antiepileptic drugs and the risk of hip fracture: a case-control study. *Epilepsia* 2008; 49(12):2092-2099.
- ¹⁰² Wagner AK, Zhang F, Soumerai SB, et al. Benzodiazepine use and hip fractures in the elderly: Who is at greatest risk? *Arch Intern Med*. 2004; 164: 1567–72.
- ¹⁰³ Escuela Andaluz de Salud Pública. Aumento del riesgo de fractura por medicamentos. *Bol Ter Andal* 2010; 26(6):21-24.
- ¹⁰⁴ AM Tromp, Pluijm SMF, Smit JH, Deeg DJH, Bouter LM, Lips P. Fall-risk screening test: a prospective study on predictors for falls in community-dwelling elders. *J Clinical Epidemiology* 2001; 54(8):837-844.
- ¹⁰⁵ Robbins JA, Schott AM, Garnero P, et al. Risk factors for hip fracture in women with high BMD: EPIDOS study. *Osteoporos Int* 2005; 16(2):149-154.
- ¹⁰⁶ Dargent-Molina P, Favier F, Grandjean H, et al. Fall-related factors and risk of hip fracture: the EPIDOS prospective study. *Lancet* 1996; 348 (9021):145-9.
- ¹⁰⁷ Meier C, Kraenzlin ME, Bodmer M, et al. Use of Thiazolidinediones and Fracture Risk. *Arch Intern Med* 2008; 168(8):820-825.
- ¹⁰⁸ Schoofs M, Van der Klift M, Hofman A, et al. Thiazide Diuretics and the Risk for Hip Fracture. *Ann Intern Med* 2003; 139(6):476-482.
- ¹⁰⁹ Albertsson D, Mellström D, Petersson C, et al. Validation of a 4-Item Score Predicting Hip Fracture and Mortality Risk Among Elderly Women. *Annals of Family Medicine* 2007; 5(1):48-56.
- ¹¹⁰ Black DM, Steinbuch M, Palermo L, Dargent-Molina P, et al. An assessment tool for predicting fracture risk in postmenopausal women. *Osteoporos Int* 2001; 12(7):519-528.
- ¹¹¹ Robbins J, Aragaki AK, Kooperberg C, et al. Factors associated with 5-year risk of hip fracture in postmenopausal women. *JAMA* 2007; 298(20):2389-2398.
- ¹¹² Nguyen ND, Frost SA, Center JR, Eisman JA, et al. Development of prognostic nomograms for individualizing 5-year and 10-year fracture risks. *Osteoporos Int* 2008; 19(10):1431–1444.
- ¹¹³ Nguyen ND, Eisman JA, Center JR, et al. Risk factors for fracture in nonosteoporotic men and women. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(3): 955–962.
-

- ¹¹⁴ Kanis JA, Johnell O, Oden A, et al. Ten-year risk of osteoporotic fracture and the effect of risk factors on screening strategies. *Bone* 2002; 30(1):251-258.
- ¹¹⁵ Kanis JA, Johnell O, Oden A, et al. FRAX™ and the assessment of fracture probability in men and women from the UK. *Osteoporos Int* 2008; 19(4): 385–397.
- ¹¹⁶ Fracture Risk Assessment Tool: Calculator (FRAX). Disponible en: <http://www.sheffield.ac.uk/FRAX>. (Acceso en Septiembre 2010).
- ¹¹⁷ Browner WS. Predicting fracture risk: tougher than it looks. *BoneKEy* 2007; 4(8):226-230.
- ¹¹⁸ Blake GM, Fogelman I. An update on dual-energy x-ray absorptiometry. *Semin Nucl Med* 2010; 40(1):62-73.
- ¹¹⁹ Johnell O, Kanis JA, Oden A, et al. Predictive value of BMD for hip and other fractures. *J Bone Miner Res.* 2005; 20(7):1185-1194.
- ¹²⁰ Stewart A, Kumar V, Reid DM. Long-term fracture prediction by DXA and QUS: a 10-year prospective study. *J Bone Miner Res* 2006; 21(3):413-418.
- ¹²¹ Nelson HD, Morris CD, Kraemer DF, et al. Osteoporosis in postmenopausal women: diagnosis and monitoring. *Evid Rep Technol Assess (Summ)* 2001; (28):1-2.
- ¹²² Vescini F, Francucci CM, Buffa A, et al. Does bone mineral density predict fractures comparably in women and men? *J Endocrinol Invest* 2005; 28(10):48-51.
- ¹²³ Marshall D, Johnell O, Wedel H. Meta-analysis of how well measures of bone mineral density predict occurrence of osteoporotic fractures. *BMJ* 1996; 312(7041):1254-1259.
- ¹²⁴ WHO Study Group. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis: synopsis of a WHO report. *Osteoporos Int* 1994; 4(6):368-381.
- ¹²⁵ Hospers IC, van der Laan JG, Zeebregts CJ, et al. Vertebral fracture assessment in supine position: comparison by using conventional semiquantitative radiography and visual radiography. *Radiology* 2009; 251(3):822-828.
- ¹²⁶ Vasikaran S, Glendenning P, Morris H. The Role of Biochemical Markers of Bone Turnover in Osteoporosis Management in Clinical Practice. *Clin Biochem Rev* 2006; 27(3): 119–121.
- ¹²⁷ Looker AC, Bauer DC, Chesnut CH, et al. Clinical use of biochemical markers of bone remodeling: current status and future directions. *Osteoporos Int* 2000; 11(6):467-480.
- ¹²⁸ BlueCross BlueShield Association. Ultrasonography of peripheral sites for selecting patients for pharmacologic treatment for osteoporosis. *TEC Bull (Online)* 2002; 19(1):25-28.
- ¹²⁹ No authors. Osteoporosis-prevention, diagnosis and treatment. A systematic literature review. *Lakartidningen.* 2003; 100(45):3590-3095.
- ¹³⁰ Cummings SR, Palermo L, Browner W, et al. Monitoring osteoporosis therapy with bone densitometry: misleading changes and regression to the mean. Fracture Intervention Trial Research Group. *JAMA* 2000; 283(10),1318-1321.
- ¹³¹ Gillespie WJ, Gillespie LD, Parker MJ. Hip protectors for preventing hip fractures in older people. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010; 10:CD001255.

¹³² Bischoff-Ferrari HA, Willett WC, Wong JB, et al. Fracture prevention with vitamin D supplementation: a meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA* 2005; 293(18): 2257-2264.

¹³³ No authors. Management of osteoporosis in postmenopausal women: 2010 position statement of The North American Menopause Society. *Menopause* 2010;17(1):25-54; quiz 55-6.

¹³⁴ Compston JE, Seeman E. Compliance with osteoporosis therapy is the weakest link. *Lancet* 2006; 368(9540):973-974.

¹³⁵ Centro de Información online de Medicamentos (CIMA). Ficha técnica: Calcio. Disponible en <http://www.aemps.es/>

¹³⁶ Cumming RG, Nevitt NC. Calcium for Prevention of Osteoporotic Fractures in Postmenopausal Women. *J Bone Miner Res* 1997; 12:1321-1329.

¹³⁷ Shea B, Wells G, Cranney A, et al. WITHDRAWN: Calcium supplementation on bone loss in postmenopausal women. *Cochrane Database Syst Rev* 2007;(1):CD004526.

¹³⁸ Shea B, Wells G, Cranney A, et al. Meta-analyses of therapies for postmenopausal osteoporosis. VII. Meta-analysis of calcium supplementation for the prevention of postmenopausal osteoporosis. *Endocr Rev* 2002; 23(4):552-9.

¹³⁹ Jurutka PW, Bartik L, Whitfield GK, et al. Vitamin D receptor: key roles in bone mineral pathophysiology, molecular mechanism of action, and novel nutritional ligands. *J Bone Miner Res* 2007; 22(2):V2-V10.

¹⁴⁰ Bischoff-Ferrari HA, Willett WC, Wong JB, et al. Fracture prevention with vitamin D supplementation: a meta-analysis of randomized controlled trials. *JAMA* 2005; 293(18):2257-64

¹⁴¹ Papadimitropoulos E, Wells G, Shea B, William Gillespie, Bruce Weaver, Nicole Zytaruk, et al. Meta-analysis of the efficacy of vitamin D treatment in preventing osteoporosis in postmenopausal women. *Endocr Rev* 2002; 23(4):560-569.

¹⁴² Avenell A, Gillespie WJ, Gillespie LD, et al. Vitamin D and vitamin D analogues for preventing fractures associated with involutional and postmenopausal osteoporosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2009 (2) :CD000227.

¹⁴³ Boonen S, Lips P, Bouillon R, et al. Need for additional calcium to reduce the risk of hip fracture with vitamin D supplementation: evidence from a comparative metaanalysis of randomized controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92(4):1415-1423.

¹⁴⁴ Kärkkäinen M, Tuppurainen M, Salovaara K, et al. Effect of calcium and vitamin D supplementation on bone mineral density in women aged 65-71 years: a 3-year randomized population-based trial (OSTPRE-FPS). *Osteoporos Int* 2010; 21(12):2047-55.

¹⁴⁵ Vallecillo G, Díez A, Carbonell J, et al. Tratamiento de la osteoporosis con calcio y vitamina D. Revisión sistemática. *Med Clin (Barc)* 2000; 115(2):46-51.

¹⁴⁶ Tang BM, Eslick GD, Nowson C, et al. Use of calcium or calcium in combination with vitamin D supplementation to prevent fractures and bone loss in people aged 50 years and older: a meta-analysis. *Lancet* 2007; 370(9588):657-666.

¹⁴⁷ Dawson-Hughes B, Harris SS, Krall EA, et al. Effect of calcium and vitamin D supplementation on bone density in men and women 65 years of age or older. *N Engl J Med* 1997; 337(10):670-676.

- ¹⁴⁸ Bolland MJ, Grey AB, Gamble GD, et al. Effect of osteoporosis treatment on mortality: a meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010; 95(3):1174-81.
- ¹⁴⁹ Gates BJ, Sonnett TE, DuVall CAK, et al. Review of osteoporosis pharmacotherapy for geriatric patients. *Am J Geriatr Pharmacother* 2009; 7(6), 293-323.
- ¹⁵⁰ Delmas PD, Rizzoli R, Cooper C, et al. Treatment of patients with postmenopausal osteoporosis is worthwhile. The position of the International Osteoporosis Foundation. *Osteoporos Int* 2005; 16(1):1-5.
- ¹⁵¹ Drake MT, Cremers SC. Bisphosphonate therapeutics in bone disease: the hard and soft data on osteoclast inhibition. *Mol Interv* 2010;10(3):141-52.
- ¹⁵² Kanis JA, McCloskey EV, Johansson H, et al. National Osteoporosis Guideline Group. Case finding for the management of osteoporosis with FRAX-assessment and intervention thresholds for the UK. *Osteoporos Int* 2008; 19(10):1395-1408.
- ¹⁵³ Matthew D, Clarke B, Khosla S. Bisphosphonates: mechanism of action and role in clinical practice. *Mayo Clin. Proc.* 2008; 83(9): 1032-1045.
- ¹⁵⁴ Jensen EV, Jordan VC. The estrogen receptor: a model for molecular medicine. *Clin Cancer Res* 2003; 9(6):1980-1989.
- ¹⁵⁵ Yang NN, Venugopalan M, Hardikar S, et al. Identification of an estrogen response element activated by metabolites of 1 β -estradiol and raloxifene. *Science* 1996; 273(5279), 1222-1225.
- ¹⁵⁶ Saintier D, Burde MA, Rey JM, et al. 17 β -estradiol downregulates α 3-integrin expression in differentiating and mature human osteoclasts. *J Cell Physiol* 2004; 198(2): 269-276.
- ¹⁵⁷ Carter PH, Schipani E. The roles of parathyroid hormone and calcitonin in bone remodeling: prospects for novel therapeutics. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets* 2006; 6(1): 59-76.
- ¹⁵⁸ Kendler DL. Strontium ranelate data on vertebral and nonvertebral fracture efficacy and safety: mechanism of action. *Curr Osteoporos Rep* 2006; 4(1),34-39.
- ¹⁵⁹ European Medicines Agency: Pre-authorization evaluation of medicines for human use: denosumab. Disponible en: www.ema.europa.eu/pdfs/human/opinion/Prolia_77616809en.pdf. (Acceso en diciembre 2010).
- ¹⁶⁰ Bekker PJ, Holloway DL, Rasmussen AS et al. A single dose placebo controlled study of AMG 162, a fully human monoclonal antibody to RANKL, in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 2004; 19(7), 1059-1066.
- ¹⁶¹ Hofbauer LC, Schoppet M. Clinical implications of the osteoprotegerin/RANKL/RANK system for bone and vascular disease. *JAMA* 2004; 292(4):490-495.
- ¹⁶² Capparelli C, Li J, Elliott R, et al. Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand. *Nature* 1999; 402(6759):304-309.
- ¹⁶³ Lewiecki M. Denosumab update. Denosumab is a promising therapeutic agent for the management of postmenopausal osteoporosis as it increases BMD more than alendronate. *Curr Opin Rheumatol* 2009; 21(4):369-373.
- ¹⁶⁴ Bone HG, Bolognese MA, Yuen CK, et al. Effect of Denosumab on bone mineral density and bone turnover in postmenopausal women. *J Clin Endocrin Metab* 2008; 93(6):2149-2157.

