



VNIVERSITAT
ID VALÈNCIA

FACULTAD DE MEDICINA Y ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA, OBSTETRICIA Y GINECOLOGÍA
Programa de doctorado 3139

TESIS DOCTORAL

**LIPIDOGRAMA Y METABOLISMO ÓSEO.
ESTUDIO CLÍNICO Y ANALÍTICO EN LA COHORTE "CARMEN"**

Presentada por:

IRENE ZOLFAROLI
Licenciada en Medicina

Dirigida por:

Prof. Dr. D. ANTONIO CANO SÁNCHEZ
Prof. Dr. D. MIGUEL ÁNGEL GARCÍA PÉREZ

Valencia, septiembre 2018

Yo, **D. Antonio Cano Sánchez**, Jefe de Servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital Clínico Universitario de Valencia y Catedrático del Departamento de Pediatría, Obstetricia y Ginecología de la Universidad de Valencia

CERTIFICO QUE:

Dña. Irene Zolfaroli, Licenciada en Medicina por la “Università degli Studi di Firenze”, ha realizado bajo mi dirección, compartida con el Prof. Dr. D. Miguel Ángel García Pérez, la presente Tesis Doctoral titulada “Lipidograma y metabolismo óseo. Estudio clínico y analítico en la cohorte CARMEN” para la obtención del título de doctora en el Programa de Doctorado de Medicina de la Universidad de Valencia.

Y para que así conste a los efectos oportunos, firmo la presente certificación en Valencia a 30 septiembre de 2018.

Fdo. Prof. Dr. D. Antonio Cano Sánchez

Yo, **D. Miguel Ángel García Pérez**, Profesor Titular del Departamento de Genética de la Universidad de Valencia e investigador del Instituto de Investigación Sanitaria INCLIVA de Valencia

CERTIFICO QUE:

Dña. Irene Zolfaroli, Licenciada en Medicina por la “Università degli Studi di Firenze”, ha realizado bajo mi dirección, compartida con el Prof. Dr. D. Antonio Cano Sánchez, la presente Tesis Doctoral titulada “Lipidograma y metabolismo óseo. Estudio clínico y analítico en la cohorte CARMEN” para la obtención del título de Doctora en el Programa de Doctorado de Medicina de la Universidad de Valencia.

Y para que así conste a los efectos oportunos, firmo la presente certificación en Valencia a 30 septiembre de 2018.

Fdo. Prof. Dr. D. Miguel Ángel García Pérez

Agradecimientos

Quisiera agradecer, en primer lugar, a mis directores de Tesis la confianza y el apoyo que me han demostrado.

Al Dr. Cano quiero agradecerle el impulso para empezar este proyecto y animarme a lo largo de estos años a seguir compaginando el trabajo de residente con el de doctorando y al Dr. García, a Miguel Ángel, no puedo si no agradecerle el tiempo que me ha dedicado, que ha sido inestimable.

Agradezco a mis adjuntos, a mis residentes pequeños, mayores y súper mayores (como cariñosamente los he llamado) el apoyo y la enseñanza que cada día me han regalado.

A mis coR, que han sido compañeras de trabajo inmejorables y aún más amigas y confidentes, ¡que la vida no nos separe nunca!

A mi familia que, aunque lejana, me ha apoyado en cada momento, desde la difícil elección de dejar a mi *bella Firenze*.

A mis amigos de siempre, sobre todo a Caterina, porque la verdadera amistad no trata de ser inseparables, sino de estar separados y que nadie cambie.

A Jorge, por estar cada día a mi lado, por el apoyo, la paciencia y sobre todo por sacar la mejor versión de mí.

Y a ti *nonnina*, que rezaste por mí en cada examen y que siempre fuiste escuchada. Sé que aún lo estás haciendo y que eternamente seguirás a mi lado, de alguna forma.

