

Premio

Enfermedad metabólica ósea postrasplante

Federico Gilberto Hawkins Carranza

I.-Introducción.

En los últimos años se viene observando una disminución significativa de la mortalidad de los pacientes sometidos a diversos trasplantes cardíaco (TxC), hepático (TxH), renal, etc. (1,2). El trasplante constituye en la actualidad la única alternativa de tratamiento de aquellos enfermos que se encuentran en un estadio final de su enfermedad cardíaca y/o hepática. Esta mayor supervivencia se debe fundamentalmente al perfeccionamiento de las técnicas quirúrgicas y a la introducción de nuevos fármacos inmunosupresores (3).

Las sustancias más usadas en la actualidad como inmunosupresoras son:

a) Azatioprina. Es un antimetabolito derivado de una purina que inhibe la proliferación de linfocitos. La dosis se ajusta según el peso del paciente y se disminuye en caso de anemia, leucopenia o trombocitopenia severa (4).

b) Los Glucocorticoides (G). Inhiben la transcripción genética para la citocinas con una temprana afectación de las respuestas inmunes (5). Veremos en detalle su mecanismo de acción.

c) Ciclosporina. Reduce la producción de linfocinas por las células T. Se comienza la administración perioperatoriamente. Sus niveles plasmáticos se deben medir frecuentemente para controlar la dosificación y debido a la frecuente interacción con otras drogas (6).

(*) Premio de la Real Academia de Medicina y Cirugía de las Islas Baleares. Curso de 2000.

Durante la década de los sesenta el tratamiento inmunosupresor consistía en la asociación de azatioprina, corticosteroides y globulina antimocito durante las primeras semanas. La incorporación de la Ciclosporina A ha supuesto un avance importante en la terapia inmunosupresora permitiendo aumentar la supervivencia de estos enfermos. Desde 1985 la triple asociación Ciclosporina A, corticoides y azatioprina es una de las más utilizadas.

Al aumentar la supervivencia emergen complicaciones propias del trasplante (7). Entre otras, se viene llamando la atención sobre el desarrollo de una progresiva enfermedad ósea, que ha sido observada sobretudo en pacientes con trasplantes hepático, cardíaco y renal. Esto supone una mayor frecuencia de fracturas atraumáticas, colapso vertebral y osteonecrosis. Sin embargo, la prevalencia de osteopenia y la incidencia de fracturas y de osteonecrosis no son bien conocidas.

En la última década se han desarrollado técnicas que han hecho que el estudio de la patología del hueso en la clínica sea más asequible (8). Se ha limitado la biopsia ósea como técnica cruenta, que no daba información sobre el contenido mineral y restringiéndola fundamentalmente al diagnóstico de la osteomalacia. Las nuevas técnicas más útiles son las basadas en la medición de la masa ósea por densitometría, que según se ha podido demostrar presentan una buena correlación con la histomorfometría. Esta técnica puede ser repetida para analizar la evolución de la masa ósea con el tiempo y la efectividad de los diferentes tratamientos. Además, el avance en el estudio de los marcadores bioquímicos del metabolismo óseo ayuda al conocimiento de las enfermedades metabólicas óseas.

Por otro lado, y también recientemente, se están introduciendo fármacos que previenen o disminuyen la pérdida ósea. Existen pocos trabajos que comparen la efectividad de diversos tipos de tratamientos antiresortivos en el tratamiento de la pérdida ósea de la enfermedad metabólica postrasplante.

En el presente trabajo vamos a estudiar preferentemente la enfermedad metabólica ósea que se desarrolla en pacientes sometidos a TxH y cardíaco, analizando su fisiopatología y los resultados obtenidos con diferentes fármacos antiresortivos en la prevención y tratamiento de la pérdida ósea que afectan la morbilidad y mortalidad futura de estos pacientes.

I.1.-Factores que predisponen a la pérdida ósea en los trasplantados.

El hueso del receptor de un trasplante esta expuesto a numerosos factores potencialmente dañinos, que pueden predisponer a osteopenia. Por ello, estos pacientes son susceptibles a desarrollar enfermedad ósea después del trasplante correspondiente (9). Entre los factores causantes de enfermedad ósea debemos estudiar:

- Enfermedad previa al trasplante.
- Nutrición parenteral.
- Fármacos inmunosupresores
 - Corticoides
 - Ciclosporina y otros fármacos.
- Inmovilización.

Para comprender la fisiopatología de la osteopenia encontrada en el período postrasplante es necesario analizar estos factores.

I.1.A.-Enfermedades previas

La pérdida ósea es frecuente en el curso de la enfermedad hepática crónica, in-

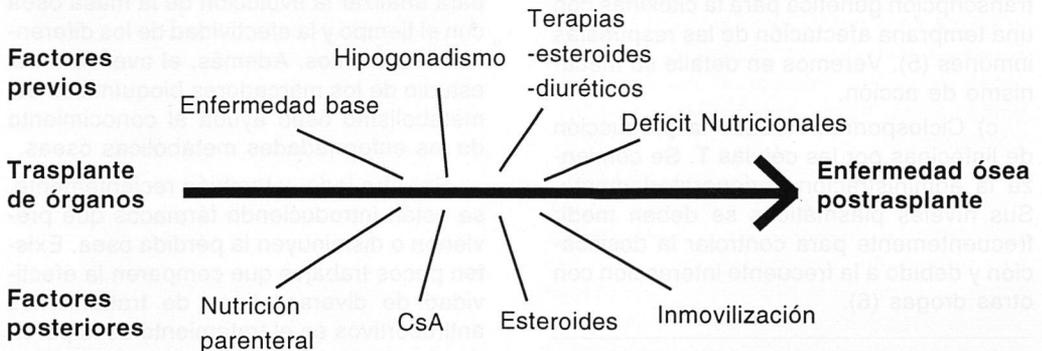
dependiente de su causa (10). La prevalencia varía según la etiología de la hepatopatía del hueso estudiado y de la técnica utilizada para el estudio.

Se ha descrito el desarrollo de osteoporosis en el 10 al 55% de los pacientes (11), 12. La pérdida ósea es mayor en el hueso trabecular, que en el hueso cortical (12).

Las enfermedades hepáticas que más frecuentemente se han asociado a osteopenia son las de origen colestásico, especialmente la cirrosis biliar primaria (11, 12). En dicha enfermedad, el rango de pérdida ósea es dos veces mayor que en sujetos sanos. Otras enfermedades relacionadas con el desarrollo de osteopenia han sido la hepatopatía etílica, hepatitis crónica y colangitis esclerosante. En el alcoholismo el hueso esta sometido no solo a los factores nocivos presentes en otras hepatopatías, sino también a otros insultos (13). Entre ellos se incluyen el alcohol per se, el hipogonadismo, alteraciones nutricionales y traumatismos de repetición. El hipogonadismo y el incremento de los depósitos de hierro, los cuales empeoran la actividad del osteoblasto, pueden ser los mecanismos implicados en la menor formación ósea descrita en pacientes con hemocromatosis.

La disminución de la masa ósea en la enfermedad hepática crónica incrementa el riesgo de fractura, siendo este mayor que en sujetos sanos. La incidencia de fractura descrita varía entre el 13 al 35% (14,15).

La patogénesis de la pérdida ósea aso-



Factores implicados en la pérdida ósea de la Enfermedad ósea postrasplante de órganos.

ciada a enfermedad hepática crónica no es del todo conocida. Los factores implicados han sido la disminución en la ingesta oral del calcio, malnutrición, malabsorción de calcio y vitamina D, consumo excesivo de alcohol, hipogonadismo y terapia corticoidea asociada (16).

Inicialmente se postuló que la afectación del hueso en la enfermedad hepática era debida principalmente a la presencia de osteomalacia, secundaria a la deficiencia de vitamina D y a la limitada exposición a los rayos solares. La deficiencia intraluminal de sales biliares en el intestino delgado originaría malabsorción grasa y de vitaminas liposolubles, como la vitamina D. Pero los niveles séricos de calcio, fósforo y 25 OH vitamina D son normales en estos enfermos (17).

En estudios histológicos recientes se ha objetivado un predominio de la osteoporosis, habiéndose descrito reducción en la formación ósea, por disminución en la actividad del osteoblasto más que en su número (18). Además, se ha señalado un incremento en la reabsorción. Estos datos explicarían los niveles bajos de osteocalcina, proteína sintetizada por los osteoblastos, encontrados en el suero de estos enfermos.

I.1.B.-Nutrición parenteral.

En enfermos sometidos a nutrición parenteral total durante largos períodos de tiempo se ha descrito el desarrollo de osteopenia (19). Esto ha sido confirmado en estudios de densitometría ósea.