¹⁶⁵ McClung M, Lewiecki M, Cohen S, et al. Denosumab in postmenopausal Women with low bone mineral density. *N Engl Med* 2006; 354(22):821-831.

¹⁶⁶ Cummings SR, San Martin J, McClung MR, et al. Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *N England J Med* 2009; 361(8):756-765.

¹⁶⁷ Brown J, Prince R, Deal Ch, et al. Comparison of the effect of denosumab and alendronate on BMD and biochemical markers of bone turnover in postmenopausal women with low bone mass: a randomized, blinded, phase 3 trial. *J Bone Miner Res* 2009; 24(1):153-161.

¹⁶⁸ Kendler D, Roux C, Benhamou C, et al. Effects of denosumab on bone mineral density and bone turnover in postmenopausal women transitioning from alendronate therapy. *J Bone Miner Res* 2010; 25(1):72-81.

¹⁶⁹ Gauthier JY, Charet N, Cromlish W, et al. The discovery of odanacatib (MK-0822), a selective inhibitor of cathepsin K. *Bioorg Med Chem Lett* 2008; 18: 923–28.

¹⁷⁰ Stoch SA, Zajic S, Stone J, et al. Effect of the cathepsin K inhibitor odanacatib on bone resorption biomarkers in healthy postmenopausal women: two double-blind, randomized, placebo-controlled phase I studies. *Clin Pharmacol Ther* 2009; 86:175–82.

¹⁷¹ Bone HG, McClung MR, Roux C, et al. Odanacatib, a cathepsin-K inhibitor for osteoporosis: a two-year study in postmenopausal women with low bone density. *J Bone Miner Res* 2010; 25: 937–47.

¹⁷² Hannon RA, Clack G, Rimmer M, et al. Effects of the Src kinase inhibitor saracatinib (AZD0530) on bone turnover in healthy men: a randomized, double-blind, placebo-controlled, multiple-ascending-dose phase I trial. *J Bone Miner Res* 2010; 25: 463–71.

¹⁷³ Alendronate, etidronate, risedronate, raloxifene and strontium ranelate for the primary prevention of osteoporotic fragility fractures in postmenopausal women. London (United Kingdom): National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE); 2008. Disponible en: [www.http://www.nice.org.uk/nicemedia/pdf/TA160guidance.pdf](http://www.nice.org.uk/nicemedia/pdf/TA160guidance.pdf) (Acceso en Octubre 2010).

¹⁷⁴ Alendronate, etidronate, risedronate, raloxifene, strontium ranelate and teriparatide for the secondary prevention of osteoporotic fragility fractures in postmenopausal women. London (United Kingdom): National Institute for Health and Clinical Excellence (NICE) 2008. Disponible en: [www.http://www.nice.org.uk/nicemedia/pdf/TA161guidance.pdf](http://www.nice.org.uk/nicemedia/pdf/TA161guidance.pdf) (Acceso en Octubre 2010).

¹⁷⁵ Centro de Información online de Medicamentos (CIMA). Ficha técnica: Acido alendronico. Disponible en: [www.http://www.aemps.es/](http://www.aemps.es/). (Acceso en Febrero 2011).

¹⁷⁶ Brown JP, Fortier M, Frame H, et al. Canadian consensus conference on osteoporosis, 2006 update. *J Obstet Gynaecol Can* 2006; 28(2 Suppl 1): S95-S112.

¹⁷⁷ MacLean C, Newberry S, Maglione M, et al. Systematic review: comparative effectiveness of treatments to prevent fractures in men and women with low bone density or osteoporosis. *Ann Intern Med* 2008; 148(3):197-213.

¹⁷⁸ New Zealand Guilines Group (NZGG). Prevention of hip fracture amongst people aged 65 years and over. Full guidelines [monografía en Internet] 2003.

- Disponible en:
http://www.nzgg.org.nz/guidelines/0006/Hip_Fracture_Prevention_Fulltext.pdf.
(Acceso en septiembre 2010).
- ¹⁷⁹ Papapoulos S, Quandt S, Liberman U, et al. Meta-analysis of the efficacy of alendronate for the prevention of hip fractures in postmenopausal women. *Osteoporos Int* 2005; 16(5):468–474.
- ¹⁸⁰ Liberman UA, Hochberg MC, Geusens P, et al. Hip and non-spine fracture risk reductions differ among antiresorptive agents: Evidence from randomised controlled trials. *Int J Clin Pract* 2006; 60(11):1394-400.
- ¹⁸¹ Wells GA, Cranney A, Boucher M, et al. Bisphosphonates for the primary and secondary prevention of osteoporotic fractures in postmenopausal women: a meta-analysis [Technology report no 69]. Ottawa: Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health; 2006.
- ¹⁸² Karpf DB, Shapiro DR, Seeman E, et al. Prevention of nonvertebral fractures by alendronate. A meta-analysis. Alendronate Osteoporosis Treatment Study Groups. *JAMA* 1997; 277(14):1159-1164.
- ¹⁸³ Boonen S, Laan RF, Barton IP, et al. Effect of osteoporosis treatments on risk of non-vertebral fractures: review and meta-analysis of intention-to-treat studies. *Osteoporos Int* 2005; 16(10):1291-1298.
- ¹⁸⁴ Black D, Schwartz A, Ensrud K, et al. Effects of Continuing or Stopping Alendronate After 5 Years of Treatment. The fracture intervention trial long-term extension (flex): a randomized trial. *JAMA* 2006; 296(24): 2927-2938.
- ¹⁸⁵ De Laet CEDH, Van der Klift M, Hofman A, et al. Osteoporosis in men and women: a story about bone mineral density thresholds and hip fracture risk. *J Bone Miner Res* 2002; 17:2231-2236.
- ¹⁸⁶ Khosla S, Bilezikian JP. The role of estrogens in men and androgens in women. *Endocrinol Metab Clin B Am* 2003; 32:195-218.
- ¹⁸⁷ Burgess E, Nanes MS. Osteoporosis in men: pathophysiology, evaluation and therapy. *Curr Opin Rheumatol* 2002; 14:421-428.
- ¹⁸⁸ Melton LJ, Orwoll ES, Wasnich RD. Does bone density predict fractures comparably in men and women? *Osteoporos Int* 2001; 12:707-709.
- ¹⁸⁹ Ho YV, Frauman AG, Thomson W, et al. Effects of alendronate on bone density in men with primary and secondary osteoporosis. *Osteoporos Int* 2000; 11(2):98-101.
- ¹⁹⁰ Orwoll E, Ettinger M, Weiss S, Miller, et al. Alendronate for the treatment of osteoporosis in men *N Engl J Med* 2000; 343: 604-11.
- ¹⁹¹ Ebeling PR. Clinical practice. Osteoporosis in men. *N Engl J Med* 2008; 358(14): 1474-82.
- ¹⁹² Prodigy Guidance. Osteoporosis- Treatment (and prevention of fragility fractures). Mayo 2006. Disponible en http://www.cks.library.nhs.uk/osteoporosis_treatment/1-22. (Acceso en Diciembre 2010).
- ¹⁹³ Sawka AM, Papaioannou A, Adachi JD, et al. Does alendronate reduce the risk of fracture in men? A meta-analysis incorporating prior knowledge of anti-fracture efficacy in women. *BMC Musculoskelet Disord* 2005; 6:39.
- ¹⁹⁴ Zhong ZM, Chen JT. Anti-fracture efficacy of risedronic acid in men: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin Drug Investig* 2009; 29(5):349-57.

¹⁹⁵ Royal College of Physicians. Treatment of Osteoporosis in Men. En Osteoporosis: Clinical guidelines for prevention and treatment London Royal Colleg of Physicians 1999; 55-59.

¹⁹⁶ Espejo J, Fernández-Llimós F, Machuca M, et al. Drug related problems: Definition and proposal for its inclusion in the International Classification of Primary Care (ICPC) from WONCA. *Pharmaceutical Care España* 2002; 4: 122-127.

¹⁹⁷ Comité de Consenso. Segundo Consenso de Granada sobre Problemas Relacionados con Medicamentos. *Ars Pharmaceutica* 2002, 43:3-4; 179-187.

¹⁹⁸ Comité de Consenso. Tercer Consenso de Granada sobre Problemas Relacionados con Medicamentos (PRM) y Resultados Negativos asociados a la Medicación (RNM). *Ars Pharm* 2007; 48 (1): 5-17.

¹⁹⁹ Strand LM, Morley PC, Cipolle RJ, et al. Drug-related problems: their structure and function. *Ann Pharmacother* 1990; 24:1093-1097.

²⁰⁰ Fernandez-Llimos F, Faus MJ, Gastelurrutia MA, et al. Evolution of the concept of drug-related problems: outcomes as the focus of the new paradigm *Seguimiento Farmacoterapéutico* 2005; 3(4):167-188.

²⁰¹ Amariles P, Fernández-Llimós F, Faus MJ. Terminology for problems related to drug use. *A J Health-Syst Pharm* 2006; 63(7), 616-617.

²⁰² Comité de Consenso. Documento de Consenso en Atención Farmacéutica. Dirección general de Farmacia. Ministerio de Sanidad y consumo. *Ars Pharm* 2001; 42:223-243.

²⁰³ Foro de Atención Farmacéutica PRM y RNM: conceptos. *Farmacéuticos* 2006; 315:28-29.

²⁰⁴ Prestch P, Herztenberg SW, Humerfelt S. Clinical pharmacist improve the use of drug in the hospital. *Tidsskr Nor Laegeforen*. 2004; 124(15):1923-5.

²⁰⁵ Castillo I, Martínez A, Martínez H, et al. Atención Farmacéutica a Pacientes Ingresados desde la Unidad Clínica. *Farm Hosp* 2000; 24 (1):27-31.

²⁰⁶ Tuneu L, García-Peláez M, López Sánchez S, et al. Drug related problems in patients who visit an emergency room. *Pharm Care Esp* 2000; 2:177-192.

²⁰⁷ Baena MI, Faus MJ, Fajardo PC, et al. Problemas Relacionados con los medicamentos como causa de consulta en el Servicio de Urgencias. *Eur J Clin Pharmacol* 2006; 62:387-393.

²⁰⁸ Silva Castro MM, Calleja Hernández MA, Tuneu I Valls L, et al. Drug therapy follow-up in patients admitted to a Surgery Department. *Farm Hosp* 2004; 28(3):154-169.

²⁰⁹ Campos Vieira N, Bicas Rocha K, Calleja Hernández MA, Faus Dáder MJ. Pharmacotherapy follow-up for patients admitted to the Internal Medicine Department of Hospital Infanta Margarita. *Farm Hosp*. 2004; 28(4):251-7.

²¹⁰ Rojo Venegas K, Aznarte Padial P, Calleja Hernández MA, et al. Pharmacotherapy follow-up and conciliation of medication in hospitalized hip-fracture patients. *Aten Farm* 2009; 11(4): 232-239.

²¹¹ Baena MI, Martínez-Olmos J, Faus MJ, et al. Pharmacotherapy follow-up: as a quality component in patient care. *Ars Pharm* 2005; 46 (3): 213-232.

²¹² Patel NP, Brandt CP, Yowler CJ. A prospective study of the impact of a critical care pharmacist assigned as a member of the multidisciplinary burn care team. *J Burn Care Res* 2006; 27(3):310-313.