*“O frati,’ dissi, ‘che per cento milia
perigli siete giunti a l’occidente,
a questa tanto picciola vigilia*

*d’i nostri sensi ch’è del rimanente
non vogliate negar l’esperienza,
di retro al sol, del mondo senza gente.*

*Considerate la vostra semenza:
fatti non foste a viver come bruti,
ma per seguir virtute e canoscenza’.”*

*Dante Alighieri
(Divina Commedia, “Inferno”, Canto XXVI)*

ÍNDICE

1. Introducción.....	17
2. Hipótesis.....	97
3. Objetivos.....	101
4. Material y métodos.....	105
5. Resultados.....	121
6. Discusión.....	157
7. Limitaciones y perspectivas futuras.....	179
8. Conclusiones.....	183
9. Bibliografía.....	187
10. Anexos.....	225

Lista de tablas.....	1
Lista de figuras.....	5
Abreviaturas.....	11
1. Introducción.....	17
1.1. Enfermedad cardiovascular.....	19
1.1.1. Aspectos epidemiológicos.....	19
1.1.2. Factores de riesgo cardiovascular.....	21
1.2. Osteoporosis.....	28
1.2.1. Aspectos epidemiológicos.....	28
1.2.2. Factores de riesgo de osteoporosis.....	29
1.2.3. Diagnóstico de la osteoporosis.....	31
1.2.3.1. Diagnóstico por imagen.....	33
1.2.3.2. Diagnóstico por el laboratorio clínico.....	37
1.3. Relación entre enfermedad cardiovascular y osteoporosis.....	42
1.3.1. Célula mesenquimal, progenitor común.....	45
1.3.2. Mediadores inflamatorios.....	49
1.3.3. Vitamina K, osteocalcina y proteína Gla de la matriz ósea.....	52
1.3.4. ALOX 15, LO 12-15 y PPAR.....	54

1.3.5. Osteopontina.....	56
1.3.6. Osteoprotegerina, RANK y RANKL.....	58
1.3.7. Óxido nítrico.....	60
1.3.8. Vía Wnt.....	62
1.3.9. Vitamina D.....	65
1.4. Factores de riesgo comunes.....	67
1.4.1. Depleción de estrógenos.....	67
1.4.2. Envejecimiento.....	70
1.4.3. Sedentarismo.....	73
1.4.4. Alcohol y tabaco.....	75
1.4.5. Genéticos.....	78
1.5. Dislipemia: variable determinante en la pared vascular y en el hueso.....	81
1.5.1. La conexión grasa-hueso.....	81
1.5.2. Alteración del metabolismo lipídico, DMO, marcadores de remodelado óseo y fracturas.....	83
1.6. Implicaciones terapéuticas: repercusión de las estatinas sobre el metabolismo óseo y de los bifosfonatos sobre el metabolismo lipídico.....	87
2. Hipótesis.....	97

3. Objetivos.....	101
4. Material y métodos.....	105
4.1. Población de estudio.....	107
4.1.1. Criterios de inclusión.....	107
4.1.2. Criterios de exclusión.....	108
4.2. Recogida de datos.....	109
4.2.1. Anamnesis y exploración física.....	110
4.2.2. Lipidograma.....	112
4.2.3. Marcadores del metabolismo óseo y otras determina- ciones.....	112
4.2.4. Densitometría.....	115
4.3. Análisis estadístico.....	115
5. Resultados.....	121
5.1. Estudio poblacional.....	123
5.1.1. Características epidemiológicas de la muestra.....	124
5.1.2. Niveles plasmáticos de los lípidos.....	125
5.1.3. Niveles sanguíneos de los marcadores del metabolismo óseo, de las gonadotrofinas, del estradiol, de la vitamina D y de la glucosa.....	126

5.1.4. Estudio densitométrico de la masa ósea.....	127
5.2. Estudio de correlación	128
5.2.1. Relación entre las variables antropométricas y la DMO.....	129
5.2.2. Relación entre el perfil analítico y el lipidograma.....	136
5.2.3. Relación entre los marcadores del metabolismo óseo y la DMO.....	137
5.2.4. Relación entre el perfil lipídico y óseo.....	138
5.2.4.1. Relación entre el perfil lipídico y la DMO.....	138
5.2.4.2. Relación entre el perfil lipídico y los marcadores del metabolismo óseo.....	144
5.3. Análisis multivarante	147
5.3.1. Cadera.....	147
5.3.2. Columna.....	152
6. Discusión	157
6.1. Análisis de las características clínico-epidemiológicas de la muestra	160
6.2. Análisis de la relación entre las variables clínico-analíticas, el lipidograma y la DMO	163
6.3. Análisis de la relación entre el perfil lipídico y óseo	168

6.4. Análisis multivariante.....	176
7. Limitaciones y perspectivas futuras.....	179
8. Conclusiones.....	183
9. Bibliografía.....	187
10. Anexos.....	225