Las causas implicadas en la pérdida ósea son varias. Se ha señalado un aumento de la eliminación urinaria de calcio, que en la mayoría de los pacientes excede a la dosis de calcio infundida. El mecanismo implicado no está claro, aunque se ha relacionado con el contenido de aminoácidos y de sodio de la fórmula (20).

Además, la administración de vitamina D y aluminio puede ejercer un efecto tóxico sobre el hueso. Disminuyen la formación de la matriz ósea e interfieren en la mineralización.

I.1.C.- Fármacos inmunosupresores.

El uso de glucocorticoides (G) y la ciclosporina A ha disminuido la mortalidad del enfermo trasplantado. Estos fármacos se utilizan de forma crónica en los primeros meses después del trasplante. Sus dosis se aumentan en los episodios de rechazo del órgano trasplantado. Ambas drogas pueden actuar a nivel óseo

Corticoides

En la actualidad la amplia utilización terapéutica de los G, constituye una causa frecuente de hipercortisolismo exógeno, habiéndose descrito una mayor tasa de fracturas en estos pacientes en los últimos años. La osteoporosis secundaria a la administración de G, es probablemente la consecuencia más debilitante a largo plazo de las complicaciones por el uso crónico de los esteroides (21,22). Dependiendo tanto de la dosis como de la duración de la terapia, se ha estimado que cerca del 50% de los pacientes que toman G desarrollan pérdida ósea, que lleva a las fracturas (23,24,25). También se ha señalado, que cuando estos pacientes tienen pérdida ósea, sufren con frecuencia fracturas dolorosas a nivel de columna, cadera y antebrazo, que aumentan la morbilidad y hospitalización (26). Un tercio de los pacientes en tratamiento prolongado con G presentan fracturas vertebrales y costales después de 5-10 años de tratamiento (27). Los pacientes que toman G, se ha estimado que tienen un aumento del riesgo de fractura de cadera tres veces mayor que los normales. Se ha podido demostrar que existe una disminución rápida de la masa ósea al inicio de la terapia con G, que continúa mientras éstos se mantengan 28. Hasta la fecha no existe un tratamiento efectivo para la prevención y terapia de la osteoporosis glucocorticoidea. Diversos fármacos han sido evaluados con pobres resultados, entre ellos la vitamina D y la calcitonina (29,30,31,32,33,34,35).

Fisiopatología de la pérdida de masa ósea inducida por los glucocorticoides.

Los G actúan disminuyendo la formación ósea osteoblástica y aumentando la

resorción ósea (36). La disminución de la formación ósea está mediada por un efecto directo inhibitorio sobre los osteoblastos y por la inhibición de la producción de IGF-1 y de hormonas gonadales, ambos con efectos positivos sobre la formación ósea (37). La disminución de la formación ósea se asocia con una disminución en la aposición mineral y en los marcadores bioquímicos de formación (osteocalcina) 38. A esto puede contribuir el efecto inhibitorio de los G de la secreción de gonadotrofinas hipofisarias, lo que junto a su efecto directo inhibitorio de la secreción ovárica y de los testes, favorece la menor producción de estrógenos y testosterona. Se ha demostrado que los G antagonizan la secreción de estrógenos y de testosterona inducida por gonadotrofinas en ambos sexos (39). Las ratas ovariectomizadas, tienen mayor pérdida ósea cuando reciben G que las normales, sugiriendo un efecto aditivo de esta asociación. (40).

Los mecanismos de acción de los G directos sobre los osteoblastos han sido recientemente mejor conocidos. Inhiben la replicación de las células del linaje de los preosteoblastos y disminuyen la génesis y formación de nuevos osteoblastos, además los G son capaces de inducir la muerte de los osteoblastos (apoptosis). Paradójicamente inducen la transformación de los preosteoblastos a osteoblastos, e inhiben la capacidad funcional de los osteoblastos maduros (41,42). Estos efectos, son complejos, pues los G también disminuyen la síntesis de colágeno, a través de la inhibición de la transferasa del colágeno tipo I, mientras que por otro lado estimulan la expresión y síntesis de una familia de metaloproteínas con capacidad de degradar la proteína de la matriz ósea (colagenasa tipo I y III) (43).

Los G ejercen también acciones indirectas sobre los factores de crecimiento en su inhibición de la formación ósea. Su administración disminuye los niveles de IGF-1 (por inhibición transcripcional) y tiene modestos efectos negativos sobre los receptores de las IGFs. Finalmente, también se

ha demostrado que los G pueden actuar sobre las proteínas transportadoras de las IGFs: por un lado disminuyendo los niveles de IGF BP5 (por inhibición de su transferasa) lo que reduce las concentraciones de IGF-1 circulante y por otro lado aumentando la tasa de IGFBP6 (proteína transportadora con 6 veces más afinidad por la IGF-2) con lo que los osteoblastos reciben menos IGF-2 disponible (44).

Los G también aumentan la resorción ósea, a través de un efecto directo (como se demuestra en cultivos de osteoclastos 23 y a través de la disminución de la secreción de andrógenos y estrógenos y del aumento de la secreción de PTH. La secreción de PTH puede estimularse tanto directamente por los G, como por el hiperparatiroidismo secundario ocasionado.

Otros efectos también colaboran en este aumento de la resorción ósea. Los G disminuyen la absorción intestinal de calcio, un efecto que no es mediado por la inhibición de la síntesis de calcitriol. Sin embargo la administración de calcitriol puede revertir este efecto negativo de los G sobre la absorción de calcio (45). Los G también aumentan la excreción renal de calcio probablemente a través del aumento de la resorción ósea junto a un efecto directo a nivel renal. La excreción urinaria de marcadores de la resorción ósea (hidroxiprolina, piridinolina) también está aumentada. Finalmente los G disminuyen las concentraciones de esteroides sexuales a través de la disminución de la secreción de gonadotropinas hipofisarias (46).

En resumen los G actúan directamente disminuyendo el número y la función de los osteoblastos e indirectamente, disminuyendo la expresión de IGF-1 y modificando selectivamente las proteínas transportadoras de ésta.

I.1.D.-Inmovilización.

Independientemente de la etiología, la inmovilización se ha descrito como causa de pérdida ósea. El mecanismo exacto no se conoce. Se ha observado un incremento en el número de osteoclastos, con disminu-

ción de la superficie osteoide y el rango de mineralización (47).

La marcada reducción en la densidad ósea se asocia a hipercalcemia e hipercalciuria. Los niveles de PTH y 1,25 dihidroxivitamina D disminuyen como mecanismo protector, siendo mínima la absorción intestinal de calcio.

II.-Objetivos del estudio

II.1.-Objetivos principales

1)Estudiar la densidad mineral ósea antes y después en pacientes sometidos a TxH y TxC ortotópicos. Establecer la prevalencia de osteoporosis y osteopenia en estas patologías, en nuestros pacientes.

2)Investigar la relación entre fármacos inmunosupresores y pérdida ósea en estos pacientes. Estudiar aspectos farmacológicos como dosis diaria, dosis acumulada y tiempos de tratamiento con la posible lesión ósea.

3)Evaluar la eficacia terapéutica de fármacos antiresortivos en la prevención y tratamiento de la osteoporosis de estos pacientes.

II.2.-Objetivos secundarios

1)Analizar el efecto de factores antropométricos (peso, talla, edad, IMC, sexo) y clínicos (clase funcional, tiempo de diagnóstico, etc.) con la masa ósea.

2)Estudiar el remodelado óseo de estos pacientes antes y después del tratamiento con antiresortivos mediante la determinación de marcadores bioquímicos séricos óseos de formación y de resorción.

3)Observar la tasa de fracturas en estos pacientes.

4)Estudiar la evolución de las osteopatías en los trasplantados de acuerdo con su etiología.

III.-Material y métodos.

III.1.-Pacientes

El estudio de la Enfermedad Metabólica Ósea postrasplante lo hemos realizado con pacientes voluntarios que fueron sometidos a trasplante hepático o cardíaco en nuestro centro. Se han excluido pacientes que presentaban otra enfermedad crónica asociada o que tomaban medicaciones que podían interferir en el metabolismo del calcio. Se excluyen también, pacientes con trastornos degenerativos artrósicos, escoliosis o calcificaciones vesiculares que pudieran interferir en el estudio densitométrico óseo.