- ²¹³ Kopp BJ, Mrsan M, Erstad BL, DUBY JJ. Cost implications of and potential adverse events prevented by interventions of a critical care pharmacist. *Am J Health Syst Pharm* 2007; 64(23):2483-7.
- ²¹⁴ Plan Estratégico de Política Farmacéutica para el Sistema Nacional de Salud Español. Por un Uso Racional del Medicamento. Ministerio de sanidad y consumo 2004.
- ²¹⁵ Grupo de investigación de Atención Farmacéutica Universidad de Granada. Guía de Seguimiento Farmacoterapéutico: Método Dáder. Tercera Edición 2007. I.S.B.N.: 978-84-608-0604-2.
- ²¹⁶ Fernández-Llimós F, Faus MJ, Gastelurrutia MA, et al. Systematic identification of negative clinical outcomes from pharmacotherapy *Seguimi Farmacoter* 2004; 2(3):195-205.
- ²¹⁷ Proceso asistencial integrado. Fractura de cadera en el anciano. Consejería de salud. Junta de Andalucía 2002.
- ²¹⁸ Prasun P, Pradhan M, Agarwal S. One gene, many phenotypes. *J Postgrad Med* 2007; 53:257-261.
- ²¹⁹ National Human Genome Research Institute (NHGRI). Genetic Disorders, Genomics and Healthcare. Disponible en <http://www.genome.gov/19016930>. (Acceso en Enero 2011).
- ²²⁰ Lambert S, Uitterlinden A. Genetic Testing in Clinical Practice. *Annu Rev Med* 2009; 60:431-442.
- ²²¹ Kalow W. Familial incidence of low pseudocholinesterase level. *Lancet* 1956; 2:576- 577.
- ²²² Alving AS, Carson PE, Flanagan CL, et al. Enzymatic deficiency in primaquine-sensitive erythrocytes. *Science* 1956;124(3220):484-485.
- ²²³ Vogel F. Moderne Probleme der Humangenetik. *Ergebn Inn Med Kinderheilk* 1959; 12:52–125.
- ²²⁴ European Medicines Agency (EMA). Definitions for genomic biomarkers, pharmacogenomics, pharmacogenetics, genomic data and sample coding categories. Noviembre 2007. (EMEA/CHMP/ICH/437986/2006). Disponible en: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002880.pdf. (Acceso en Enero 2011).
- ²²⁵ Weinshilboum RM, Liewei Wang. Pharmacogenetics and Pharmacogenomics: Development, Science, and Translation. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2008; 7: 223-245.
- ²²⁶ Brockmöller J, Tzvetkov M. Pharmacogenetics: data, concepts and tools to improve drug discovery and drug treatment. *Eur J Clin Pharmacol* 2008; 64(2): 133–157.
- ²²⁷ Human Genome Project Information (HGP). Disponible en: <http://www.genomics.energy.gov>. (Acceso en Enero 2011).
- ²²⁸ Collins F, Green E, Guttmacher A, Guyer M. A vision for the future of genomics research. *Nature* 2003; 422:835-847.
- ²²⁹ Pharmacogenomics Research Network (PGRN). Disponible en: <http://www.nigms.nih.gov/Initiatives/PGRN>. (Acceso en Enero 2011).
- ²³⁰ National Institute of health (NIH). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>. (Acceso en Enero 2011).
- ²³¹ Zdanowicz WW. Concepts in pharmacogenomics. *American Society of Heath-System Pharmacist*® 2010. ISBN:978-1-58528-234-0. Pág 414.

- ²³² Pharmacogenomic knowledge base (Pharmgkb). Gen, Variants, Pathway. Disponible en: <http://www.pharmgkb.org/> (Acceso en Enero 2011).
- ²³³ The international Hapmap Consortium. A haplotype map of the human genome. *Nature* 2005; 437:1299-1320.
- ²³⁴ Burke W, Psaty BM. Personalized Medicine in the Era of Genomics *JAMA*. 2007; 298(14):1682-1684.
- ²³⁵ Evans WE, Relling MV. Moving towards individualized medicine with pharmacogenomics. *Nature* 2004; 429: 464-468.
- ²³⁶ Sadée W, Dai Z. Pharmacogenetics/genomics and personalized medicine *Hum Mol Genet* 2005; 14 (suppl 2): R207-R214.
- ²³⁷ Physician desk Reference (PDR), 54th Edn., 2000. Editorial Medical Economics Company. ISBN: 1563633302.
- ²³⁸ Agency for Healthcare Research and Quality (AHRQ), US department of health and human service. Reducing and Preventing Adverse Drug Events To Decrease Hospital Costs. 2001. Disponible en: <http://www.ahrq.gov/qual/aderia/aderia.htm>. (Acceso en Enero 2011).
- ²³⁹ Lazarou J, Pomeranz BH, Corey PN. Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. *JAMA* 1998; 279(15):1200-1205.
- ²⁴⁰ Spear B, Health-Chiozzi M, Huff J. Clinical Application of pharmacogenetics. *Trends Molecular Biology* 2001; 7(5):201-204.
- ²⁴¹ Motulsky AG. From pharmacogenetics and ecogenetics to pharmacogenomics. *Med Secoli* 2002; 14(3):683-705.
- ²⁴² American College of clinical pharmacy (ACCP). Pharmacogenomic: application to patient care. 2th Edn., pag 16,17. ISBN: 978-1-932658-69-9.
- ²⁴³ Sengupta LK, Sengupta S, Sarkar M. Pharmacogenetic applications of the post genomic era. *Curr Pharm Biotechnol* 2002; 3(2):141-150.
- ²⁴⁴ El-Ibiary SY, Cheng C, Alldredge B. Potential roles for pharmacists in pharmacogenetics. *J Am Pharm Assoc* 2008; 48(2):e21-e32.
- ²⁴⁵ Bishop JR. Clinical applications of pharmacogenetics in retail pharmacy. *Drug Store News* 2007. Disponible en: www.cedrugstorenews.com. (Acceso en Enero 2011).
- ²⁴⁶ Kathryn Foxhall. Pharmacogenetics: Pharmacists should own it, not fear it. *Drug Topics* 2008. Disponible en: <http://drugtopics.modernmedicine.com/drugtopics/Clinical+News/Pharmacogenetics-Pharmacists-should-own-it-not-fea/ArticleStandard/Article/detail/513711>. (Acceso en Febrero 2011).
- ²⁴⁷ Weinshilboum RM, Wang L. Pharmacogenetics and pharmacogenomics: development, science, and translation. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2006; 7:223-45.
- ²⁴⁸ Swen JJ, Huizinga TW, Gelderblom H, et al. Translating pharmacogenomics: challenges on the road to the clinic. *PLoS Med* 2007; 4(8):e209
- ²⁴⁹ Shin J, Kayser SR, Langae TY. Pharmacogenetics: from discovery to patient care. *Am J Health Syst Pharm* 2009; 66(7):625-637.
- ²⁵⁰ Leonid Kruglyak. The road to genome-wide association studies. *Nature Reviews Genetics* 2008; 9(4):314-318.
-

- ²⁵¹ Nelson MR, Bacanu S-A, Mosteller M, Li L, Bowman CE, Roses AD, Lai EH, et al. Genome-wide approaches to identify pharmacogenetic contributions to adverse drug reactions. *Pharmacogenomics J* 2009; 9, 23–33.
- ²⁵² International HapMap Project (IHP). Disponible en: <http://www.hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/> (Acceso en Enero 2011).
- ²⁵³ American College of clinical pharmacy (ACCP). *Pharmacogenomic: application to patient care*. 2th Edn, pag 359, 360. ISBN: 978-1-932658-69-9.
- ²⁵⁴ Pirmohamed M. Acceptance of biomarker-based tests for application in clinical practice: criteria and obstacles. *Clin Pharmacol Ther* 2010; 88(6):862-866.
- ²⁵⁵ Li WF, Hou SX, Yu B, et al. Genetics of osteoporosis: accelerating pace in gene identification and validation. *Hum Genet* 2010; 127(3): 249-285.
- ²⁵⁶ Genoma España/ Fundación Observatorio de Prospectiva Tecnológico Industrial (OPTI). *Farmacogenómica: Medicina personalizada y Predictiva. Informe de Prospectiva Tecnológica Sectoriales 2009*. Depósito legal: M-21908-2009.
- ²⁵⁷ Gervasini G, Benítez J, Carrillo JA. Pharmacogenetic testing and therapeutic drug monitoring are complementary tools for optimal individualization of drug therapy. *Eur J Clin Pharmacol* 2010; 66(8):755-774.
- ²⁵⁸ Ralston SH. Genetic control of susceptibility to osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87:2460–2466.
- ²⁵⁹ Cummings SR, Nevitt MC, Browner WS, et al. Risk factors for hip fracture in white women. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *N Engl J Med* 1995; 332(12):767-773.
- ²⁶⁰ Taylor BC, Schreiner PJ, Stone KL, et al. Long-term prediction of incident hip fracture risk in elderly white women: study of osteoporotic fractures. *J Am Geriatr Soc* 2004; 52(9):1479-86.
- ²⁶¹ Eisman JA. Genetics of osteoporosis. *Endocr Rev* 1999; 20(6):788-804.
- ²⁶² Nguyen TV, Howard GM, Kelly PJ et al. Bone mass, lean mass, and fat mass: same genes or same environments? *Am J Epidemiol* 1998; 147(1):3–16.
- ²⁶³ Pocock N, Eisman J, Hopper J, et al. Genetic determinants of bone mass in adults. A twin study. *J Clin Invest* 1987; 80(3): 706–710.
- ²⁶⁴ Morrison NA, Qi JC, Tokita A, et al. Prediction of bone density from vitamin-D receptor alleles. *Nature* 1994; 367(6460): 284–287.
- ²⁶⁵ Huang QY, Recker RR, Deng HW. Searching for osteoporosis genes in the post-genome era: progress and challenges. *Osteoporos Int* 2003; 14(9):701–715.
- ²⁶⁶ Ioannidis JP. Why most published research findings are false? *PLOS Med* 2005; 2(8):696–701.
- ²⁶⁷ Tamai K, Semenov M, Kato Y, et al. LDL-receptor-related proteins in Wnt signal transduction. *Nature* 2000; 407(6803):530–535.
- ²⁶⁸ Teitelbaum SL. Osteoclasts, integrins and osteoporosis. *J Bone Miner Metab* 2000; 18(6),344–349.
- ²⁶⁹ Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR, et al. The roles of osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand in the paracrine regulation of bone resorption. *J Bone Miner Res* 2000; 15(1),2–12.
- ²⁷⁰ Jones HD, Kong YY, Penninger JM. Role of RANKL and RANK in bone loss and arthritis. *Ann Rheum Dis* 2002; 61(2), 32–39.