Lista de tablas

TABLAS PRESENTES EN ESTA TESIS DOCTORAL:

Tabla 1: Instituto Nacional de Estadística. Defunciones según la causa de muerte 2016. Resultados básicos.....	20
Tabla 2: Valores de referencia del perfil lipídico básico de un sujeto adulto sano.....	27
Tabla 3: Prevalencia de osteopenia y osteoporosis en la columna lumbar en la población femenina española.....	32
Tabla 4: Rangos de referencia de los marcadores del metabolismo óseo utilizados en nuestro estudio.....	113
Tabla 5: Datos demográficos y clínicos del grupo de estudio.....	123
Tabla 6: Niveles plasmáticos de los lípidos del grupo de estudio.....	125
Tabla 7: Niveles plasmáticos de los marcadores del metabolismo óseo, de las hormonas, de la glucosa y de la vitamina D del grupo de estudio.....	126
Tabla 8: Estudio densitométrico de la masa ósea del grupo de estudio a nivel del fémur (no dominante).....	127
Tabla 9: Estudio densitométrico de la masa ósea del grupo de estudio a nivel de la columna lumbar (L2-L4).....	128
Tabla 10: Relación entre el perfil analítico y el lipidograma.....	136

Tabla 11: Relación entre los marcadores del metabolismo óseo y la DMO.....	137
Tabla 12: Relación entre la DMO y el lipidograma.....	141
Tabla 13: Relación entre la DMO y el lipidograma en las mujeres de edad inferior a 62 años.....	142
Tabla 14: Relación entre la DMO y el lipidograma en las mujeres de edad superior o igual a 62 años.....	143
Tabla 15: Relación entre el perfil lipídico y los marcadores del metabolismo óseo.....	145
Tabla 16: Relación entre el perfil lipídico y los marcadores del metabolismo óseo en las mujeres de edad inferior a 62 años.....	146
Tabla 17: Relación entre el perfil lipídico y los marcadores del metabolismo óseo en las mujeres de edad superior a 62 años.....	146
Tabla 18: Análisis multivariante de cadera.....	148
Tabla 19: Modelo final del análisis multivariante de cadera.....	149
Tabla 20: Análisis multivariante de columna.....	153
Tabla 21: Modelo final del análisis multivariante de cadera.....	154
Tabla 22: Relación entre el perfil lipídico y la DMO: principales estudios y resultados del análisis univariante de la presente tesis doctoral.....	172

Lista de figuras

FIGURAS PRESENTES EN ESTA TESIS DOCTORAL:

Figura 1: Causa de mortalidad (en porcentajes) por enfermedades cardiovasculares en España en 2016, datos del INE.....	21
Figura 2: Vía endógena y vía exógena del metabolismo lipídico.....	25
Figura 3: Resultado de una DXA de cadera y de fémur de una mujer de 63 años.....	36
Figura 4: Osteoporosis, osteopenia y DMO normal (T-score y Z-score).....	36
Figura 5: Mecanismos comunes de la regulación celular en el tejido vascular y en el tejido óseo.....	46
Figura 6: Diferenciación de la célula madre mesenquimal.....	48
Figura 7: Síndrome de Keutel: alteraciones vasculares y óseas típicas de la enfermedad.....	54
Figura 8: Apolipoproteína $\epsilon 4$: morfología y funciones.....	79
Figura 9: Síntesis del colesterol y mecanismo de acción de las estatinas.....	87
Figura 10: Síntesis del colesterol y mecanismo de acción de los bifosfonatos.....	93

Figura 11: Correlación entre edad y la DMO del grupo de estudio a nivel del fémur (no dominante).....	129
Figura 12: Correlación entre edad y la DMO del grupo de estudio a nivel de la columna lumbar (L2-L4).....	130
Figura 13: Diferencia en DMO entre grupos de edad a nivel del fémur y de la cadera.....	131
Figura 14: Correlación entre los años de menopausia y la DMO del grupo de estudio a nivel del fémur (no dominante).....	132
Figura 15: Correlación entre los años de menopausia y la DMO del grupo de estudio a nivel de la columna lumbar (L2-L4).....	133
Figura 16: Correlación entre el peso y la DMO del grupo de estudio a nivel del fémur (no dominante).....	134
Figura 17: Correlación entre el peso y la DMO del grupo de estudio a nivel de la columna lumbar (L2-L4).....	134
Figura 18: Correlación entre la tensión arterial diastólica y la DMO del grupo de estudio a nivel del fémur (no dominante).....	135
Figura 19: Correlación entre el colesterol total y la DMO del grupo de estudio a nivel del fémur (no dominante).....	138
Figura 20: Correlación entre las HDL y la DMO del grupo de estudio a nivel del fémur (no dominante).....	139