En nuestro centro, todos los pacientes sometidos a TxH y/o TxC son estudiados densitométricamente. Se han incluido en este estudio 145 pacientes voluntarios sometidos al programa de TxH y 51 pacientes voluntarios sometidos a TxC, desde el año 1980 hasta la actualidad. Los pacientes

Distribucion de los pacientes con TxH de acuerdo con el sexo y la enfermedad hepática previa

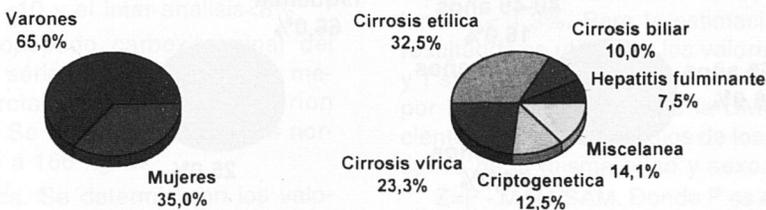


Figura 1

son clasificados densitométricamente de acuerdo con los criterios de la OMS.

Grupos de tratamiento: (ver tabla 1)

Trasplante Hepático (TxH) (fig.1)

De forma aleatoria y bajo consentimiento informado los pacientes que presentaban osteoporosis eran sometidos a tratamiento medico con calcitonina o difosfonatos.

Trasplante Cardíaco (TxC) (fig.2)

Una vez realizado el estudio basal, todos los pacientes fueron distribuidos aleatoriamente en tres grupos de tratamiento. El Grupo I fue tratado con calcitonina de salmón a dosis de 200 UI por vía nasal diaria y continuamente. El Grupo II recibió Etidronato sódico 400 mg/día durante 14 días, seguido de un periodo de descanso de dos meses y medio durante dos años y posteriormente Alendronato 10 mg por vía oral, ininterrumpidamente. El Grupo III fue tratado con vitamina D, 32.000 UI a la semana de calcidiol.

Todos los grupos recibieron además 1 gramo diario de carbonato de calcio por vía oral.

Tanto el estudio bioquímico sanguíneo como los estudios densitométricos fueron repetidos cada 6 meses. Como población control se utilizaron 2441 sujetos aparentemente sanos obtenidos de la población española dentro de un estudio multicéntrico, agrupados por edad y sexo para servir de referencia a los valores de masa ósea de los pacientes estudiados 48. Se excluyeron para este estudio todos aquellos sujetos con sospecha de patología o que requirieron medicamentos que pudieran influir en la mineralización ósea.

Umbral de fractura

Para el cálculo de umbral de fractura se utilizó un estudio multicéntrico español, en el que participamos, y en el que se habían incluido 409 sujetos con fractura de cadera cuyas edades estaban comprendidas entre 59 y 90 años, de los cuales 115 eran varones y 294 eran mujeres 49.

| | Varones | Mujeres | Total |
|--------------------|---------|---------|-------|
| Normales | 1136 | 1305 | 2441 |
| Tx. Hepático | 78 | 42 | 120 |
| Tx. Cardíaco | 44 | 7 | 51 |
| Fractura de cadera | 115 | 294 | 409 |

Tabla 1. Sujetos incluidos en el estudio.

Distribución de los pacientes con TxC de acuerdo con la edad y enfermedad cardíaca previa.

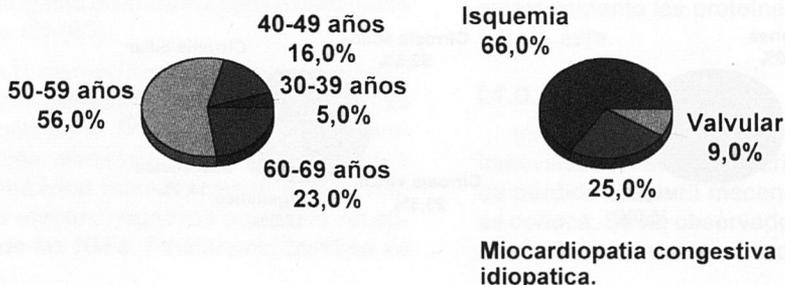


Figura 2

Tratamiento inmunosupresor.

Durante el postoperatorio inmediato, todos los pacientes fueron tratados con un protocolo de triple terapia inmunosupresora:

Ciclosporina A: 2 mg/Kg./día después de 36 horas postrasplante, continuando con una dosis que mantenga niveles sanguíneos del fármaco medidos por RIA entre 100 y 300 ng/ml.

Prednisona: 500mg iv de choque, repetida dosis similar a las seis horas y seguida de 2 mg/Kg./día durante una semana, siendo reducida la dosis de forma gradual hasta 0.3 mg/Kg./día.

Azatioprina: 2mg/Kg./día iv y posteriormente 1 mg/Kg./día durante tres meses.

Datos antropométricos generales.

Para medir peso y talla se utilizó una báscula con escala para talla, de resorte y rango de 0 a 150 Kg. El índice de masa corporal (IMC) se calculó como $IMC = \text{peso}(\text{Kg.}) / \text{talla}(\text{m}^2)$.

III.2.- Métodos utilizados

Parámetros bioquímicos.

En este apartado se reseñaron los datos de laboratorio correspondientes al análisis de bioquímica general, con calcio, fósforo, creatinina, fosfatasa alcalina, proteínas totales en sangre y calcio en orina obtenida mediante autoanalizador DAX 72.

Se determinaron en sangre los siguientes parámetros del remodelado óseo:

Osteocalcina sérica. Se utilizó método de laboratorio Hennig. Este método determina la osteocalcina intacta en el suero humano mediante RIA competitivo, con valores normales entre 4,5 y 6,5 ng/ml. El coeficiente de variación (C.F) intra-análisis obtenido es <10 y el inter-análisis <8%

PCIP: propéptido carboxiterminal del procolágeno sérico. Se determinó por método comercial del laboratorio Orion Diagnóstica. Se consideraron valores normales de 40 a 166 ng/dl.

PTH sérica. Se determinaron los valores de PTH intacta sérica mediante método

cuantitativo inmunoradiométrico de doble anticuerpo que mide la molécula completa (Lab. Nichols, Diagnostics USA). Los valores normales son 3-50 pg/ml y el C.F. intra-análisis del 3,4% y el inter-análisis del 5,6%. 1,25 dihidroxi y 25 hidroxicolcalciferol se midió mediante la técnica del método competitivo con kit comercial del laboratorio Incstar Corp. Se consideraron valores normales los comprendidos entre 17 y 40 ng/ml.

Piridinolina en orina, determinada mediante el método de enzimoanálisis de Laboratorio Metra, con un C.F. del 5%.

Radiología convencional de columna dorsolumbar.

Se valoró en todos los pacientes la presencia de osteopenia radiológica mediante radiografía convencional de columna dorsolumbar realizada en el periodo previo al trasplante. De igual forma se registró la presencia de fracturas o colapsos vertebrales.

Densitometría ósea (DXA).

Para la medición de la masa ósea se utilizó un aparato Hologic QDR/1000 w, software 6.1, que es un densitómetro radiológico digital de doble energía (DXA). El sistema permite la medición del contenido mineral óseo (BMC) en g en una determinada región en cm². Con un cálculo se obtiene la densidad mineral ósea (DMO) que expresamos en g/cm². El estudio se realizó en la columna lumbar (L2-L4).

Las características fundamentales del aparato se resumen a continuación (Tabla 2)

La precisión in vitro del fantoma de hidroxiapatita cálcica del laboratorio fue de 0.3% y la precisión in vivo de columna lumbar < 1,3%. Para la estimación de los resultados se utilizaron los valores Z score y T scores. La Z score es un valor obtenido por la comparación entre la DMO del paciente y los valores medios de los controles sanos de la misma edad y sexo.

$Z = P - MAM/SAM$. Donde P es el valor de la DMO del paciente, MAM el valor medio

| Método de medición | Escaner de transmisión |
|------------------------|------------------------|
| Fuente de radiación | Rayos x |
| Energía | 70-140 kpv |
| Colimador de la fuente | 2mm |
| Colimador del detector | No |
| Velocidad de barrido | 60 mm/s |
| Incremento de línea | 1 mm |
| Tiempo de barrido | 8 min. |
| Tiempo de procesado | 5 min. |

Tabla 2.- Características físicas del DXA utilizado

de los controles y SDAM la desviación standard de la media de los controles.

La T score expresa la diferencia entre la DMO del paciente y la media de la medida de la DMO en adultos jóvenes del mismo sexo. Se obtiene mediante la fórmula: $T = \frac{P - MY}{SDY}$, donde P es el valor de la DMO del paciente, MY el valor medio de los controles normales jóvenes y SDY la desviación standard de la media de los adultos normales jóvenes.

Siendo las recomendaciones de la OMS los valores de T score fueron interpretados así:

| T.Score | Diagnóstico |
|--|---------------------|
| Por encima de -1 DS | Normal |
| Entre -1 y -2.5 DS | Osteopenia |
| Por debajo de -2.5 DS | Osteoporosis |
| Por debajo de -2.5 DS y existencia de fractura | Osteoporosis severa |

Tabla 3. Criterios de la OMS (1994) (50)

III.3.-Estudio estadístico.