- ²⁷¹ Wesley P, Hironori Y, Nirupama K. Vitamin-D receptor-mediated gene regulation mechanisms and current concepts of vitamin-D analog selectivity. *Adv Ren Replace Ther* 2002; 3(9),168–174.
- ²⁷² Byers PH. Brittle bones-fragile molecules: disorders of collagen gene structure and expression. *Trends Genet* 1990; 6(9), 293–300.
- ²⁷³ Ichikawa S, Koller D, Peacock M, et al. Polymorphisms in the estrogen receptor b (ESR2) gene are associated with bone mineral density in Caucasian men and women. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90(11), 5921–5927.
- ²⁷⁴ Bord S, Horner A, Beavan S, et al. Estrogen receptors a and b are differentially expressed in developing human bone. *J. Clin. Endocrinol Metab* 2001; 86(5), 2309–2314.
- ²⁷⁵ Bergstrom JD, Bostedor RG, Masarachia PJ, et al. Alendronate is a specific, nanomolar inhibitor of farnesyl diphosphate synthase. *Arch Biochem Biophys* 2000; 373(1),231–241.
- ²⁷⁶ Risch N, Merikangas K. The future of genetic studies of complex human diseases. *Science* 1996; 273(5281),1516–1517.
- ²⁷⁷ Nguyen TV, Blangero J, Eisman JA. Genetic epidemiological approaches to the search for osteoporosis genes. *J Bone Miner Res* 2000;15(3), 392–401.
- ²⁷⁸ Dekker MC, van Duijn CM. Prospects of genetic epidemiology in the 21st Century *Eur J Epidemiol* 2003; 18(7), 607–616.
- ²⁷⁹ Rao DC. An overview of the genetic dissection of complex traits. *Adv Genet* 2008; 60, 3–34.
- ²⁸⁰ Ralston SH. Genetics of osteoporosis. *Ann NY Acad Sci* 2010; 1192(1), 181–189.
- ²⁸¹ Ralston SH, Uitterlinden AG. Genetics of osteoporosis. *Endocr Rev* 2010; 31 (5): 629-662.
- ²⁸² Hsu YH, Zillikens MC, Wilson SG et al. An integration of genome-wide association study and gene expression profiling to prioritize the discovery of novel susceptibility loci for osteoporosis-related traits. *PLoS Genet* 2010; 6(6), E1000977.
- ²⁸³ Styrkarsdottir U, Halldorsson BV, Gretarsdottir S, et al. Multiple genetic loci for bone mineral density and fracture. *N Engl J Med* 2008; 358(22),2355–2365.
- ²⁸⁴ Nguyen TV, Center JR, Eisman JA. Pharmacogenetics of osteoporosis and the prospect of individualized prognosis and individualized therapy. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2008; 15(6),481–488.
- ²⁸⁵ Richards JB, Rivadeneira F, Inouye M, et al. Bone mineral density, osteoporosis, and osteoporotic fracture: a genome-wide association study. *Lancet* 2008; 371(9623),1505–1512.
- ²⁸⁶ Rivadeneira F, Styrkarsdottir U, Estrada K, et al. Genetic factors for osteoporosis (gefos) consortium. Twenty bone-mineral-density loci identified by large-scale meta-analysis of genome-wide association studies. *Nat Genet* 2009; 41(11),1199–1206.
- ²⁸⁷ Ferrari S. Human genetics of osteoporosis. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2008; 22(5), 723–735.
- ²⁸⁸ Weinshilboum R. Inheritance and drug response. *N Engl J Med* 2003; 348(6), 529–537.
-

- ²⁸⁹ Lewiecki E, Bilezikian JP, Laster A, et al. 2009 Santa Fe bone symposium. *J Clin Densitom* 2010; 13(1): 1–9.
- ²⁹⁰ Nguyen D, Eisman J, Nguyen T. Anti-hip fracture efficacy of bisphosphonates: a Bayesian analysis of clinical trials. *J Bone Miner Res* 2006; 21(2): 340–349.
- ²⁹¹ Francis RM. Nonresponse to osteoporosis treatment. *J Br Menopause Soc* 2004; 10(2): 76–80.
- ²⁹² Nguyen TV, Eisman JA. Pharmacogenomics of osteoporosis: opportunities and challenges. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2006; 6(1), 62–72.
- ²⁹³ Gates BJ, Sonnett TE, DuVall CAK, et al. Review of osteoporosis pharmacotherapy for geriatric patients. *Am J Geriatr Pharmacother* 2009; 7(6), 293–323.
- ²⁹⁴ Kennel KA, Drake MT. Adverse effects of bisphosphonates: implications for osteoporosis management. *Mayo Clin Proc* 2009; 84(7), 632–638.
- ²⁹⁵ Sarasquete ME, Garcia-Sanz R, Marín L, et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw is associated with polymorphisms of the cytochrome P450 CYP2C8 in multiple myeloma: a genome-wide single nucleotide polymorphism analysis. *Blood* 2008; 112(7):2709–2712.
- ²⁹⁶ Sarasquete ME, González M, San Miguel JF, et al. Bisphosphonate-related osteonecrosis: genetic and acquired risk factors. *Oral Diseases* 2009; 15, 382–387.
- ²⁹⁷ Katz J, Gong Y, Salmasinia D, et al. Genetic polymorphisms and other risk factors associated with bisphosphonate induced osteonecrosis of the jaw. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2011; 40(6):605-11.
- ²⁹⁸ Eisman JA. Genetics of osteoporosis. *Endocr Rev* 1999; 20(6):788-804.
- ²⁹⁹ Palomba S, Numis FG, Mossetti G, et al. Effectiveness of alendronate treatment in postmenopausal women with osteoporosis: relationship with Bsm1 Vitamin-D receptor genotypes. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2003; 58(3):365–371.
- ³⁰⁰ Palomba S, Orio F Jr, Russo T, et al. Bsm1 vitamin-D receptor genotypes influence the efficacy of antiresorptive treatments in postmenopausal osteoporotic women. A 1-year multicenter, randomized and controlled trial. *Osteoporos Int* 2005; 16(8), 947–952.
- ³⁰¹ Arko B, Prezelj J, Komel R, et al. No major effect of estrogen receptor b gene Rsa1 polymorphism on bone mineral density and response to alendronate therapy in postmenopausal osteoporosis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2002; 81(2), 147–152.
- ³⁰² Rojo K, Aguilera M, Eisman JA, et al. Pharmacogenetics of osteoporosis-related bone fractures: moving towards the harmonization and validation of polymorphism diagnostic tools. *Pharmacogenomics* 2010; 11(9):1287-303.
- ³⁰³ Grupo de investigación en atención farmacéutica. Guía de atención farmacéutica: seguimiento farmacoterapéutico y educación sanitaria en pacientes de edad avanzada. Universidad de Granada 2007. ISBN 8460806035, pág 12-26.
- ³⁰⁴ Gleason KM, Groszek JM, Sullivan C, et al. Reconciliation of discrepancies in medication histories and admission orders of newly hospitalized patients. *Am J Health Syst Pharm* 2004; 61(16):1689-1695.
- ³⁰⁵ Campos N, Bicas K, Calleja MA, et al. Pharmacotherapy follow-up for patients admitted to the Internal Medicine Department of Hospital Infanta Margarita. *Farm Hosp* 2004; 28(4):251-257.

- ³⁰⁶ Torres A. Seguimiento farmacoterapéutico en el proceso asistencial de fracturas de cadera en ancianos. Tesis doctoral. Facultad de Farmacia Universidad de Granada 2008. ISBN: 978-84-691-2565-6.
- ³⁰⁷ Castillo I, Martínez A, Martínez H, et al. Atención Farmacéutica a pacientes ingresados desde la unidad clínica. *Farm Hosp* 2000; 24(1): 27-31.
- ³⁰⁸ Kucukarslan SN, Peters M, Mlynarek M, et al. Pharmacists on rounding teams reduces preventable adverse drug events in hospital general medicine units. *Arch Intern Med* 2003; 163(17):2014-2018.
- ³⁰⁹ Boyko WL Jr, Yurkowski PJ, Ivey MF, et al. Pharmacist influence on economic and morbidity outcomes in a tertiary care teaching hospital. *Am J Health Syst Pharm* 1997; 54(14):1591-1595.
- ³¹⁰ Malone DC, Carter BL, Billups SJ, et al. An economic analysis of a randomized, controlled, multicenter study of clinical pharmacist interventions for high-risk veterans: the IMPROVE study. Impact of Managed Pharmaceutical Care Resource Utilization and Outcomes in Veterans Affairs Medical Centers. *Pharmacotherapy* 2000; 20(10):1149-1158.
- ³¹¹ Harrington T, Broy S, Derosa A, et al. Hip fracture patients are not treated for osteoporosis: A call to action. *Arthritis Rheum* 2002; 47:651–654.
- ³¹² Barzel US, Massey LK. Excess dietary protein can adversely affect bone. *J Nutr* 1998; 128(6):1051–1053.
- ³¹³ Li WF, Hou SX, Yu B, et al. Genetics of osteoporosis: accelerating pace in gene identification and validation. *Hum Genet* 2010; 127(3), 249-285.
- ³¹⁴ Di Francia R, Frigeri F, Berretta M, et al. Decision criteria for rational selection of homogeneous genotyping platforms for pharmacogenomics testing in clinical diagnostics. *Clin Chem Lab Med* 2010; 48(4), 447–459.
- ³¹⁵ Rachner TD, Khosla S, Hofbauer LC. Osteoporosis: now and the future. *Lancet* 2011; 377(9773):1276-1287.
- ³¹⁶ Siris ES, Selby PL, Saag KG, et al. Impact of osteoporosis treatment adherence on fracture rates in North America and Europe. *Am J Med* 2009; 122(2 Suppl):S3-13.
- ³¹⁷ Stathopoulou MG, Dedoussis GV, Trovas G, et al. Low-density lipoprotein receptor-related protein 5 polymorphisms are associated with bone mineral density in Greek postmenopausal women: an interaction with calcium intake. *J Am Diet Assoc* 2010; 110(7):1078-83.
- ³¹⁸ Uitterlinden AG, Ralston SH, Brandi ML, et al. The association between common vitamin D receptor gene variations and osteoporosis: a participant-level meta-analysis. *Ann Intern Med* 2006; 145: 255-264.
- ³¹⁹ Ji GR, Yao M, Sun CY, et al. BsmI, TaqI, Apal and FokI polymorphisms in the vitamin D receptor (VDR) gene and risk of fracture in Caucasians: A meta-analysis. *Bone* 2010; 47(3):681-686.
- ³²⁰ Feskanich D, Hunter DJ, Willett WC, Hankinson SE, Hollis BW, Hough HL, et al. Vitamin D receptor genotype and the risk of bone fractures in women. *Epidemiology* 1998; 9: 535-539.
- ³²¹ Horst-Sikorska W, Kalak R, Wawrzyniak A, et al. Association analysis of the polymorphisms of the VDR gene with bone mineral density and the occurrence of fractures. *J Bone Miner Metab* 2007; 25: 310-319.
- ³²² Fang Y, Rivadeneira F, Van Meurs JB, et al. Vitamin D receptor gene BsmI and TaqI polymorphisms and fracture risk: a meta-analysis. *Bone* 2006; 39: 938-945.
-

³²³ Na Yu, Yong-Jun Liu, Yufang Pei, et al. Evaluation of Compressive Strength Index of the Femoral Neck in Caucasians and Chinese. *Calcif Tissue Int* 2010; 87(4):324-32.

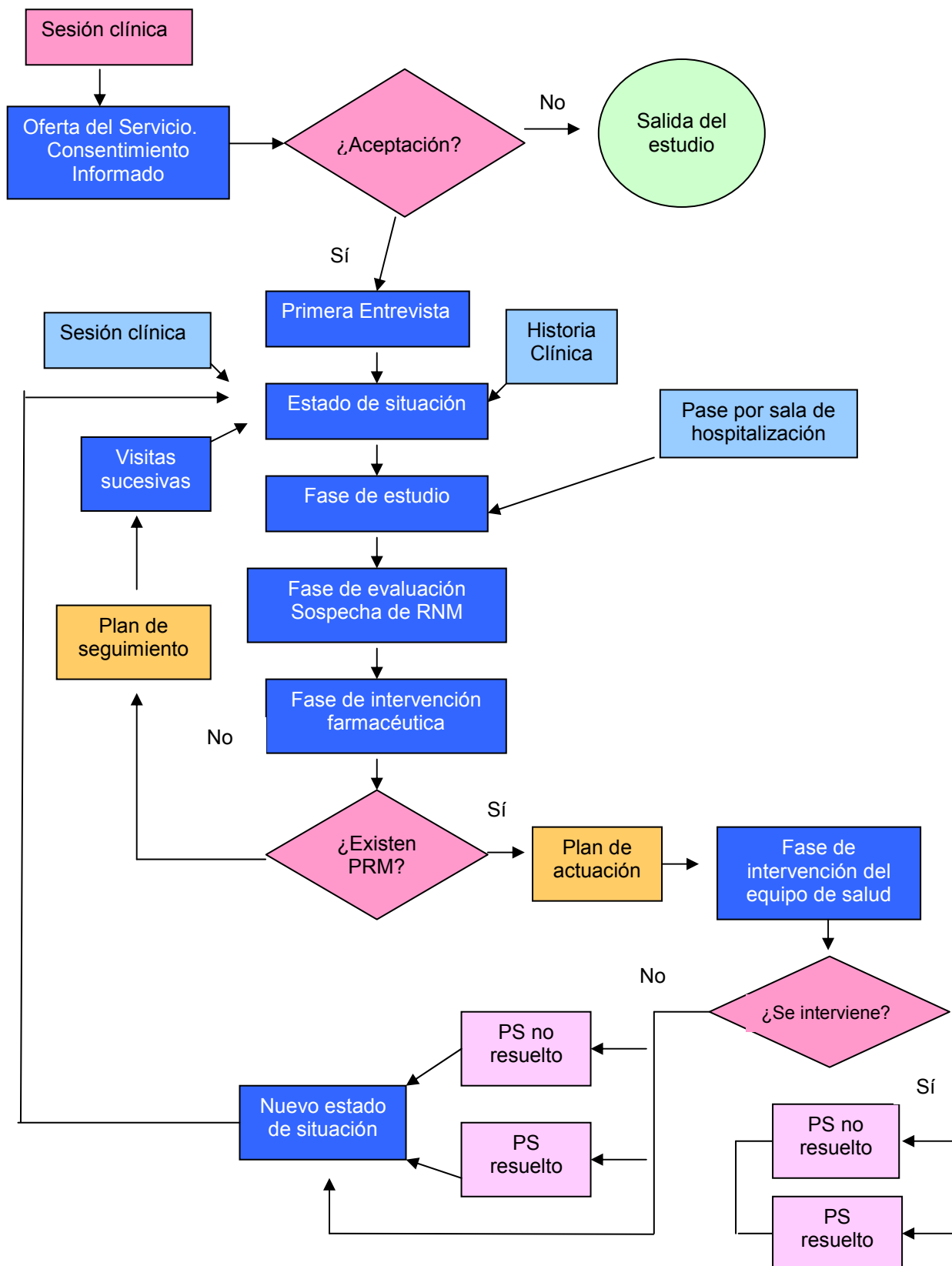
³²⁴ Xu XH, Xiong DH, Liu XG, et al. Association analyses of vitamin D-binding protein gene with compression strength index variation in Caucasian nuclear families. *Osteoporos Int* 2010; 21(1): 99–107.