Figura 21: Correlación entre las LDL y la DMO del grupo de estudio a nivel del fémur (no dominante).....	140
Figura 22: Correlación entre la DMO y el lipidograma en las mujeres de edad inferior a 62 años.....	142
Figura 23: Correlación entre la DMO y el lipidograma en las mujeres de edad superior o igual a 62 años.....	144
Figura 24: Porcentajes de la variable objetivo osteoporosis/osteopenia a nivel de cadera.....	147
Figura 25: Probabilidad de osteoporosis/osteopenia a nivel de cadera según la combinación de los factores significativos en el análisis multivariante.....	151
Figura 26: Porcentajes de la variable objetivo osteoporosis/osteopenia a nivel de columna.....	152
Figura 27: Probabilidad de osteoporosis/osteopenia a nivel de columna según la combinación de los factores significativos en el análisis multivariante.....	156

Abreviaturas

ABREVIATURAS UTILIZADAS EN ESTA TESIS DOCTORAL:

1,25(OH)₂D - 1,25 dihidroxivitamina D

AP-1 - Proteína activadora 1

APC - Poliposis adenomatosa del colon

AUC - Área bajo la curva

BMP - Proteína morfogenética ósea

CARMEN - *Chronic Aliment Reduction after Menopause*

cNOS - Enzima NOS dependiente del calcio

CTx - Telopéptido C-terminal del colágeno de tipo I o *Crosslaps*

DE - Desviación estándar

DXA - Absorciometría con rayos X de doble energía

Dkk-1 - Dickkopf 1

DMO - Densidad mineral ósea

Dpy - Deoxipiridinolina

E₂ - Estradiol

ECV - Enfermedad cardiovascular

FA - Fosfatasa alcalina

FAO - Fosfatasa alcalina ósea

FSH - Hormona folículo-estimulante

GSK3β - Glucógeno sintasa quinasa 3 beta

HDL - Lipoproteínas de alta densidad

HMG-CoA reductasa - 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A reductasa