Todos los datos del estudio fueron codificados de acuerdo con un protocolo para su posterior análisis utilizando el programa estadístico SPSS.

Los procedimientos de estadística básica utilizados para analizar las variables cuantitativas se uso la frecuencia absoluta y el porcentaje. Para la comparación de variables cuantitativas entre la población estudio y la población control, así como entre el grupo de enfermos con osteoporosis y el grupo sin osteoporosis se utilizó la comparación de la media y la comparación de porcentajes para variables independientes. Estos mismos procedimientos estadísticos se usaron para valorar la eficacia de los tratamientos óseos a estudio en los pacientes que desarrollaron osteoporosis después del trasplante. Con el fin de conocer la influencia de la masa ósea con la edad en las diferentes décadas estudiadas, con la dosis de corticoides y con las enfermedades hepáticas se realizó el análisis de la varianza para un factor (ANOVA). Igualmente se comparó la variación de la masa ósea anual entre las diferentes hepatopatías causantes del trasplante. El resultado del ANOVA se expresó mediante la F de Snedecor. Se realizó además, un análisis de correlación simple entre la densidad ósea con la edad, parámetros antropométricos, parámetros bioquímicos y dosis acumulativa de fármacos utilizados para la inmunosupresión. Por último, para intentar averiguar cuales de las variables influía con mayor fuerza en el valor de la masa ósea, se utilizó el test de regresión múltiple, autorregresión paso a paso o stepwise. En todos los tests estadísticos utilizados se consideró significativa una probabilidad del 95%.

La variación anual de la densidad ósea se estimó considerando la DMO1 como la primera obtenida en el estudio óseo, la DMO2, la densidad obtenida en el segundo estudio y de acuerdo con la fórmula:

$\% \text{ variación anual} = \frac{DMO1 - DMO2}{DMO1} \times 100.$

IV.-Resultados

IV.1.-Estudios basales.

IV.1.1.-Trasplante hepático

Etiología del trasplante. Las enfermedades hepáticas que habían llevado a los enfermos estudiados al trasplante fueron: A) Cirrosis vírica 23.3%; B) Cirrosis biliar primaria 10%; C) Hepatitis fulminante 7.5% D) Cirrosis etílica 32.5%; E) Criptogenética 12.5%.

Parámetros antropométricos. Los pacientes con trasplante hepático tenían un IMC de 24,6+-4,1 en el estudio inicial densitométrico.

Parámetros bioquímicos. Los estudios bioquímicos séricos (calcio, fósforo, fosfatasa alcalina, creatinina), osteocalcina y el calcio urinario de 24 horas, estuvieron dentro de los límites normales en todos los pacientes en el estudio basal realizado inmediatamente después del trasplante.

La media de osteocalcina sérica en los pacientes con trasplante hepático fue de 8,6+-5,7 ng/ml. Los niveles de PÍCP fueron de 222,9+-81,4 ng/dl, estando elevadas por encima de la normalidad en el 74,1%. El valor medio de la PTH intacta fue de 39,3+-22,2 pg/ml, estando elevada por encima del rango de la normalidad en 21 pacientes (22,1%). Sus valores eran similares en el grupo osteoporótico y en los no osteoporóticos. Los valores de vitamina D, determinados como 25 hidroxicolecalciferol vitamina D (14,4+-9,7 ng/ml y de 1,25 dihidroxivitamina D (27,3+-15,1 pg/ml) están dentro de la normalidad.

Densidad mineral ósea. La DMO media basal en la columna lumbar fue de 0'837+-0,14 g/cm², que era significativamente ($p<0,01$) al hacer un análisis de la varianza en función de las diferentes enfermedades hepáticas, siendo la cirrosis biliar primaria la enfermedad hepática con menor densidad ósea en el momento del primer estudio densitométrico

| | Trasplante Hepático | Trasplante cardiaco | Rango normal |
|---------------------------|---------------------|---------------------|--------------|
| Calcio sérico (ml/dl) | 8,88±0,7 | 9,24±0,55 | 8,4 - 10,2 |
| Fosforo sérico (mg/dl) | 3,6±0,7 | 3,44±0,55 | 2,3 - 4,6 |
| Fosfatasa alcalina (UI/L) | 216,7±289,1* | 106,48±42,14 | 30 - 115 |
| Calciuria (mg/24h) | - | 222,58±82,6 | 0 - 250 |
| Creatinina (g/dl) | 1,0±0,8 | 1,21±0,37 | 0,7 - 1,2 |

Tabla 4. Datos bioquímicos básicos de los pacientes.

| Enfermedad hepática | DMO g/cm ² |
|--------------------------|-----------------------|
| Hepatitis fulminante | 0,834±0,173 |
| Cirrosis criptogenética | 0,884±0,122 |
| Cirrosis biliar primaria | 0,788±0,174 |
| Cirrosis etílica | 0,840±0,113 |
| Cirrosis Viral | 0,807±0,105 |

Tabla 5. Densidad Mineral ósea lumbar en las diferentes etiologías del Txh

Con relación al sexo, las mujeres presentaban una densidad ósea ($0,806 \pm 0,143$ g/cm²) significativamente inferior ($p < 0,001$) a la de los varones ($0,854 \pm 0,110$ g/cm²). Se objetivo correlación de la DMO basal con el peso y el IMC del primer estudio óseo ($r=0,41$). No se encontró correlación con glucosa, creatinina, proteínas totales y albúmina, ni con otros valores del metabolismo mineral (calcio, fósforo).

En relación a los marcadores óseos, la osteocalcina si presentó una correlación negativa con la DMO lumbar ($r=-0,23$, $p < 0,05$), que tampoco fue diferente al dividir la DMO lumbar en pacientes con osteoporosis y sin osteoporosis. El PÍCP tampoco se correlacionó con la DMO lumbar, al igual que la PTH sérica, ni la vitamina D sérica.

El 30% de los pacientes estudiados presentaban cifras de DMO lumbar inferiores al umbral de fractura, estableciendo para la población normal española. El 35,8% de los pacientes tenían osteoporosis (T scores $< -2,5$).

IV.1.2.- Trasplante Cardíaco (TxC).

Las causas del TxC fueron : A) Cardiopatía isquémica 62,7%; B) Miocardiopatía dilatada 27,4%; C) Cardiopatía valvular 7,8%; D) Cardiopatía congénita 1,9%.

Parámetros antropométricos. Los pacientes sometidos al TxC presentan un IMC de $24,9 \pm 2,1$, al realizarse el estudio densitométrico basal.

Parámetros bioquímicos. Al igual que en el Trasplante hepático (ver tabla), to-

| Parámetro | Varones X±DS | Mujeres X±DS | Rango normal |
|------------------------|--------------|--------------|--------------|
| Piridinolina (nM/nMcr) | 54,5±27,0 | 85,9±40,4** | <40 |
| PTH (pg/ml) | 48,5±22,9 | 49,5±15,6 | 3 - 50 |
| Osteocalcina (ng/ml) | 6,3±4,4 | 3,9±1,3* | 4,5 - 6,5 |
| 15 (OH) D3 (ng/ml) | 28,3±8,0 | 18,0±7,9 | 17 - 40 |

Tabla 6. Marcadores séricos óseos en TxC. * $p < 0,05$ y ** $p > 0,01$

| | Varones | | Mujeres | |
|-------|-------------|----|-------------|---|
| | DMO Lumbar | n | DMO Lumbar | n |
| Edad | | | | |
| 20-29 | | | 0,741 | 1 |
| 30-39 | 0,898±0,246 | 2 | 0,751±0,113 | 2 |
| 40-49 | 0,921±0,112 | 7 | | |
| 45-49 | | | 0,938±0,096 | 2 |
| 50-59 | 0,889±0,110 | 25 | 0,861 | 1 |
| 60-60 | 0,891±0,187 | 10 | 0,820 | 1 |

Tabla 7. Densidad mineral ósea en varones y mujeres del TxC de acuerdo con la edad.

dos los parámetros bioquímicos señalados, calcio, fósforo, fosfatasa, alcalina, calciuria y creatinina se encontraban en límites normales tanto en el grupo de hombres como en el de mujeres en el estudio basal realizado inmediatamente después del trasplante.

En el estudio basal realizado para la PTH, osteocalcina y 25 hidroxicolecalciferol, todos los valores eran normales para el grupo de los varones. En el grupo de las mujeres, los valores medios de PTH eran normales pero los de vitamina D, eran inferiores a la normalidad en tres pacientes, que fueron tratadas hasta normalizarlos para ser incluidas en este estudio. Los de osteocalcina estaban por debajo de la normalidad en el grupo de las mujeres existiendo diferencias estadísticamente significativas con respecto al de los varones. Los de piridinolina en orina se encontraban elevados en ambos grupos existiendo diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de varones y el de mujeres.