³²⁵ Bollerslev J, Wilson SG, Dick IM, et al. Calcium-sensing receptor gene polymorphism A986S does not predict serum calcium level, bone mineral density, calcaneal ultrasound indices, or fracture rate in a large cohort of elderly women. *Calcif Tissue Int* 2004; 74: 12-17.

³²⁶ Cetani F, Pardi E, Borsari S, et al. Calcium-sensing receptor gene polymorphism is not associated with bone mineral density in Italian postmenopausal women. *Eur J Endocrinol* 2003; 148: 603-607.

ANEXOS

Anexo 1: Método Dáder Adaptado al Proceso Asistencial.



		Fecha							
Exámenes		Valores normales							
Hemograma y exámenes hematológicos	Hemoglobina	M: 13,6 – 17,7g/dl F: 12,0 – 15,0 g/dl							
	Hematocrito	M: 39- 49 % F: 33- 43 %							
	Hemoglobina Glucosilada	4,0 – 6,7 %							
	Glicemia	70- 110 mg/dl							
	VCM	76- 100 μm^3							
	Hematíes	M: 4,6- 6,2 millones F: 4,2- 5,4 ,millones							
	Leucocitos	48000- 10.800 mm^3							
	Monolitos	2- 8%							
	Neutrófilos	50- 70 %							
	Eosinófilos	1-3 %							
	Granulocitos	40- 60 %							
	Basófilos	0- 1 %							
	Linfocitos	20- 40 %							
	Plaquetas	150 – 350 x 10 ³ mm^3							
	VHS	M: 0- 8 mm/ hrs F: 0- 15 mm/ hrs							
PCR	0- 1								
Elementos Plasmáticos	Na	135 – 145 meq /L							
	K	3.5 – 5.01 meq /L							
	Cl	95 – 109 meq /L							
	Ca	8,6 – 10,7 mg /dL							
	Mg	1. 5 – 3 meq /L							
	F	2.5 – 4.5 mg/ dL							
	Fe	M: 80 -150 $\mu\text{g}/100\text{ml}$ F: 64- 127 $\mu\text{g}/100\text{ml}$							
Coagulación y otros	Fibrinogeno	200- 400 mg/dl							
	Ferritina	18- 300 ng/ml (18- 300 $\mu\text{g}/\text{l}$)							
	Ac. Fólico	3- 15 $\mu\text{g}/\text{l}$ suero 130- 628 $\mu\text{g}/\text{l}$ eritro							
	Tp	11 – 13 seg							
	%Tp	70 – 130 %							
	INR	1 - 10							
	TTPA	20.2 – 35 seg							
Perfil Hepático	Albumina	3.5 – 5.0 g/ dL							
	Bili. Total	0,5 – 1.2 ng/ dL							
	Bili. Directa	0,02 mg/ dL							
	Bili. Indirecta	0 – 1,0 mg/ dL							
	Fosf. alcalina	40 – 120 u/L							
	GOT	5- 32 U/l							
	GPT	7- 33 U/l							
	GGT	10 - 41 U/l							
	Amonio	10 – 80 ug/dL							
Función Renal	Amilasa	0- 130 U/l							
	Creatinina	0,7 – 1,3 ng/ dL							
	Clearence	M: 72 ml/min F: 85 ml/min							
	Ac. Urico	M: 2,0- 7,0 mg/dl F: 2,5 – 8,0 mg/dl							

Perfil lipídico	Colest.Total	< 220 mg/dl						
	LDL	<160 mg/dl						
	HDL	36- 49 mg /dL						
	TGC	160 mg /dL						
	LDH	80 – 240 u/L						
	CK total	0- 8						
	CK – MB	0- 10						
Gases arteriales	pH	7.35 – 7.45						
	PO ₂	80 – 100 mm Hg						
	PCO ₂	38 – 42 mm Hg						
	HCO ₃	24- 28 meq /L						
	BE	0 + mmol / L						
	SAT O ₂ ART	95 %						
Hormonas	TSH	0,5- 7,5 µU/ ml						
	T ₃	75 – 195 ng /dL						
	T ₄	5 – 12 ug / dL						
	T ₄ libre	0.8 – 2.2 ng/ dL						
Análisis de orina	pH	4.5 – 8.0						
	Color	Amarillo claro						
	Diuresis	500-1.800 ml						
	Densidad	1.001 – 1.020						
	Proteínas	(--)						
	Glucosa	(--) (<0,5 g/24 hrs)						
	Urea	20 – 25 g/ 24 h						
	Amoniaco	20- 70 meq/l 24 hrs 0,5 en 24 hrs						
	Bilirrubina	(--)						
	Albumina	(--)						
	Ca	< 300mg /24 hrs						
	Cl	110- 250 meq/24 hrs						
	P	0,6- 1,2 g/24 hrs						
	K	25- 100 meq /24 hrs						
	Na	85- 260 meq/ 24 hrs						
	Cuerpos Cetonicos	(--) (< 0,05 g /24 hrs						
	Hemoglobina	(--)						
	Eritrocitos	0 – 2 /campo						
	Leucocitos	50 células /ml						
	Bacterias	510.000 col/ cc						
Nitritos	(--)							
OTROS								

Anexo 4: Consentimiento informado para Seguimiento Farmacoterapéutico.



Hospital Universitario
Virgen de las Nieves
Servicio Andaluz de Salud
CONSEJERÍA DE SALUD

Consentimiento de Participación.

PROGRAMA DE ATENCIÓN FARMACÉUTICA A PACIENTES CON FRACTURA DE CADERA

Hospital Universitario Virgen de las Nieves; Universidad de Granada.

Declaración del paciente.

1. Acepto libremente a participar en el "Programa de Atención Farmacéutica de Pacientes con Fractura de Cadera", desarrollado por la farmacéutica del Hospital de Rehabilitación y Traumatología Virgen de la Nieves.
2. Estoy en conocimiento absoluto de los objetivos de dicho programa, los cuales me explicaron y estoy de acuerdo con ellos.
3. Estoy en conocimiento de que este servicio de Atención Farmacéutica es gratuito durante el tiempo que dure este estudio.
4. Me comprometo con el proyecto, para que la información que se me solicite sea de absoluta veracidad y que por ende ésta sea confidencial.
5. Los resultados obtenidos serán publicados en revistas científicas, sin que ningún dato personal me identifique.

Nombre y firma del paciente: _____

Nombre y firma de la Farmacéutica: _____

Granada, ___ / ___ 20__

Anexo 5: Encuesta para valoración de factores de riesgo de pacientes con fractura de cadera.

Nombre y apellido:		Fecha ingreso:	
Planta:	Ficha clínica:	Fecha egreso:	
Días de espera de quirófano:		Cama:	
Diagnóstico:		Motivo fractura:	
Edad:	Peso:	IMC:	
Habita:	Residencia:	Familiares:	Solo:
Obstáculo en domicilio:	escaleras		
	animales		
	alfombras		
	otros		
Fuma:	Sí (cuánto)	no	
Cafeína:	Sí (cuánto)	no	
Alcohol:	Sí (cuánto)	no	
Alimentación diaria:	desayuno		
	almuerzo		
	merienda		
	cena		
Ejercicio:	Sí (cuánto)	no	
Ingesta de Ca/VitD:	Nº vasos de leche/día		
	yogurt/día		
	porciones de Queso/día		
Patología ósea diagnóstico:	Sí (cuándo):	no	
Medicamentos:	_____		


Densitometría ósea:	Sí (cuándo y cuál)	no	
Utiliza o usó TRH (mujer):	Sí (cuánto)	no	
Caídas previas	Sí (cuánto)	no	
Fracturas previas	Sí (cuánto)	no	
Historia familiar fracturas	Sí	no	
Depende para levantarse:	Sí	no	
necesita los brazos:	Sí	no	
medio para caminar:			
Debilidad muscular:	Sí	no	
Problemas visuales	Sí	no	
Utiliza fármacos como:	Sí	no	
Benzodiacepinas	_____		
Anticonvulsivantes	_____		
Litio	_____		
Heparina	_____		
IB Protones	_____		
Glitazonas	_____		
Corticoides	_____		

Anexo 6: Tríptico educativo para la prevención de fracturas de cadera.


**PARA UN HUESO SIN FRACTURAS:
PREVENCIÓN Y HÁBITOS DE VIDA SALUDABLES**

PRINCIPALES FACTORES DE RIESGOS DE FRACTURA

- Tendencias a las caídas
- Osteoporosis
- Edad
- Raza blanca
- Densidad masa ósea baja (DMO)
- Ingesta baja de Calcio y Vitamina D
- Índice de masa corporal baja (IMC)
- Tabaco, alcohol, cafeína
- Baja actividad física
- Historia familiar con antecedentes de fracturas
- Dificultad para andar y equilibrio
- Agudeza visual disminuida
- Diámetro de pantorrilla pequeño
- Fármacos (anticonvulsivantes, litio, heparina, omeprazol)




2.- Realizar ejercicios



El ejercicio mantiene el calcio que se encuentra en el hueso. El mantener el peso y aumentar el tono muscular por medio del ejercicio, mejora la agilidad, la fuerza, y el equilibrio lo que puede reducir el riesgo de caídas. A tolerancia se recomienda: trotar, bicicleta, natación, caminar en plano. Además una exposición moderada al sol es recomendable para la prevención de osteoporosis.

HABITOS DE VIDA SALUDABLES

1.- Dieta saludable



Consumir una alimentación equilibrada sin exceso de grasa, ni proteínas. Que sean ricos en calcio y vitamina D, como productos lácteos: leches, yogurt, quesos. Verduras: acelgas, espinacas, cardos, entre otros y frutas. Pescados y mariscos. Frutos secos: almendras, avellanas. Legumbres. Los productos desnatados no reducen el aporte de Calcio.

Se necesitan consumir **1200mg de calcio** al día en el adulto mayor.

Esta cantidad se obtiene con:

- 5 vasos de leche al día ó 7 yogures ó 150 g de queso manchego curado. Los quesos frescos contiene menor cantidad de calcio*.

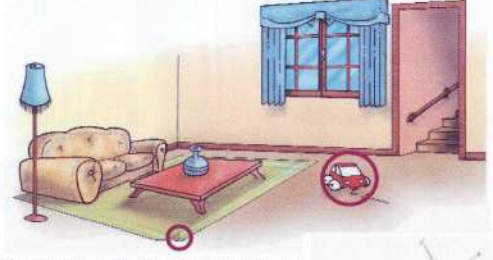
Una combinación diaria podría ser:

- 1 vaso de leche en el desayuno u otro en la cena.
- 1 batido de leche a media mañana.
- 1 yogurt o un trozo de queso en la comida.
- 1 yogurt o un bocadillo de queso en la merienda

* 50g de queso manchego = 100g de queso fresco

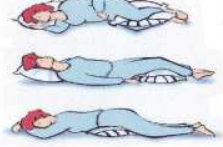


PREVENCIÓN de FRACTURAS




En el hogar los suecos deben mantenerse libres de obstáculos con los que se pueda tropezar (picos de la alfombra, juguetes, cables, etc). Las escaleras deben tener pasamanos y el baño alfombrillas antideslizantes y pasamanos. Mantenga limpio y seco el suelo de la cocina. La iluminación debe ser buena. Utilice zapato con suela de goma. Esté atento por donde anda, puesto que puede haber alguna limitación: aceras, charco, escalones, etc.