HTA - Hipertensión arterial

IGF - Factor de crecimiento tipo insulínico

Ihh - *Indian hedgehog*

IL - Interleuquina

IMC - Índice de masa corporal

INE - Instituto Nacional de Estadística

iNOS - Enzima Óxido Nítrico Síntasa independiente del calcio

IOF - Fundación Internacional de la Osteoporosis

LDL - Lipoproteínas de baja densidad

LH - Hormona luteinizante

LO 12/15 - Proteína lipooxigenasa 12/15

LRP - Receptor de las lipoproteínas de baja densidad

MGP - Proteína Gla de la matriz

miRNAs - MicroRNAs

MSC - Células madre del estroma de médula ósea

NFATc1 - Factor nuclear de células T activadas c1

NfκB - Factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas

NO - Óxido nítrico

NOS - Óxido nítrico sintasa

NTx - Telopéptido N-terminal del colágeno de tipo I

OCN - Osteocalcina

OLC - *Osteoclast-like cell*

OMS - Organización Mundial de la Salud

OPG - Osteoprotegerina

OPN - Osteopontina

OPPG - Síndrome de pseudoglioma-osteoporosis

PICP - Propéptido carboxiterminal del colágeno de tipo I

PINP - Propéptido aminoterminal del colágeno de tipo I

POP - *Pediatric Osteoporosis Prevention*

PPAR - Receptor activado de proliferación de los peroxisomas

Pyr - Piridinolina

Qus - Ultrasonografía cuantitativa

RANK - Receptor activador del factor nuclear kappa B

RANKL - Ligando del receptor activador del factor nuclear kappa B

RMN - Resonancia magnética nuclear

RNA_m - RNA mensajero

Runx2 - *Runt-related transcription factor 2*

Scl-Ab - Anticuerpos monoclonales neutralizantes de esclerostina

Shh - *Sonic hedgehog*

SOST - Esclerostina

SPSS - *Statistical Package for the Social Sciences*

TA - Tensión arterial

TC - tomografía computarizada

Tcf-Lef1 - Factor de los linfocitos T/Factor de Unión 1 al Potenciador Linfoide

TG - Triglicéridos

TGF - Factor de crecimiento transformante

THS - Terapia hormonal sustitutiva

TNF - Factor de necrosis tumoral

TRAP - Fosfatasa ácida tartrato-resistente

VDR - Receptor de la vitamina D

VSMC - Célula muscular lisa vascular

WHI - *Women's Health Initiative*

Wnt - *Wingless*

Capítulo 1

INTRODUCCIÓN

1.1. Enfermedad cardiovascular.

1.1.1. Aspectos epidemiológicos.

Con alrededor de 120000 muertes anuales en nuestro país, 6000 millones de euros en costes directos y 23000 bajas anuales con 2000 millones de euros en pérdida de productividad, la enfermedad cardiovascular (ECV) es la patología que más relevancia tiene en la morbimortalidad y en la repercusión socioeconómica a nivel mundial (Bernick & Davis 2014). Se calcula que en Estados Unidos es responsable de una muerte cada 40 segundos y que los costes mundiales de la ECV ascenderán en 2030 a 1044 mil millones de dólares (Benjamin et al. 2017).

Efectivamente, las enfermedades del aparato circulatorio representan la primera causa de muerte en la población española. En 2016, último año del que se dispone de datos publicados por el Instituto Nacional de Estadística (INE), las patologías cardiovasculares fueron responsables del 29.2% del total de las muertes (119778 defunciones) (Tabla 1).

Tabla 1. (Instituto Nacional de Estadística. Defunciones según la causa de muerte 2016. Resultados básicos. Madrid: Instituto Nacional de Estadística, 2017).

Distribución por capítulos de la Clasificación internacional de Enfermedades
Año 2016

Capítulos de la CIE-10	Nº de defunciones	%
Total Defunciones	410.611	100,0
Enfermedades del sistema circulatorio	119.778	29,2
Tumores	112.939	27,5
Enfermedades del sistema respiratorio	46.812	11,4
Enfermedades del sistema nervioso y de los órganos de los sentidos	25.236	6,1
Trastornos mentales y del comportamiento	20.980	5,1
Enfermedades del sistema digestivo	20.096	4,9
Causas externas de mortalidad	15.668	3,8
Enfermedades endocrinas, nutricionales y metabólicas	12.700	3,1
Enfermedades del sistema genitourinario	12.173	3,0
Síntomas, signos y hallazgos anormales clínicos y de laboratorio	8.033	2,0
Enfermedades infecciosas y parasitarias	7.033	1,7
Enfermedades del sistema osteomuscular y del tejido conjuntivo	4.256	1,0
Enfermedades de la sangre y de los órganos hematopoyéticos y ciertos trastornos que afectan al mecanismo de la inmunidad	1.886	0,5
Enfermedades de la piel y del tejido subcutáneo	1.523	0,4
Malformaciones congénitas, deformidades y anomalías cromosómicas	846	0,2
Afecciones originadas en el periodo perinatal	637	0,2
Embarazo, parto y puerperio	15	0,0

Los dos principales responsables de las patologías del aparato circulatorio son la enfermedad cerebrovascular y la cardiopatía isquémica que, en conjunto provocan alrededor del 50% de la mortalidad cardiovascular total (Figura 1) (Instituto Nacional de Estadística 2017).

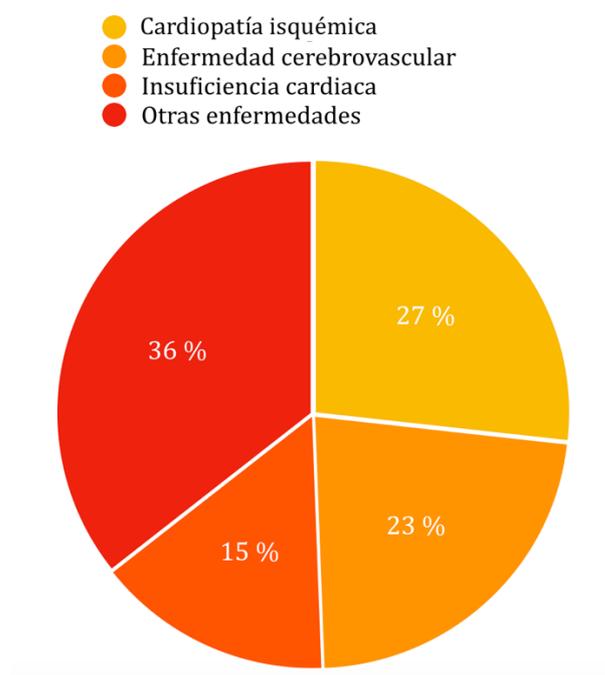


Figura 1. Causa de mortalidad (en porcentaje) por ECV en España en 2016, datos del INE.