Densidad mineral ósea. La media de la DMO en el grupo de varones sometidos al TxC fue de $0,827 \pm 0,195$ g/cm², siendo significativamente diferentes cuando comparamos estos valores con la población normal por grupos de edad y sexo ($p < 0.001$).

Los valores de la DMO (g/cm²) en la columna lumbar según las diferentes causas del trasplante fueron los siguientes: A) Cardiopatía isquémica $0,917 \pm 0,132$; B) Valvulopatías $0,838 \pm 0,06$; C) Cardiopatías congénitas $0,741$; D) Miocardiopatía dilatada $0,839 \pm 0,121$. Mediante el análisis de la varianza (ANOVA) se estableció que existían diferencias significativas entre las cardiopatías isquémicas y las valvulares ($p < 0.05$). No se encontró correlación de la DMO lumbar con creatinina, calcio, fósforo, ni fosfatasa alcalina. Existía una débil correlación positiva con la calciuria, pero no significativa ($r = 0.28$). Tampoco se encontró ninguna correlación entre parámetros séricos como la PTH y la vitamina D o los marcadores del remodelado óseo (osteocalcina sérica y piridinolina en orina).

De los 51 pacientes estudiados el 37,2% tenían una densidad mineral ósea en columna lumbar por debajo del umbral de fractura (16 varones y 3 mujeres).

Siguiendo los criterios de la OMS, 15 pacientes de nuestro estudio tuvieron un T score por debajo de -2.5 DS, lo que representa un prevalencia del 29.4%.

IV.2.- Estudios de seguimiento terapéutico.

Las dosis acumuladas de G y de ciclosporina se mantuvieron similares y no significativamente diferentes en los dos grupos estudiados en ambos trasplantes. El estudio comparativo en el trasplante hepático se muestra en las figuras 3 y 4.

IV.2.1.- Trasplante hepático

Los pacientes han sido estudiados al cabo de uno y tres años del estudio basal y analizados de acuerdo con los dos grupos del tratamiento en el que fueron incluidos por su diagnóstico de osteoporosis. Durante este tiempo habían fallecido 7 pacientes que obviamente no han sido incluidos.

No se encontraron diferencias significativas en los parámetros bioquímicos habituales del metabolismo mineral (calcio, fósforo, fosfatasa alcalina). En el grupo tratado con calcitonina el valor de osteocalcina en el primer estudio óseo era de $8,9 \pm 6,6$ ng/ml, al cabo de un año de tratamiento $10,4 \pm 6,1$ y de tres años, $9,7 \pm 5,6$ ng/ml. No existían diferencias entre los tres valores de osteocalcina sérica. En el grupo tratado con difosfonatos la osteocalcina sérica en el primer estudio óseo era de $10,8 \pm 8,4$ ng/ml, al cabo de un año de tratamiento $9,5 \pm 5,2$ y de tres años, $9,3 \pm 5,3$ ng/ml. No existían diferencias entre los tres valores de osteocalcina sérica.

En los pacientes tratados con calcitonina el valor de PTH sérica en el primer estudio óseo era de $43,5 \pm 27,2$ pg/ml. Durante el segundo estudio óseo era de $46,8 \pm 21,2$ pg/ml y en el tercero de $39,9 \pm 27,3$ pg/ml.

En los tratados con difosfonatos la PTH sérica en el primer estudio óseo era de 41,35±17,2 pg/ml, en el segundo estudio óseo era de 63,7±17,4 pg/ml y en el tercero de 59,9±28 pg/ml. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre valores obtenidos de PTH en los tres estudios mencionados. Tampoco entre los tratados con calcitonina y los difosfonatos.

Comparando el tercer estudio con basal, el rango de pérdida anual (variación anual) de la masa ósea medida por densitometría, fue de acuerdo con las diferentes enfermedades óseas (tabla 8)

La variación anual no fue significativamente diferente entre ellas.

Durante el tratamiento con calcitonina y etidronato sódico/Alendronato, ambos gru-

pos recuperaron masa ósea (fig.5). En el grupo calcitonina la variación anual fue de + 6,8% y en el grupo de difosfonatos de + 8,1%. Si se comparaban ambos grupos de tratamiento, no existían diferencias significativas.

La DMO basal expresada en Z scores fue de -1,65±0,41 en el grupo tratado con calcitonina, 1,47±0,27 en el grupo con etidronato sódico y -0,99±0,39 en el grupo con calcidiol, lo que era significativamente menor respecto a los normales ($p < 0,001$, $p < 0,001$ y $p < 0,01$ respectivamente). No hubo correlación de la DMO lumbar con la dosis acumulada de los inmunosupresores estudiados. Durante el estudio tres pacientes sufrieron fracturas (dos estaban en tratamiento con calcitonina y uno con difosfonatos)

Dosis media acumulada de glucocorticoides en los grupos estudiados de tratamiento del TxC

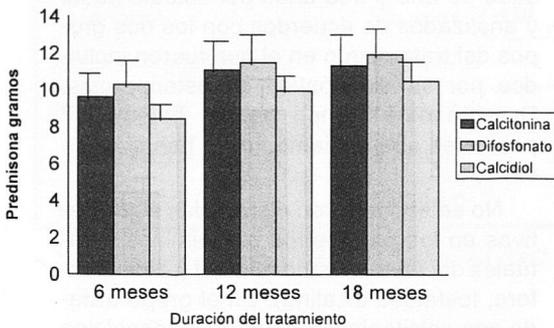


Figura 3

DOSIS MEDIA ACUMULADA DE CICLOSPORINA DURANTE EL TRATAMIENTO DE LSO GRUPOS ESTUDIADOS EN EL TRASPLANTE CARDIACO

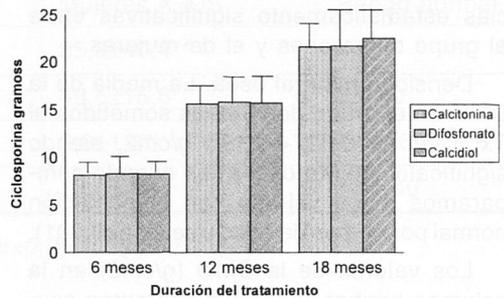


Figura 4

| Enfermedad hepática | Pérdida ósea anual (%) |
|--------------------------|------------------------|
| Cirrosis etílica | -3,1±5,2 |
| Cirrosis viral | -2,5±8,7 |
| Cirrosis biliar primaria | -3,5±5,5 |
| Cirrosis criptogénica | -0,2±6,0 |
| Hepatitis fulminante | +0,3±3,0 |
| Otras enfermedades | -3,9±4,1 |

Tabla 8. Pérdida ósea anual por etiología pre-Txh.

IV.2.2.- Trasplante cardíaco (TxC).

Los pacientes han sido estudiados al cabo de 6, 12, 18 y 36 meses del estudio basal y analizados de acuerdo con los grupos de tratamiento preventivo en el que fueron incluidos.

La relación peso y talla, es decir el índice de masa corporal (IMC) se encontraron dentro del rango normal en los tres grupos estudiados, sin diferencias significativas entre los grupos estudiados, al cabo de los tres años. (Tabla 9)

Se estudiaron los valores de calcio, fósforo, fosfatasa alcalina y creatinina séricas, así como la calciuria, a los tres años del tratamiento, existiendo diferencias significativas entre la calciuria del grupo de calcitonina y de calcidiol ($p < 0,05$).

A los 18 y 36 meses, los valores de osteocalcina continuaban significativamente altos en todos los grupos (Ver figura 6 y 7), habiendo disminuido hasta la normalidad en los tres grupos los valores de piridinolina en la orina (ver figura 8 y 9).

Al cabo de los seis meses de tratamiento la DMO había sufrido una variación anual de -4,20% y -3,95% en los grupos tratados con calcitonina y difosfonatos respectivamente. En los pacientes tratados con calcidiol, un significativo aumento del 0,96% de variación anual ($p < 0,001$) respecto a los otros grupos fue encontrado. Al cabo de los 18 y 36 meses, la DMO persistía significativamente incrementada en el grupo con calcidiol (fig. 10), mientras que en los otros grupos se registró una tendencia hacia la menor pérdida ósea; siendo la variación ósea anual de -2,25+-2,09% en el grupo tratado con calcitonina, -0,77+-1,58% en el grupo tratado con difosfonatos y de +4,72+-2,96% en el grupo tratado con calcidiol. La DMO lumbar al cabo de estos tres años no se correlacionó con la dosis total acumulada de inmunosupresores ni con los marcadores de remodelado óseo.