4.- Recomendaciones posturales:




A Las mejores posiciones para dormir son de lado con las piernas flexionadas y una almohada entre las rodillas (A), boca arriba con una almohada bajo las rodillas (B) y boca abajo con la almohada en el vientre (C).



Para una correcta posición de pie mientras se realizan tareas hogareñas, se debe utilizar un taburete y contraer los músculos abdominales y con los hombros hacia atrás.





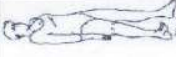



La mejor amiga de la espalda es la silla recta, y no excesivamente baja. Los pies deben estar apoyados en el suelo o en un pequeño soporte. La espalda y el cuello deben formar una línea recta un poco adelantada de las caderas.





Si lleva bolsa en la mano, es mejor repartir en peso entre los 2 brazos y si es sólo 1 objeto, llevarlo cogido contra el pecho.

Tras una FC es recomendable realizar los siguientes ejercicios durante unos 15-20 min al acostarse y otros antes de levantarse.



	B Tumbado boca arriba con las piernas extendidas (A), doblar la derecha sobre el pecho y estirla hasta la vertical (B) y luego bajar lentamente la pierna extendida hasta llegar a la posición de partida.
	C Desde la posición inicial (A), separar la pierna derecha lateralmente (C). Volver a la posición inicial. Repetirlo con la pierna izquierda.
	D Tumbado boca arriba con las piernas flexionadas y con los pies apoyados en el suelo (D), levantar las nálgas lo más alto posible (D ₁).
	E Tumbado lateralmente, con la mano en la nuca y la otra apoyada en el suelo delante del pecho. La pierna de lado debe quedar flexionada y la otra extendida hacia delante (E). Levantar la pierna extendida hasta la vertical y volver al suelo por detrás del cuerpo describiendo un círculo, después hacerlo en sentido inverso (E ₁). Repetir con la otra pierna.
	F De pie sobre un escalón (F), descansando el peso del cuerpo sobre la pierna sana y dejando colgar la otra en el vacío. Balancear la pierna hacia adelante y hacia atrás.

Anexo 7: Hoja de información para el paciente que participa en estudio farmacogenético.

 <p>Hospital Universitario Virgen de las Nieves Instituto Andaluz de Salud CONSEJERÍA DE SALUD</p>	HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE	 <p>UNIDAD DE FARMACOGENÉTICA</p>
<p>Proyecto de Investigación: Estudio de polimorfismos genéticos implicados en las fracturas de cadera y respuesta a Alendronato en pacientes con riesgo de fractura.</p>		
<p>Promotor del Proyecto: Unidad de Farmacogenética. Servicio de Farmacia. Investigadores Responsables del Proyecto: Karen Rojo, Margarita Aguilera.</p>		
<p>Objetivos: 1.- Identificar y analizar la variabilidad genética en los pacientes con fractura de cadera. 2.- Evaluar y asociar la influencia de un fármaco antirresortivo en pacientes con riesgo de fractura de cadera que supongan un impacto en la predicción y ajuste individualizado del tratamiento, y predecir la predisposición genética a los efectos secundarios.</p>		
<p>Procedimiento: Deseo participar en el estudio y conozco que si soy paciente: Fracturado de cadera: Se me extraerá 3 ml de sangre en la primera visita para analizar la variabilidad genética; ó Con riesgo de fracturas: Se me extraerá 3 ml de sangre en la primera visita para analizar los aspectos farmacogenéticos y su relación con mi respuesta al tratamiento prescrito. Esta muestra sólo se utilizará para los fines exclusivos de dicha investigación.</p>		
<p>Beneficios: Puedo no tener beneficios directos con la participación en este proyecto, como también podría mejorar mi estado de salud con el apoyo del farmacéutico como especialista en medicamentos. El análisis farmacogenético podría ayudar al médico a determinar si es posible una monitorización y juste de mi tratamiento y contribuir con mis datos a una evaluación epidemiológica.</p>		
<p>Riesgos: Como es necesaria una muestra de sangre, posiblemente el pinchazo de la extracción de sangre puede ocasionar hematoma y dolor. Estos síntomas no son graves ni existe riesgo para la salud.</p>		
<p>Resultados: Serán publicados en prensa científica, sin ningún dato que me identifique.</p>		
<p>Confidencialidad: Toda la información obtenida en este estudio es confidencial. Y será utilizada para fines estrictamente de investigación. Mis datos personales serán protegidos e incluidos en un fichero que deberá estar sometido a la ley 15/1999 de 13 de diciembre. Podré solicitar en todo momento la información y resultado obtenidos relacionada con mi persona.</p>		

Anexo 8: Consentimiento informado farmacogenético.

H.U. Virgen de las Nieves
U.G.C. Farmacia



CONSENTIMIENTO INFORMADO

HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES

CONSENTIMIENTO DEL PACIENTE PARA ANÁLISIS FARMACOGENÉTICOS

1. Yo declaro bajo mi responsabilidad que he leído y comprendo la Hoja de Información sobre el análisis y acepto participar en él.

2. Se me ha entregado una copia de la Hoja de Información al paciente y una copia de este consentimiento informado, fechado y firmado.

Comprendo las características y el objetivo del análisis farmacogenético.

Se me ha dado tiempo y oportunidad para realizar preguntas.

3. Comprendo que mi participación es voluntaria.

4. Comprendo que soy libre de retirarme del análisis en cualquier momento. Tras ello se procederá a la destrucción de la muestra codificada. Si se hubiera retirado previamente el vínculo de identificación de la muestra, no se podrá relacionar conmigo, de forma que no se podrá destruir.

5. Entiendo que los resultados del mismo se comunicarán sólo en caso de que dichos hallazgos tengan una implicación significativa para la salud de los participantes y que exista una posibilidad de mejorar su condición de salud.

Punto 1.- Yo DOY / No DOY mi consentimiento voluntariamente para que se pueda realizar el análisis farmacogenético a mi muestra de ADN y tratamiento farmacológico.

Punto 2.- Yo DOY / No DOY mi consentimiento voluntariamente para que se guarde mi muestra de ADN, con desvinculación de la identidad.

Fecha:/...../200...

Firma del paciente:.....

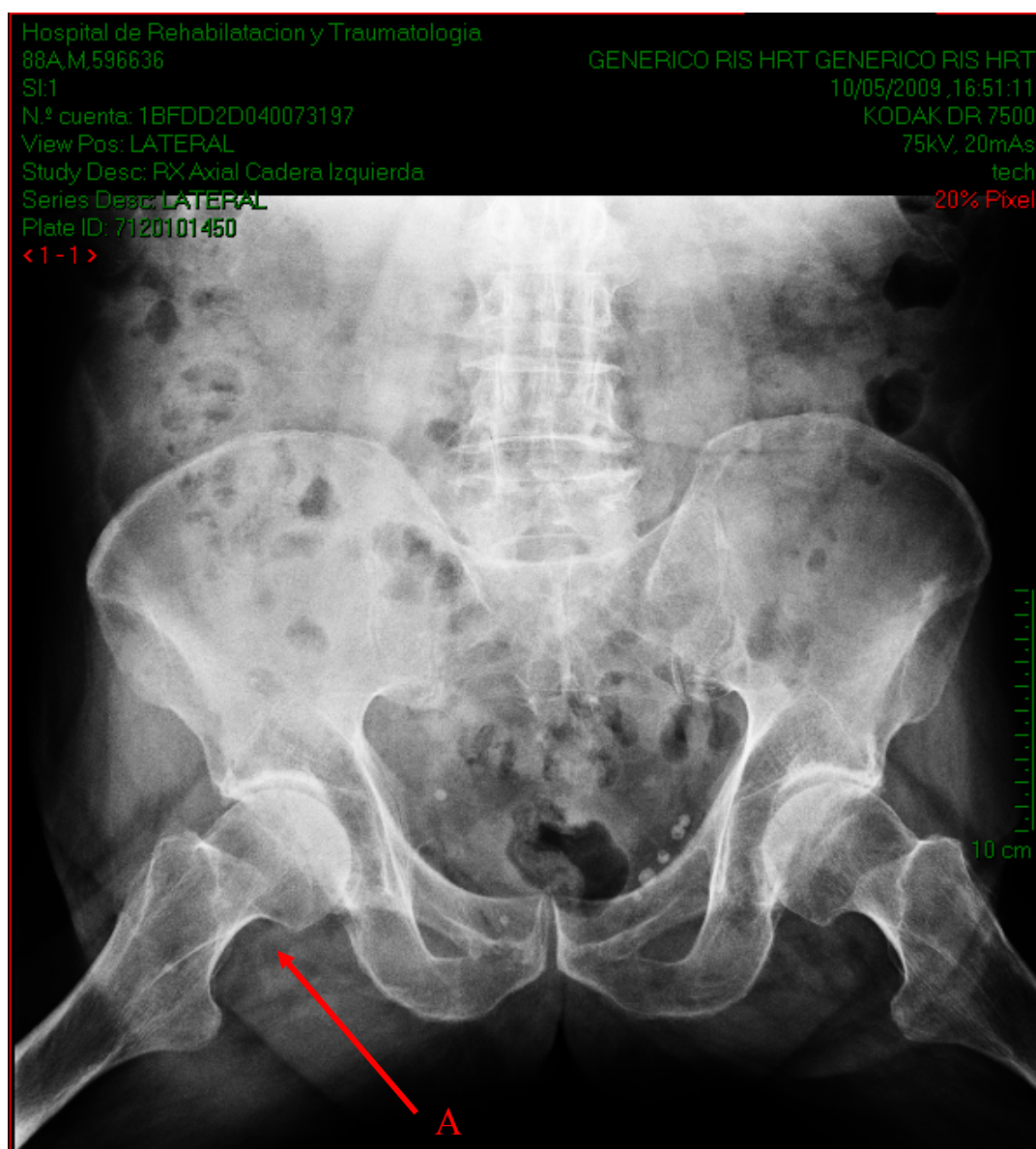
Fecha:/...../200...

Firma de la persona que proporciona la información y el consentimiento

Fecha:/...../200...

Firma del Investigador/ Médico Colaborador o la persona designada para proporcionar la información

Anexo 9: Visualización de fractura de cadera mediante radiografía convencional.



A: Fractura intracapsular cervical de fémur izquierdo.

Anexo 10: Tríptico del tratamiento farmacológico para la prevención de fractura.

Folleto didáctico

TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO PARA LA PREVENCIÓN DE FRACTURAS



Fractura de la cadera

INFORMACIÓN ÚTIL PARA EL TRATAMIENTO CON FOSAVANCE

¿Qué es?
Es un medicamento utilizado para reducir el riesgo de fractura de cadera, que contiene:
Ácido alendronico + Vitamina D



¿Cómo tomarlo?
o Una vez a la semana, siempre el mismo día



- o En ayunas.
- o No comer ni beber hasta al menos 30 minutos después

o Con un vaso lleno de agua del grifo (NO agua mineral ni té, leche, café, zumos, etc.)




- o No masticar
- o No se acuesta, permanezca erguido hasta al menos 30 minutos después de tomar Fosavance





¿Qué hacer si un día se me olvida tomarlo?

L	M	X	J	V	S	D
X						
X			X			
X			X			
X			X			

Tomar el comprimido a la mañana siguiente de recordarlo. La semana próxima volver a tomarlo el día original.



Fonos: 665160125
956-020359



Consulta a su farmacéutico si:



- o Es alérgico a la lactosa, sacarosa, o alendronato
- o Tiene problemas de garganta o estómago
- o Debe realizarse una operación dental
- o Nota cualquier síntoma o molestia tras tomar Fosavance

Realizado por:
Farmacéuticas: Karen Rojo Venegas,
Margarita Aguilera Gómez,
Médicos: Antonio García Sánchez,
Baldomero López Mezquita.

Anexo 11: Ficha de parámetros epidemiológicos y clínicos para análisis de asociación farmacogenético: factores de riesgo, densitometría, metabolismo mineral óseo.