1.1.2. Factores de riesgo cardiovascular.

El origen multifactorial de la ECV conlleva la existencia de múltiples factores de riesgo implicados, los más importantes se enumeran a continuación.

1. Edad: la influencia de la edad en la ECV tiene dos explicaciones principales, la suma de otros factores de riesgo edad dependientes y las alteraciones moleculares propias del envejecimiento (North & Sinclair 2012).
2. Factores genéticos:
 - 2.1. Raza: la población afrocaribeña presenta mayor riesgo de padecer ECV mientras que los asiáticos presentan mayor mortalidad secundaria a dicha enfermedad (Kaul et al. 2011).
 - 2.2. Sexo: los hombres tienen mayor riesgo de padecer ECV (Perelshtein Brezinov et al. 2016).
 - 2.3. Antecedente familiar: la presencia de familiares afectados por ECV aumenta el riesgo en la descendencia, máxime si los progenitores se vieron afectados a una edad inferior a los 50 años (Weijmans et al. 2015).
3. Factores ambientales:
 - 3.1. Actividad física reducida o nula (Messiah et al. 2018).
 - 3.2. Obesidad (Ortega et al. 2016).
 - 3.3. Consumo de fármacos: los antiinflamatorios no esteroideos se han asociado a un aumento de ECV (Walker & Biasucci 2018).
 - 3.4. Alcoholismo: el consumo excesivo aumenta el riesgo cardiovascular mientras que un uso moderado se considera cardioprotector (Wakabayashi 2018).
 - 3.5. Tabaquismo (Burke et al. 2017).

4. Estados hormonales:
 - 4.1. Hiperandrogenismo (Papadakis et al. 2017)
 - 4.2. Estrógenos: tras décadas de incertidumbre sobre los efectos de los estrógenos sobre la ECV derivados del estudio *Women's Health Initiative* (WHI), recientes estudios descartan la asociación entre las dos entidades (Manson et al. 2017).
5. Enfermedades crónicas:
 - 5.1. Diabetes Mellitus (Jokinen 2015).
 - 5.2. Hipertensión arterial (HTA) (Radovanovic et al. 2014).
 - 5.3. Enfermedades psiquiátricas: se ha asociado una mayor incidencia de ECV en pacientes con depresión y en sujetos con trastorno bipolar (Tsai et al. 2017).
 - 5.4. Dislipemia y aterosclerosis: la dislipemia se define como la alteración de las concentraciones plasmáticas de lípidos. La clasificación de esta enfermedad se basa, o bien en la causa que la provoca (primaria, secundaria o adquirida), o bien en el tipo de lípido que se eleva en la sangre (hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia aislada o hiperlipemia mixta). La hipercolesterolemia aislada se caracteriza por un aumento de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) mientras que, como su nombre indica, en la hipertrigliceridemia se objetiva un incremento de los triglicéridos (TG). La hiperlipemia presenta altos niveles de ambos lípidos: TG y LDL y finalmente un descenso

de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) caracteriza la hipotalipoproteinemia.

La nomenclatura de las lipoproteínas radica en la densidad de la molécula, que se determina mediante el cociente de sus dos componentes principales: la proteica (apoproteínas) y la lipídica. Cuanto mayor es la cantidad de lípidos menor es la densidad de la lipoproteína y *viceversa*. Las apoproteínas (A-I, A-II, A-IV, A-V, B₄₈, B₁₀₀, C-I, C-II, C-III, D y E) actúan como transportadores de lípidos (Figura 2) e intervienen en el metabolismo de las lipoproteínas (Feingold & Grunfeld 2015). A las HDL se les confiere el apelativo de lipoproteínas antiaterogénicas, por su función transportadora del colesterol desde los tejidos periféricos hasta el hígado para su degradación. Al contrario, las LDL, que vehiculan el colesterol de forma inversa desde el hígado hacia los otros órganos, representan un verdadero factor de riesgo cardiovascular causando el acúmulo de colesterol a nivel periférico y asentando las bases para el desarrollo de la aterosclerosis y/o impulsando su progresión (Helkin et al. 2016) (Figura 2).