A lo largo del estudio, 7 pacientes (13,7%) desarrollaron fracturas vertebrales. De estos, 4 eran del grupo de calcitonina y 3 del grupo de difosfonatos. Ningún paciente del grupo de calcidiol desarrolló fracturas.

| | Calcitonina (n=16) | Difosfonatos (n=18) | Calcidiol (n=17) |
|--------------------------|--------------------|---------------------|------------------|
| IMC (kg/m ²) | 25,25±2,57 | 27,66±2,60 | 25,85±2,57 |

Tabla 9. Comparación del IMC por grupos de tratamiento en el TxC

Variación de la masa ósea en % después del TxH en pacientes tratados con anti-resortivos y no tratados

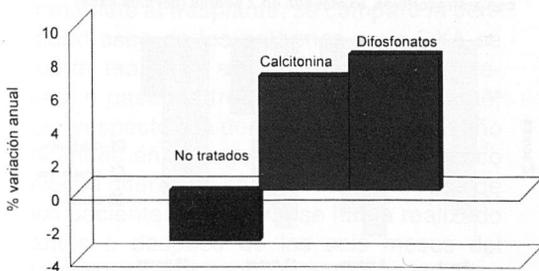


Figura 5

Niveles de Osteocalcina sérica durante el tratamiento en pacientes con Tx C de acuerdo con los grupos estudiados

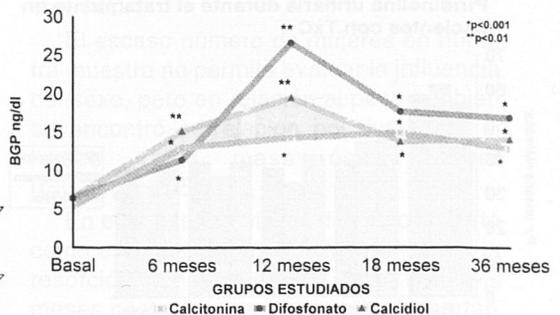


Figura 6

V.-Discusión.

La afectación ósea observada en el enfermo después del trasplante puede estar localizada tanto a nivel trabecular como cortical. Sin embargo, se ha descrito que la enfermedad hepática y el uso crónico de corticoides afectan predominantemente al hueso trabecular 51. Este sería más sensible a los factores nocivos. Por esta razón elegimos la columna lumbar, compuesta sobre todo de hueso esponjoso, para realizar nuestro estudio.

Trasplante hepático.

Utilizando la densitometría lumbar, hemos encontrado una prevalencia de osteoporosis del 35,8%. Para determinar si la osteopenia antecedía al trasplante se utilizó la radiografía convencional de columna

dorsolumbar realizada en el periodo previo al trasplante. Existía osteopenia radiológica en el 10% de los pacientes. Sin embargo, es bien aceptado que la radiología es menos sensible que la DXA para valorar la presencia de osteopenia. Otros autores coinciden con nuestros datos que indican que la cirrosis biliar primaria es la hepatopatía con mayor afectación ósea, seguida de la cirrosis vírica. No hemos encontrado relación entre la masa ósea y la edad entre los 30-60 años y un grado de afectación muy severa.

Comparando con controles de la misma edad y sexo, la pérdida ósea era significativa en ambos sexos, pero se acentuaba en las mujeres postmenopáusicas. Esto puede ser debido probablemente al efecto local y sistémico inducido por la deficiencia estrogénica, la cual aumenta la actividad

Niveles sericos de Osteocalcina durante el tratamiento con antiresortivos en el TxC.

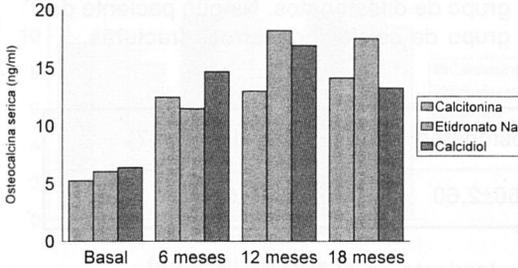


Figura 7

Piridinolina urinaria durante el tratamiento en pacientes con TxC

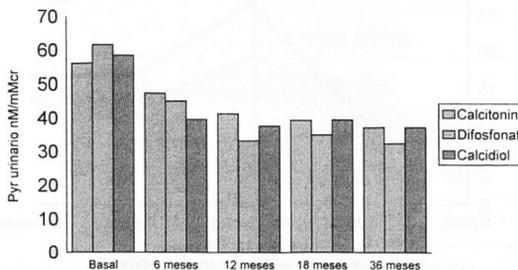


Figura 9

Piridinolina urinaria en los grupos de tratamiento de TxC

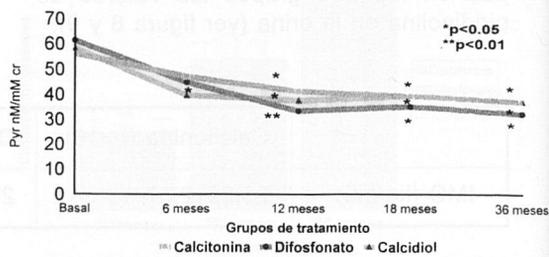


Figura 8

DMO en los pacientes con TxC a los 6, 12 y 18 meses de tratamiento con antiresortivos, expresada en Z scores (pérdida ósea)

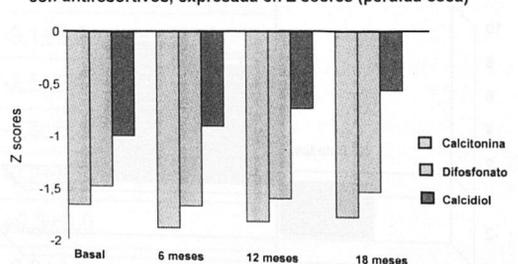


Figura 10

de los osteoclastos, acelerando la pérdida ósea. En nuestro estudio la DMO era inferior en mujeres que en varones y menor aún en las mujeres postmenopáusicas, confirmando los estudios de Shane y cols. (52).

En relación al peso, se señala que la delgadez es un factor de riesgo para el desarrollo de osteoporosis. Esto se ha relacionado con la conversión de andrógenos a estrógenos en el tejido graso 53. Confirmando estos estudios, nuestros hallazgos señalan una correlación positiva entre la DMO y el IMC.

De las variables anteriormente consideradas, la que más influía en los valores de masa ósea en el estudio de regresión múltiple, fue el peso, seguido de la hepatopatía.

La pérdida anual de nuestros enfermos fue mayor que la que despliegan los sanos, que se calcula en menos de 1%, y del período de la menopausia en que llega a ser del 3%. En el enfermo sometido a la trasplante se ha descrito una pérdida ósea inicial en los tres primeros meses de hasta un 24%, siendo el período de 1-6 meses, durante el cual esta pérdida es máxima 54.

Eastell y cols, han señalado que es posible que a los dos años del trasplante la densidad ósea se recupera a valores basales (55).

Sin embargo en nuestra experiencia, la pérdida anual en los enfermos no tratados con calcitonina o difosfonatos fue del 2,9%. El Z score un año después del primer estudio óseo, disminuyó un 3%. Para analizar si la pérdida ósea era mayor en el periodo inmediato al trasplante, se comparó la densidad ósea de los enfermos cuya DXA se había realizado en los tres primeros meses, o pasados tres meses del trasplante, con respecto a la densidad obtenida un año después en el segundo estudio. Tampoco existía diferencia entre la densidad ósea de los pacientes cuya DXA se había realizado antes o después de los seis meses del trasplante. Por tanto nuestros resultados no confirman la recuperación de masa ósea encontrada por otros autores.

Porayko y cols. 17, han sugerido que la normalización de la función hepática después del trasplante podría afectar al metabolismo óseo, incrementando el rango de formación. En nuestros enfermos después del trasplante la función hepática mejoró, sin embargo persistió mayor la pérdida anual ósea respecto a los sanos. No encontramos correlación entre la masa ósea y los índices de función hepática, ni tampoco con la dosis acumulada de inmunosupresores.

Nuestros resultados apuntan a que el uso de fármacos antiresortivos en enfermos con menor masa ósea postrasplante hepático, es eficaz para recuperar masa ósea. Pero indudablemente también debe incidirse sobre otros factores precipitantes de enfermedad ósea (dieta con ingesta inadecuada de calcio y vitamina D, inactividad, etc), así como el uso de la dosis mínima de corticoides que induzcan la actividad osteoclástica.

Trasplante cardíaco

En la disminución de la DMO de los pacientes con TxC se implican también múltiples factores, entre los que están la ingesta prolongada de diuréticos, el tabaquismo, el bajo gasto cardíaco, la dieta pobre en calcio o la caquexia cardíaca, además de los inmunosupresores, inactividad y nutrición parenteral. Hemos encontrado una prevalencia de osteoporosis del 27,5% de acuerdo con los criterios de la OMS, similar a la prevalencia descrita por Shane y cols 56 del 28% en 40 pacientes con TxC.