DATOS PACIENTES ESTUDIO FARMACOGENÉTICO				Nº paciente:
NOMBRE-APELLIDO:		HISTORIA CLÍNICA:		FECHA CONSULTA:
EDAD:	PESO:	ALTURA:	IMC:	LUGAR DE NACIMIENTO:
FACTORES DE RIESGO:				
Caídas en el último año:	No:	Si:	cantidad:	FRAX= %
Fracturas después de los 50 años:	No:	Si:	zona de fracturas:	
Padres con fractura de cadera:	No:	Si:	madre: padre:	
Consumo de tabaco:	No:	Si:	cantidad/diaria	
Consumo de alcohol:	No:	Si:	cantidad/diaria:	
Actividad física	No:	Si:	tipo:	
Dificultad para caminar	No:	Si:	(uso de bastón, andador, muleta, silla de rueda)	
Enfermedades osteoarticulares	No:	Si:	cuál:	
Consumo habitual de (BDZ, IBP, Antiepilépticos, Glitazonas, Glucocortic.)	No:	Si:	cuál:	
Ingesta diaria de calcio en lácteos (yogurt natural=150mg, yogurt desnatado=200mg, vaso leche=250mg)	No:	Si:	<500mg___ , 500-100mg ___, >1000___	
DENSITOMETRÍA			Estado mineral óseo	
DMO cadera (cuello, trocánter, total):			Osteopenia:	
DMO lumbar (L1-L4):			Osteoporosis:	
ANALÍTICA METABOLISMO MINERAL ÓSEO			OBSERVACIONES:	
Marcadores óseos de formación y resorción				
Beta crooslap:				
Osteocalcina N-MID:				
Propeptido colageno tipo 1 (P1NP):				
PTH:				
Calcemia:				
Calcuria de 24h:				
Fosforo:				
25-dihidroxicálciferol (1,25(OH)2D):				
Otros:				

Anexo 12: Datos clínicos: Densitometría y Analítica de metabolismo óseo.

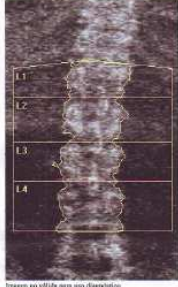
HOSPITAL VIRGEN DE LAS NIEVES

Medicina Nuclear
Avda. Fuerzas Armadas,2, GRANADA 18014

Teléfono: 958 020110

Nombre: ANGLITA GONZALEZ, ANGELES Sexo: Mujer Altura: 150.0 cm
ID del paciente: 1276109 Raza: Blanca Peso: 68.0 kg
DOB: 01 April 1939 Edad: 70

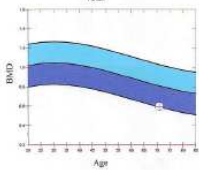
Médico remitente: HRT C-10



Información de la exploración:
Fecha exploración: 08 Febrero 2010 ID: A0208101
Tipo exploración: Cadera izquierda
Análisis: 08 Febrero 2010 19:21 Versión 12.6.15
Lumbar Spine (auto low density)
Operador: Cadera izquierda
Modelo: QDR 4500C (SN 49791)
Comentario:

Región	Área (cm²)	CMO (g)	BMO (g/cm²)	T-score	Z-score
L1	10.80	5.32	0.493	-3.9	-2.0
L2	12.87	6.84	0.532	-4.5	-2.4
L3	11.95	8.47	0.709	-3.4	-1.2
L4	16.31	10.31	0.632	-4.4	-2.1
Total	51.93	30.93	0.596	-4.1	-1.9

CV de BMD Total: 1.0%, ACI = 1.03, BC = 1.05, TI = 0.92
Clasificación de la OMS: Osteoporosis
Riesgo de fractura: Alto



Comentario del médico


HOSPITAL VIRGEN DE LAS NIEVES

Medicina Nuclear
Avda. Fuerzas Armadas,2, GRANADA 18014

Teléfono: 958 020110

Nombre: ANGLITA GONZALEZ, ANGELES Sexo: Mujer Altura: 150.0 cm
ID del paciente: 1276109 Raza: Blanca Peso: 68.0 kg
DOB: 01 April 1939 Edad: 70

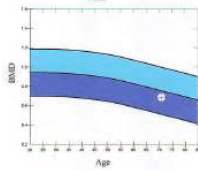
Médico remitente: HRT C-10



Información de la exploración:
Fecha exploración: 08 Febrero 2010 ID: A0208101
Tipo exploración: Cadera izquierda
Análisis: 08 Febrero 2010 19:24 Versión 12.6.15
Cadera izquierda
Operador: Cadera izquierda
Modelo: QDR 4500C (SN 49791)
Comentario:

Región	Área (cm²)	CMO (g)	BMO (g/cm²)	T-score	Z-score
Cuello	2.27	2.52	1.108	-2.3	-4.2
Trocánter	8.33	3.87	0.464	-2.4	-1.0
Ínter	17.94	13.19	0.735	-3.4	-1.1
Total	28.54	19.57	0.646	-2.1	-0.6
de Ward	1.12	1.05	0.939	-1.7	-4.3

CV de BMD Total: 1.0%, ACI = 1.04, BC = 1.05, TI = 0.92
WHO Classification: Osteopenia
Fracture Risk: Increased



Comentario del médico

Hospital Universitario "Virgen de las Nieves"

SERVICIO DE ANALISIS CLINICOS

Avda Fuerzas Armadas, 2 - GRANADA

Nº Petición: 607203769 Foc. Ext.: 07/08/2010 Nº Historia: 100132999

Nombre: TRIGO IZQUIERDO, CARMEN Sexo: Mujer
Edad: Origen Petic.: Consultas de HMQ

Doctor: NO CONSTA Servicio: ANÁLISIS CLÍNICOS Cama: Diagnóstico: Destino: LAB. ANALISIS CLINICOS

Observaciones: KAREN

SECCIÓN DE BIOQUÍMICA

Dr. Jose Vicente García Lario Dra. Ana Nogueras López y Dr. Juan Rodríguez Gil Tel: 958020718

Validado por: Isabel Casanovas

BIOQUÍMICA SUERO			
CREATININA	0.72	mg/dL	(0.5 - 0.9)
FOSFATASA ALCALINA	50	U/L	(35 - 108)
CALCIO	10.0	mg/dL	(8.6 - 10.2)
FOSFORO	3.9	mg/dL	(2.7 - 4.5)
PROTEINAS TOTALES	6.7	g/dL	(6.8 - 8.7)

BIOQUÍMICA ORINA			
CREATININA concentración	0.60	g/L	(0.28 - 2.17)
CREATININA Excretada en 24 h	1.2	g/24 h	(0.75 - 3)
CALCIO concentración	2.5	mg/dL	(7 - 23)
COCIENTE CALCIO / CREATININA	0.0		(0 - 0.2)
CALCIO Excretado en 24 h	50.0	mg/24 h	(70 - 300)
FOSFORO concentración	0.34	g/L	(0.4 - 1.06)
FOSFORO Excretado en 24 h	0.68	g/24 h	(0.4 - 2)
DIURESIS 24 h	2000	mL	(1000 - 2500)

Hospital Universitario "Virgen de las Nieves"

Servicio de Análisis Clínicos

Avda Fuerzas Armadas, 2 - GRANADA

Nº Petición: 607203768 Fecha: Nº Historia: 100132999

Nombre: TRIGO IZQUIERDO, CARMEN

Doctor: NO CONSTA Servicio: ANÁLISIS CLÍNICOS Cama: Diagnóstico: Origen Petic.: Consultas de HMQ

Destino: LAB. ANALISIS CLINICOS

Observaciones: KAREN



SECCIÓN DE HORMONAS

Dr. Rafael Poyatos


Validado por: Soledad García Chilema

METABOLISMO FOSFO-CALCIO			
PTH INTACTA	55	pg/mL	Enfermos con IRC [70 - 250] Población General (20 - 70)
CALCEMIA CORREGIDA (PARA PTH)*	10.4	mg/dL	[8.4 - 10.2]
EXCRECIÓN CALCIO ORINA 24 h *	0.03	mg / ml FG	[0.1 - 0.2]
BETA CROSSLAP *	133	pg/mL	[550 - 1000]
OSTEOCALCINA N-MID *	13	ng/mL	[15 - 48]
PROPEP. COLAGENO TIPO 1 (P1NP)	19	ng/ml	[16 - 66]
25 (OH) VITAMINA D3 *	27	ng/ml	[30 - 75]
IND. EXCRECC. FOSFATO 24H	-0.04		[-0.09 - 0.09]
RTP (REABS.TUB. FOSFATO 24H)	89.5	%	[80 - 90]

Anexo 13: Formulario de petición de estudio farmacogenético.

	Formulario de petición de estudio farmacogenético.			
ESTUDIO FARMACOGENÉTICO <input type="checkbox"/> INVESTIGACIÓN <input type="checkbox"/> ENSAYO CLÍNICO <input type="checkbox"/> CLÍNICO				
Etiqueta del paciente Nombre: Apellidos: Edad:	Médico-Patólogo: Enfermero-Extracción:	Servicio Solicitante:	Médico Prescriptor	
TRATAMIENTO-FÁRMACO/S ADMINISTRADO/S:				
EXTRACCIÓN DE MUESTRA: 3 ml DE SANGRE EN UN TUBO CON EDTA / TEJIDO FRESCO / TEJIDO FIJADO				
GENOTIPADO DE ENZIMAS DE METABOLISMO	DIANAS DE MEDICAMENTOS	SNPs INVESTIGACIÓN	GENOTIPADO GLOBAL	
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	
TRANSPORTADORES DE MEDICAMENTOS	CITOQUINAS Y OTROS	DATOS CLÍNICOS COMPLEMENTARIOS DEL PACIENTE		
<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	- Indicación del examen - Fecha de inicio del tratamiento - Posología - Sobredosis/Fecha <input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No - Otros (INR)		
		Polimedicación	Alergias a medicamentos	
<p>* El listado se puede modificar y detallar en función de las necesidades de cada servicio y de los avances en el área de farmacogenética. SERVICIO DE SECUENCIACIÓN: LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO VIRGEN DE LAS NIEVES Contacto: Dra. Margarita Aguilera Gómez: maguilera@ugr.es.</p>				

Anexo 15: Informe de genotipado y polimorfismos asociados a la osteoporosis y tratamiento. Consejo Farmacogenético.

 Hospital Universitario Virgen de las Nieves Servicio Andaluz de Salud CONSEJERÍA DE SALUD Unidad de Farmacogenética Servicio de Farmacia Granada	<u>XXXXXXX</u> 1º apellido <u>XXXXXXX</u> Nº Historia Clínica	<u>XXXXXXX</u> 2º apellido <u>65 años</u> Edad	<u>XXXXXXXX</u> Nombre <u>Reumatología</u> Servicio clínico	
	Informe farmacogenético Servicio Farmacia Hospitalaria F-F-FG-04 Versión modificada 04/06/2010.			Muestra: <u>ADN</u> Fecha de la extracción ADN: <u>8/11/10</u> Fecha del informe: <u>29/11/10</u>
INFORME DE GENOTIPADO Y POLIMORFISMOS ASOCIADOS A LA OSTEOPOROSIS Y TRATAMIENTO Médico responsable: <u>Antonio García Sánchez</u> Servicio solicitante: <u>Reumatología</u> Tratamiento farmacoterapéutico: Alendronato asociado a Vitamina D. Suplemento de Calcio.				
ESTUDIO FARMACOGENÉTICO: <input type="checkbox"/> Investigación <input type="checkbox"/> Ensayo clínico <input checked="" type="checkbox"/> Piloto				
Gen	Polimorfismo (SNP)	Locus SNP	Resultados Genotipado	
			Homocigoto	Heterocigoto
ALOX-15	rs7220870 <input type="checkbox"/>	G48924T		
CaSR	rs1801725 <input checked="" type="checkbox"/>	G986T	GG	-
	rs1042636 <input checked="" type="checkbox"/>	A990G	AA	
	rs1801726 <input checked="" type="checkbox"/>	C1011G	-	CG
COL1A1	rs1800012 <input type="checkbox"/>	G2046T		
CYP2C8	rs1934951 <input type="checkbox"/>	G1291+106A		
DBP	rs4588 <input checked="" type="checkbox"/>	C1307A	GG	
	rs7041 <input checked="" type="checkbox"/>	T1296G	TT	
ERS- α	rs2234693 <input type="checkbox"/>	T397C		
ERS- β	rs4986938 <input type="checkbox"/>	G1730A		
FDPS	rs 2297480 <input type="checkbox"/>	A99C		
LRP-5	rs3736228 <input type="checkbox"/>	C3824T		
LRP-6	rs2302685 <input type="checkbox"/>	G3184A		
MMP-2	rs243865 <input type="checkbox"/>	C>T		
OPG	rs2073618 <input type="checkbox"/>	G1181C		
	rs3102735 <input type="checkbox"/>	A163G		
RANK	rs3018362 <input type="checkbox"/>	A>G		
RANK-L	rs9525641 <input type="checkbox"/>	C290T		
VDR	rs1544410 <input checked="" type="checkbox"/>	G63980A	GG	-
	rs10735810 <input checked="" type="checkbox"/>	T2C	-	CT
Interpretación y Comentarios: La interpretación de estos resultados está en una fase piloto y atiende al estado actual de los resultados de investigación en esta área, pudiendo variar en el futuro: - Homigoto G986T CaSR, puede implicar un posible doble riesgo de presentar una fractura de cadera. - Heterocigoto T2C VDR, puede implicar una mayor asociación con baja DMO a nivel femoral. - Homigoto T1296G DBP, puede implicar una asociación con bajo valor del parámetro geométrico óseo (CSI). - Se solicita que se consideren y evalúen junto a estos resultados los parámetros clínicos fenotípicos.				
OBSERVACIONES: - Los resultados obtenidos proceden exclusivamente de información genética. La respuesta a los fármacos se podría ver afectada por otros factores como la edad, sexo, peso, altura, tratamientos concomitantes, enfermedades, etc. - Las decisiones sobre el tratamiento quedan a criterio del médico que siempre realizará una evaluación integral del paciente.				
Firma: Investigador principal: Karen Rojo Venegas (krojo@correo.ugr.es) Coordinadora de la Unidad: Margarita Aguilera Gómez (maguilera@ugr.es)				
Unidad de Farmacogenética Av. de las Fuerzas Armadas 2, Fono: 928-020359. Granada, España.				