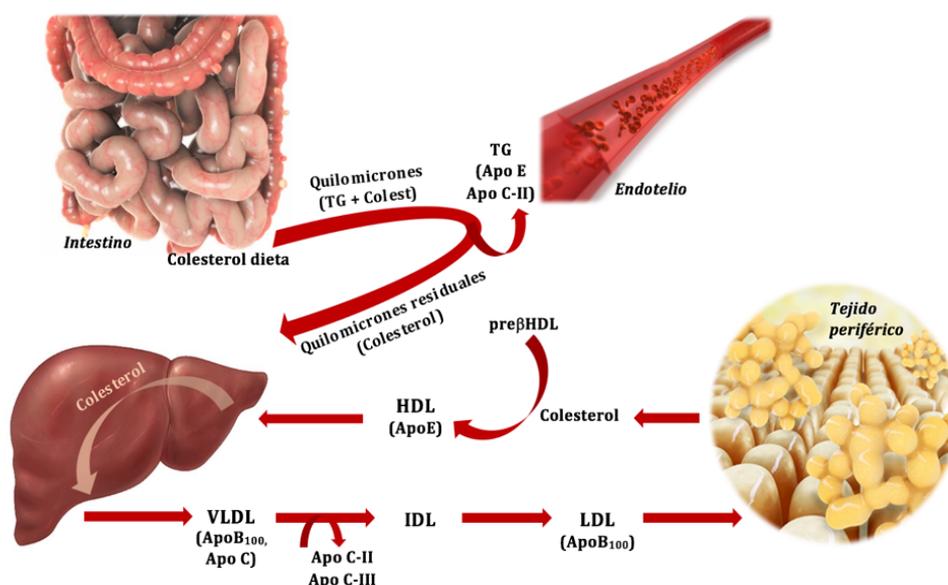


Figura 2. Vía endógena y vía exógena del metabolismo lipídico. *Vía endógena: el colesterol que se sintetiza en el hígado, unido a las apoproteínas ApoB₁₀₀ y ApoC, se secreta a la sangre como VLDL. Además de colesterol, las VLDL transportan TG que descargan a nivel muscular y adiposo, transformándose antes en IDL y después en LDL, según la carga remanente de lípidos. Las IDL carecen de ApoCII y III mientras que las LDL solo poseen ApoB₁₀₀. Las HDL, también de producción hepática, captan el colesterol libre y que procede de los tejidos periféricos y con las apoproteínas ApoE lo transportan al hígado donde se elimina. Vía exógena: el colesterol que deriva de la dieta se une a los TG para formar los quilomicrones y, a través del torrente linfático y hemático tras perder TG, da lugar a los quilomicrones residuales que llegan al hígado donde representan un importante regulador de la producción hepática de colesterol (Feingold & Grunfeld 2015).*

El fenómeno aterosclerótico comienza con la estría grasa: algunas zonas del árbol vascular, como son las bifurcaciones donde se acentúa la turbulencia del flujo sanguíneo, están sometidas a mayor estrés y es precisamente en estas localizaciones dónde se produce la base del daño vascular. Aprovechando esta situación, las LDL se depositan a nivel de la íntima para intentar reforzar la arteria lesionada e impedir que el vaso se seccione. La entrada de una cantidad elevada de LDL convierte este mecanismo fisiológico en un proceso patológico provocando el inicio de la génesis de la placa aterosclerótica. A continuación, los monocitos intervienen para fagocitar las LDL oxidadas transformándose en macrófagos. El exceso de grasa que estas células y las HDL no consiguen eliminar, se deposita en forma de estrías. Los macrófagos sobrecargados mueren por apoptosis y forman el núcleo lipídico que, con la cápsula fibrosa de tejido conectivo, da lugar a la placa vulnerable. Esta placa puede romperse y desencadenar la formación de un trombo (placa inestable) y en consecuencia un evento cardiovascular agudo o, por el contrario, convertirse en una placa estable provocando una estenosis luminal crónica. El tipo de placa depende de múltiples factores: de la fuerza que tiene que soportar, de su composición y de la dimensión y posición del núcleo (Lusis 2000).

La dislipemia es, por lo tanto, una de las principales causas de ECV.