El escaso número de mujeres en nuestra muestra no permite evaluar la influencia del sexo, pero en relación al peso también se encontró correlación positiva entre el hueso y la masa ósea lumbar ($r=0,34;p<0,05$).

En este estudio el calcidiol se comportó como el fármaco más efectivo en inhibir la resorción ósea observada ya a los seis meses postrasplante. No puede descartarse que el calcidiol actúe también a través de aumentar la absorción intestinal del

calcio. Los otros antiresortivos, en menor extensión, también fueron capaces de prevenir la pérdida ósea de nuestros trasplantados. En algunos pacientes el efecto analgésico de la calcitonina fue importante desde el punto de vista clínico. Estudios previos han señalado la posibilidad de utilizar también los difosfonatos en la osteoporosis postrasplante 57. La utilización conjunta de ergocalciferol y etidronato cíclico se ha descrito capaz de aumentar la DMO en pacientes postmenopáusicas tratadas con dosis variables de prednisona 58. Las razones para utilizar calcidiol y no calcitriol en nuestro estudio fueron: 1) El menor coste del preparado; 2) Mayor facilidad de control del calcio sérico y urinario y 3) La descripción de mejoría en los patrones metabólicos e histológicos en la osteopenia inducida por glucocorticoides con este fármaco.

Todos los parámetros, excluyendo la fosfatasa alcalina y la osteocalcina fueron normales y no diferentes en los grupos tratados. El aumento de la PTH secundario a los esteroides y posiblemente también a los diuréticos, descrito por otros autores 59,60 no fue encontrado en nuestro estudio. Nuestro hallazgo de valores persistentemente elevados de osteocalcina durante el tataranieto está de acuerdo con otros trabajos publicados en el Txc 61 y Txh 62. Estos niveles elevados de osteocalcina, no pueden relacionarse con disminuciones en el aclaramiento de creatinina, puesto que se requieren cifras de aclaramiento inferiores a 20 ml/min para que esto ocurra significativamente, lo que no ocurrió en nuestros pacientes 63. Es bien conocido, que la prednisona puede disminuir las cifras de este marcador óseo, sobre todo en los seis primeros meses, lo que indica que probablemente otros factores han intervenido. La ciclosporina, se ha implicado recientemente en contrarrestar este efecto supresivo de los G, aumentando la formación ósea 64.

VI.-Conclusiones:

1.- La masa ósea lumbar de los pacientes sometidos al trasplante hepático o car-

díaco fue inferior que la de los controles de la misma edad y sexo. La prevalencia de osteoporosis en estos pacientes (2705% en el TxC y 35.8% en el TxH) se encuentra significativamente elevada.

2.- La masa ósea se correlacionaba con el peso y el IMC y no con la dosis diaria o acumulada de los fármacos inmunosupresores, incluyendo G.

3.- En el TxC se observó aumento de los marcadores de formación ósea con descenso marcado de los marcadores de resorción, indicando un remodelado de alto turnover.

4.- El tratamiento preventivo de los pacientes con TxH, fue eficaz con los fármacos utilizados: calcitonina y difosfonatos. También fue eficaz el tratamiento de la osteoporosis establecida del TxC con 25 hidroxivitamina D3, calcitonina y difosfonatos. En todos los casos se pudo frenar y/o incrementar la masa ósea. En el caso de TxH, los difosfonatos (etidronato) y en el TxC, la vitamina D (25 hidroxivitamina D3) se comportaron como los más eficaces, induciendo una significativa recuperación de la masa ósea durante el tratamiento.

VII.-Resumen

Se describe una complicación en la evolución de los trasplantados de órganos, que constituye una enfermedad metabólica ósea nueva, caracterizada por una pérdida ósea acentuada en los tres primeros meses del trasplante, en relación con la glucocorticoterapia inmunosupresores administrados, pero que continua en función de múltiples factores. Su morbilidad y futuro impacto en la supervivencia de estos pacientes exige una pronta prevención y diagnóstico, en orden a evitar sus severas limitaciones a la calidad de vida de los trasplantados.

VIII.-Bibliografía.

- 1.-Dienstag J. Liver Transplantation. En: Harrison's Principles of Internal Medicine, 13 edit. Isselbacher y cols, editores. McGraw Hill, NY 1994 pag 1501.
- 2.-Iwatsuki S, Shaw BW, Starzi TE. Five year survive after liver transplantation. *Trans. Proc* 1985; 17:259-63.
- 3.-López M, González I, Valero MA, León M, Loinaz I, García R, Gómez, Gonzáles EM, Hawkins F. Effect of liver transplantation and immunosuppressive treatment on bone mineral density. *Transplantation Proceedings* 1992;24:3044-3046.
- 4.-Elion GB. Pharmacologic and physical agents. Immunosuppressive agents. *Transplant Proc* 1987;7:70-5
- 5.-Reid IR. Glucocorticoid osteoporosis-mechanisms and management. *European Journal of Endocrinology* 1997;137:209-217.
- 6.-Oates JA, Wood LJJ. Cyclosporine. *N Med* 1989;321:1725-38.
- 7.-McCaughan GW, McDonald J., Bell R, Gallagher ND, Thomson J, Sheil AGR. Improved survival after liver transplantation for primary biliary cirrhosis. *Trans Proc* 1989;21:3788-9.
- 8.-Kanis JA, Melton J, Christiansen C, Johnston Cy Khaltaev N. The diagnosis of osteoporosis. *JBMR* 1994;9:1137-1140.
- 9.-Epssein S, Shane E. Transplantation Osteoporosis. En: Osteoporosis, edita Marcus R, Feldman D y Kelsey J. Academic Press, San Diego, CA 1996, pag 947.
- 10.-Hawkins F, Leon M, Leon M, López, Valero M, Larrodera L, García I, Loinaz C, González EM. Bone loss and turnover in patients with liver transplantation. *Hepatogastroenterology* 1994;41:158-161.
- 11.-Diamond T, Stiel D, Lunzer M. Osteoporosis and skeletal fractures in chronic liver disease. *Gut* 1990;31:82-7.
- 12.-Stellon AJ, Davies A, Compston J. Williams R. Bone loss in autoimmune chronic active hepatitis on maintenance corticosteroid therapy. *Gastroenterology* 1985;89:1079-83.
- 13.-Feitelberg S, Epstein S, Ismail F, Damanda C. Deranged bone mineral metabolism in chronic alcoholism. *Metab* 1987;36:322-6.
- 14.-Hawer B, Klass HJ, Warnes TW, Berry JL. Metabolism of vitamin D in patients with primary biliary cirrhosis and alcoholic liver disease. *Clin Scien* 1985;69:561-70.
- 15.-Hodgson SF, Dickson R, Wahner HW, Johnson KA, Mann KG, Rigg L. Bone loss and reduced osteoblast function in primary biliary cirrhosis. *Ann Intern Med* 1985;103:855-60.
- 16.-M.A. Valero, C.Loinaz, L.Larrodera, E. Moreno, F, Hawkins. Calcitonin and bisphosphonates treatment in bone loss after liver transplantation. *Calcif Tissue Int* 1995;57:15-19.
- 17.-Porayko MK, Wiesner RH, Hay JE, Krom RAF, Dickson ER, Beaver S, Schwerman L. Bone disease in liver transplant recipients: incidence, timing and risk factors. *Trans Proc* 23:1462-1465,1991.
- 18.-Bibble JB, Sheridan P, Hampshire R, Hardy GJ, Losowsky MS. Osteomalacia, vitamin D deficiency and cholestasis in chronic liver disease. *WJ Med* 1982;51:89-103.
- 19.-Foldes J, Rimon B, Muggia Sullan R. Progressive bone loss during long term home total parenteral nutrition. *JPEN* 1993;14:139-42.
- 20.-Kelin GL, Coburn JW. Preteral nutrition: effect on bone and mineral homeostasis. *Ann Rev Nutr* 1991;11:93-119.
- 21.-Saag KG. Low-dose corticosteroid therapy in rheumatoid arthritis: balancing the evidence. *Am J Med* 1997;103: Suppl. 6^a:31S-39S.
- 22.-Dequeker J, Westhovens R. Low dose corticosteroid associated osteoporosis in rheumatoid arthritis and its prophylaxis and treatment: bones of contention. *J. Rheumatol* 1995;22:1013-1019.
- 23.-Luker BP, Raisz LG. Glucocorticoid induced osteoporosis: pathogenesis and management. *Ann Intern Med* 1990;112:352-364.
- 24.-Michel BA, Bloch DA, Fries JF. Predictors of fractures in early rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1991;18:804-804.
- 25.-Adinoff AD, Hollister JR. Steroid induced fractures and bones loss in patients with asthma. *N. Engl J Med* 1983;309:256-268.
- 26.-Fries JF, Williams CA, Ramey D, Bloch DA. The relative toxicity of disease-modifying antirheumatic drugs. *Arthritis Rheum* 1993;36:297-306.
- 27.- Adinoff AD, Hollister JR. Steroid induced fractures and bones loss in patients with asthma. *N. Engl J Med* 1983;309:625-629.
- 28.-Saito JK, Davis JW, Wasnich RD, Ross PD. Users of low dose glucocorticoids have increased bone loss rates: A longitudinal study. *Calcif Tissue Intern* 1995;57:115-119.
- 29.-Hahn RJ, Halstead LR, Teitelbaum SL, Hahn BH. Altered mineral metabolism in glucocorticoid-