11. OTROS DOCUMENTOS

Documento 1: Certificado de aprobación del Comité ético en Investigación Clínica del hospital Universitario Virgen de las Nieves.



Servicio Andaluz de Salud
CONSEJERÍA DE SALUD

D. Miguel Ángel Calleja Hernández, Vicepresidente y Secretario del Comité Ético de Investigación clínica del Hospital Virgen de las Nieves

CERTIFICA

Que este comité ha evaluado la propuesta del Investigador Principal D^a. Karen Rojo Venegas para que se realice el estudio titulado: "Seguimiento Farmacoterapéutico y Farmacogenético en pacientes con riesgo de sufrir fracturas osteoporóticas" en el Servicio de Farmacia de este Hospital y que considera que:

Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.

La capacidad del investigador y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el consentimiento informado como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el estudio.

Y que este Comité acepta que dicho estudio sea realizado en nuestro Hospital en colaboración con la Facultad de Farmacia por la Dra. D^a. Margarita Aguilera Gómez como investigadora principal y colaboradores.

Lo que firmo en Granada a veintisiete de noviembre de dos mil ocho.



Documento 2: Trabajos de producción científica: Asistencias a congresos nacionales e internacionales y comunicaciones orales y/o póster.

Autores: **Rojo K**, Aznarte P, Conde MC, Calleja MA.

Congreso: 53th Congreso de la Sociedad Española de Farmacéuticos Hospitalarios (SEFH) y 1^{er} Encuentro Iberoamericano de farmacéuticos de hospital.

Título: "Valoración de factores de riesgo de fractura de cadera como estrategia de intervención farmacéutica dirigida a la prevención primaria".

Lugar/fecha: Valencia (España), 21 - 24 Octubre 2008.

Modalidad: Poster. Publicada en la Revista Científica.

Autores: **Rojo K**, Aznarte P, Calleja MA, Martínez JL.

Congreso: II Congreso nacional de la Sociedad Española de Fracturas Osteoporóticas (SEFRAOS).

Título: "Valoración de factores de riesgos y prevención secundaria en pacientes hospitalizados por fractura de cadera"

Lugar/fecha: Madrid (España), 5 - 7 Febrero 2009.

Modalidad: Poster.

Autores: Cardenas M, López MD, Aznarte P, **Rojo K**, Calleja MA.

Congreso: VI Congreso de la Sociedad Andaluza de Farmacéuticos de hospitales y Centros Sociosanitarios.

Título: "Estrategia para evitar duplicidad terapéutica en pacientes con osteoporosis tratados con ácido zoledrónico"

Lugar/fecha: Cordoba (España), 16 - 18 Abril 2009.

Modalidad: Poster. Publicada en la Revista Científica.

Autores: **Rojo K**, Aguilera M, Calleja MA.

Congreso: Minerva School on Pharmacogenetics: Improving the safety and efficacy of medicines.

Título: "Methodological strategy to study the pharmacogenetic polymorphisms involved in the response to anti-resorptives drugs in osteoporosis patients with pharmacotherapeutic follow-up".

Lugar/fecha: Tel-aviv (Israel), 21 - 25 Junio 2009.

Modalidad: Poster.

Autores: **Rojo K**, Aguilera M, Calleja MA.

Congreso: International Meeting Pharmacogenomics and Personalized medicine.

Título: Pharmacogenetics of hip fracture for individualized therapeutics response.

Lugar/fecha: Hinxton-Cambridge (Inglaterra), 12 - 15 Septiembre 2009.

Modalidad: Poster.

Autores: **Rojo K**, Aguilera M, Calleja MA.

Congreso: European Congress Hospitalary Pharmacist. Focus on Pharmacotherapy-Hospital pharmacists advancing patient care.

Título: Pharmacogenetics of hip fracture for individualized therapeutic response: routine tools for clinical application.

Lugar/fecha: Niza (Francia), 24 - 26 Marzo 2010.

Modalidad: Poster. Publicada en la Revista Científica.

Autores: **Rojo K**, Aguilera M, Cañada M, Eisman J, García A, Calleja MA.

Congreso: VII Congreso de la Sociedad Andaluza de Farmacéuticos hospitalarios (SAFH). Compartiendo Estrategias de Seguridad.

Título: Farmacogenética de fractura osteoporótica: mejora de la orientación de las respuestas terapéuticas a través del desarrollo y aplicación de herramientas de genética clínica de rutina.

Lugar/fecha: Ronda (España), 13 - 16 Abril 2010.

Modalidad: Poster. Publicada en la Revista Científica.

Autores: Aguilera M, Chemello C, Plaza C, **Rojo K**, González D, Calleja MA.

Congreso: IX Simposium de resultados del programada Dáder de Seguimiento Farmacoterapéutico (Simpodader 09). De la dispensación al Seguimiento.

Título: Farmacogenética clínica: una herramienta útil para el seguimiento farmacoterapéutico hospitalario.

Lugar/fecha: Ciudad Real (España), 4 – 6 Junio 2010.

Modalidad: oral.

Autores: **Rojo K**, Aguilera M, Cañada M, Plaza C, Chemello C, et al.

Congreso: European Science Foundation Research conferences. Pharmacogenomics: Practical Applications in Routine Medical Practice.

Título: “Searching Relevant Pharmacogenetic Biomarker of hip fracture: application of clinical routine tools in a case control study”.

Fecha/Lugar: Sant Feliu de Guixols (España), 6 -11 Junio 2010.

Modalidad: Póster

Autores: Aguilera M, Cañadas M, Chemello C, **Rojo K**, et al.

Congreso: European Science Foundation Research conferences. Pharmacogenomics: Practical Applications in Routine Medical Practice.

Título: ISO 9001:2008 Accreditation: Requirements for quality and competence of a translational hospital unit of pharmacogenetics: facilities and difficulties.

Fecha/Lugar: Sant Feliu de Guixols (España), 6 -11 Junio 2010.

Modalidad: Póster

Autores: **Rojo K**, Aguilera M, Cañada M, García A, Eisman J, López JM, et al.

Congreso: IV Congreso de la Sociedad Española de Farmacogenética Farmacogenómica (SEFF).

Título: Rol de Polimorfismos del Gen VDR en Fracturas Osteoporótica de Cadera en una Población Adulta Andaluza.

Lugar/fecha: Pamplona (España), 2 - 3 Septiembre 2010.

Modalidad: Oral.

Autores: **Rojo K**, Aguilera M, Cañadas M, López J, Navarro-Pelayo M, et al.
Congreso: XXIII Annual Congress of the European Association of Nuclear Medicine (EANM).

Título: Pilot Assay for Comparison of Bone Mineral Density and Genetic Polymorphisms in Patients with Risk of Hip Fractures.

Lugar/fecha: Viena (Austria), 9 - 13 Octubre 2010.

Modalidad: Póster. Publicada en la Revista Científica.

Autores: **Rojo K**, Aguilera M, Cañada M, García A, López-Mezquita B, Calleja MA.

Congreso: 55th Congreso de Sociedad Española de Farmacéuticos Hospitalarios (SEFH) y 3^{er} Encuentro Iberoamericano de farmacéuticos de hospital.

Título: Frecuencia de polimorfismos genéticos en pacientes con fracturas osteoporóticas.

Lugar/fecha: Madrid (España), 19 - 22 Octubre, 2010

Modalidad: Póster. Publicada en la Revista Científica.

Autores: **Rojo K**, Aguilera M, Cañada M, García A, López J, Martínez JL, et al.

Congreso: XXIX Congreso Internacional Sociedad Farmacéutica Mediterráneo Latino (SFML).

Título: Polimorfismos en el gen VDR y riesgo de fracturas osteoporóticas de cadera en una población adulta española.

Lugar/fecha: Granada (España), 15-18 Septiembre 2010.

Modalidad: Oral. Publicada en la Revista Científica.

Autores: **Rojo K**, Aguilera M, Cañada M, Eisman J, Salazar M, Calleja MA.

Congreso: 45th American Society Health Pharmacist (ASHP). Midyear clinical Meeting and Exhibition.

Título: Pharmacogenetic as a diagnostic tool in osteoporosis-related bone fracture.

Lugar/fecha: California (Estados Unidos), 5-9 Diciembre 2010.

Modalidad: Poster. Publicada en la Revista Científica.

Autores: Adela M, Salazar M, Ferrit M, **Rojo K**.

Congreso: 45th American Society Health Pharmacist (ASHP). Midyear clinical Meeting and Exhibition.

Título: Dosage adjustment in patients with renal and hepatic deficiencies: pharmaceutical intervention.

Lugar/fecha: California (Estados Unidos), 5-9 Diciembre 2010.

Modalidad: Poster. Publicada en la Revista Científica.

Autores: Ferrit M, Cancela B, Araque P, Alañon A, Jimenez A, **Rojo K**, et al.

Congreso: 16th European Congress Hospitalary Pharmacist. Hospital Pharmacists in a changing world - opportunities and challenges.

Título: Retrospective Study on Adverse Drug Reactions in a General Hospital.

Lugar/fecha: Viena (Austria), 30 Marzo - 1 Abril 2011.

Modalidad: Póster. Publicada en la Revista Científica.

Autores: Ferrit M, Cancela B, Alañon A, Araque P, Aznarte P, **Rojo K**, et al.
Congreso: 16th European Congress Hospitalary Pharmacist. Hospital Pharmacists in a changing world - opportunities and challenges.
Título: Establishment of a Mentoring Program and control of Antimicrobial Treatment in General Surgery.
Lugar/fecha: Viena (Austria), 30 Marzo - 1 Abril 2011.
Modalidad: Póster. Publicada en la Revista Científica.

Autores: Ferrit M, Salazar M, Cancela B, Araque P, Alañon A, Madrid A, **Rojo K**, et al.
Congreso: 16th European Congress Hospitalary Pharmacist. Hospital Pharmacists in a changing world - opportunities and challenges.
Título: Pharmaceutical Intervention is Needed in Patients with Liver and Kidney Failure.
Lugar/fecha: Viena (Austria), 30 Marzo - 1 Abril 2011.
Modalidad: Póster. Publicada en la Revista Científica.

Autores: **Rojo K**, Aguilera M, Cañada M, García A, Calleja MA.
Congreso: 3rd PharmSciFair. Pharmaceutical Sciences for the future of Medicine.
Título: Influence of DBP, VDR and CaSR gene polymorphisms on bone mass in Spanish population.
Lugar/fecha: Praga (Republica Checa), 13-17 Junio 2011.
Modalidad: Póster. Publicada en la Revista Científica.