- induced osteopenia: effect of 25 hydroxyvitamin D administration. *J Clin Invest* 1979;64:655-665.
- 30.- Verstraetem A, Dequeker J, Nijs J, Geusens P. Prevention of postmenopausal bone loss in rheumatoid arthritis patients: Two year prospective study. *Clin Exp Rheumatol* 1989;7:351-358.
- 31.- Ambrook P, Birmingham J, Kelly P et al. Prevention of corticosteroid osteoporosis: a comparison of calcium, calcitriol, and calcitonin. *N Engl J Med* 1993;328:1747-1752.
- 32.- Buckley LM, Leib ES, Cartularo KS, Vacek PM, Cooper SM. Calcium and vitamin D3 supplementation prevents bone loss in the spine secondary to low dose corticosteroids in patients with rheumatoid arthritis: a randomized, double blind, placebo-controlled trial. *Ann Intern Med* 1996;125:961-968.
- 33.- Dykman TR, Haralson KM, Gluck OS et al. Effect of oral 1,25-dihydroxyvitamin D and calcium on glucocorticoid induced osteopenia in patients with rheumatic diseases. *Arthritis Rheum* 1984;27:1336-1343.
- 34.- Healey JH, Paget Sa, Williams P, et al. A randomized controlled trial of salmon calcitonin to prevent bone loss in corticosteroid-treatment temporal arteritis and polymyalgia rheumatica. *Calcif Tissue Int* 1996;58:73-80.
- 35.- Adachi JD, Bensen WG, Bianchi F, et al. Vitamin D and calcium in the prevention of corticosteroid induced osteoporosis: a 3 year follow up. *J Rheumatol* 1996;23:995-1000.
- 36.- Reid JR. Steroid induced osteoporosis. In *Dynamics of Bone and Cartilage Metabolism*, Seibel MJ, Robins SP, Bilezikian JP eds, Academic Press, San Diego, 1999 pag. 505.
- 37.- MacAdams MR, White RH, Cippis BE. Reduction of serum testosterone levels during chronic glucocorticoid therapy. *Ann Intern Med* 1986;104:648-651.
- 38.- Peretz A, Praet JP, Bosson D, Rozenberg S, Bourdoux P. Serum osteocalcin in the assessment of corticosteroid induced osteoporosis. Effect of long and short term corticosteroid treatment. *J Rheumatol* 1989;16:363-367.
- 39.- Sakalura M, Takebe K, Nakagawa S. Inhibition of luteinizing hormone secretion induced by systemic LTH by long-term treatment with glucocorticoids in human subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1975;40:774-779.
- 40.- Oulding CG, Aubin JE, Heersche HNM. Physiological concentrations of glucocorticoids stimulate formation of bone nodules from isolated rat calvaria cells in vitro. *Endocrinology* 1987;121:1985-1992.
- 42.- Leboy PS, Beresford JN, Devling C, Owen ME. Dexametasone induction in osteoblast mRNAs in rat marrow stromal cell cultures. *J Cell Physiol* 1990;146:370-378.
- 43.- Canalis E, Avioli L. Effects of deflazacort on aspects of bone formation in cultures of intact calvary and osteoblast enriched cells. *J Bone Miner Res* 1992;7:1085-1088.
- 44.- Gabbitas B, Canalis E. Cortisol enhances the transcription of insulin growth factor binding protein 6 in cultured osteoblast. *Endocrinology* 1996;137:1687-1692.
- 45.- Dykman TR, Haralson KM, Gluck OS, Murphy WA, Teitelbaum SL, Hahn TJ and Anjnm BH. Effect of oral 1,25-dihydroxy vitamin D and calcium on glucocorticoid induced osteopenia in patients with rheumatic diseases. *Arthritis Rheum* 1984;27:1336-1343.
- 46.- Odell WD. Testosterone treatment of men treated with glucocorticoid (editorial). *Arch Intern Med* 1996;156:1133-1134.
- 47.- Minaire P, Meunier P, Edouard C, Bernard J, Courpron P, Bourret J. Quantitative histological data on disuse osteoporosis: comparison with biological data. *Calcif Tissue Res* 1974;17:57-73.
- 48.- Diaz Curiel M, Carrasco de la Peña JL, Honorato Perez J, Perez Cano R, Rapado A, Ruiz Martinez I. On behalf of the Multicenter Research Project on Osteoporosis. Study of bone mineral density in lumbar spine and femoral neck in a Spanish population. *Osteopor Int* 2000;11:714-20.
- 49.- Gomez C Diaz M, Hawkins F, Perez Cano R, Diez Perea Z and the Multicenter Project for research in osteoporosis. Femoral bone mineral density, neck shaft angle and mean femoral neck width as predictors of hip fracture in men and women. *Osteopor Int* 2000;11:714-20.
- 50.- WHO Technical Report Series 843. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. WHO, Geneva, 1994.
- 51.- Eastell R, Dickson R, Hogson SF, Wiesner RH, Porayko MK, Wahner HW. Rates of vertebral one loss before and after liver transplantation in women with primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 1991;14:296-300.
- 52.- Shane E, Rivas C, Silverberg SJ, Kim TS, Staron RB, Bilezikian JP. Osteoporosis after cardiac transplantation. *Ann Intern Med* 1993;94:257-264.
- 53.- De Simone DOP, Stevens J, Edwards J, Shary J, Gordon L, Bell NH. Influence of body habitus and race on bone mineral density of midradius,

hip and spine in ageing women. *J Bone Mine Res* 1989;4:827-30.

54.-Hay JE, Dickson ER, Weisner RH, Kron RAF. Long term effect of orthotopic liver transplantation on the osteopenia of primary biliar cirrhosis (abstract) *Hepatology* 1990;12:838.

55.-Eastel R, Riggs BL. Diagnostic evaluation of osteoporosis. *Endocrinol Meath Clin North Am* 1988;17:547-71.

56 Shane E, Rivas C, Silverbeg SJ, Kim TS, Staron RB, Bilezikian JP. Osteoporosis after cardiac transpalantation. *Ann Intern Med* 1993;94:257-264.

57.-Moreira Kular C, Shane E (1999) Transplantation osteoporosis. En: Dynamics of bone and cartilage metabolism, M J Seibel, SP Robins, J P Bilezikian eds, Academic Press, San Diego, pags. 515-527.

58.-DiamondT, McGuigan L, Barbagallo S, Bryant C. Cilical etidronate plus ergocalferol prevents glucocorticoid induce bone loss in postmenopausal women. *Amer J Med.* 1995;98:459-463.

59.-Rich GM, Mudge GH, Laffel GL, Le Boffs MS. Cyclosporine and prednisone associated osteoporosis in heart transplante recipients, *J Heart Lung Transplant* 1992;11:950-8.

60.-Lee AH, Mull RL, Keenan GF, Callegari PE, Daling MK, Eisen HJ, Mancini DM, Disesa V, Attie MF. Osteoporosis and bone morbidity in cardiac transplant recipients. *Am J Med* 1994;96:35-41.

61.-Sambrook PN, Kelly PJ, Fontana D, Nguyen T, Keogh A, MacDonald P, Spratt P, Freund J, Eiseman JA. Mechanism of rapid bone loss following cardiac transplantatio. *Osteoporosis Int* 1994;4:273-273.

62.- MacDonald JAC, Dunstan CR, Dilworth P, Sherbon K, Ross AG, Evans RA, McCaugan GW. Bone loss after liver transplantation. *Hepatology* 1991;14:613-619.

63.-Johansen JS, Thomsen K, Chistiansen C. Plasma bone gla protein concentrations in healthy adults: dependence on sex, age and glomerular filtration rate. *Scand J Clin Lab Invest* 1987;47:345-350.

64.-Movsowitz C, Epein S, Fallon M, Ismail F, Thomas S. Cyclosporin A in vivo produces severe osteopenia in the rat: effect of dode and duration of administration. *Endocrinology* 1988;123:2571-7.