El diagnóstico de dislipemia se obtiene mediante una analítica sanguínea extraída tras un ayuno mínimo de 12 horas. Los valores de referencia del perfil lipídico básico de un adulto se exponen en la Tabla 2:

Tabla 2. Valores de referencia del perfil lipídico básico de un sujeto adulto sano. Modificado de "European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice, 2016".

Perfil lipídico	Valores normales adulto
Colesterol Total	<190 mg/dl
Colesterol LDL	<115 mg/dl
Colesterol HDL	>40 mg/dl (hombres) >45 mg/dl (mujeres)
TG	<150 mg/dl

1.2. Osteoporosis.

1.2.1. Aspectos epidemiológicos.

En 1993 la Organización Mundial de la Salud (OMS) definió la osteoporosis como *“una enfermedad sistémica, caracterizada por una disminución de la masa ósea y un deterioro de la microarquitectura del tejido óseo que incrementa la fragilidad del mismo, con el consecuente aumento del riesgo de fractura”*.

La osteoporosis es la enfermedad ósea metabólica más frecuente y la tercera causa de morbilidad en España después de la ECV y el cáncer (Sanfélix-Genovés et al. 2010).

Se estima que en España 2500000 mujeres presentan osteoporosis y que el 40% de las mujeres mayores de 50 años sufrirá una fractura osteoporótica a lo largo de su vida (Ivergard et al. 2013). Antiguamente el diagnóstico de osteoporosis se establecía al verificarse una fractura, pero hoy en día se define como una pérdida de masa ósea con alteración de la microarquitectura que supone un mayor riesgo de lesión, incluso con traumatismos leves o inexistentes. Conocida también con el apelativo “epidemia silente” cursa clínicamente de ma-

nera oligosintomática, pudiendo ocasionar dolor osteoarticular continuo o intermitente, disminución de la estatura y de la posición erigida. Finalmente, la osteoporosis puede provocar fracturas cuyas localizaciones más frecuentes son el extremo distal del radio, las vértebras y el cuello de fémur (Kanis et al. 2013).

1.2.2. Factores de riesgo de osteoporosis.

La osteoporosis es una enfermedad en la que se encuentra comprometida la resistencia ósea; la densidad mineral ósea (DMO) es el determinante principal de esta integridad y son varios los factores de riesgo implicados en su aparición:

1. Edad: a partir de la cuarta década de vida existe una pérdida de masa ósea anual del 0,5% con un acmé del 5% en el lustro siguiente al comienzo de la menopausia (Mak et al. 2010).
2. Factores genéticos:
 - 2.1. Raza: caucásicos y orientales presentan mayor incidencia de la enfermedad (Wade et al. 2014).
 - 2.2. Sexo: la mujer tiene, respecto al hombre, menos masa muscular y ósea conllevando un riesgo de fracturas vertebrales de hasta 7 veces superior respecto a los varones, condición que

empeora ulteriormente con el déficit estrogénico propio de la menopausia (Pietschmann et al. 2009).

2.3. Antecedente familiar de osteoporosis o fractura de Colles, vertebral o de cadera (Watts et al. 2017).

3. Factores ambientales:

3.1. Nutricionales: déficit de calcio (Wade et al. 2014).

3.2. Actividad física reducida o nula. El ejercicio físico osteoanabólico disminuye un 45% el riesgo de fracturas estimulando el remodelado óseo. Esta reducción del riesgo se debe también a una disminución de las caídas; este descenso se atribuye al fortalecimiento del tono muscular y al consecuente aumento del equilibrio y de la propiocepción (Feskanich et al. 2002).

3.3. Bajo o nula exposición solar: disminución de la síntesis de colecalciferol (Rizzoli et al. 2014).

3.4. Bajo peso (IMC<20) (Martínez Pérez et al. 2011).

3.5. Consumo de fármacos: glucocorticoides, anticonvulsiantes, anticoagulantes, quimioterápicos (Martínez Pérez et al. 2011).

3.6. Alcoholismo (Nayak et al. 2009).

3.7. Tabaquismo (Wong et al. 2007).

4. Estados hormonales:

4.1. Déficit androgénico (Almeida et al. 2016).

4.2. Déficit estrogénico (Almeida et al. 2016).

5. Enfermedades crónicas:

- 5.1. Enfermedades que implican una inmovilización prolongada (más de 3 meses) (Martínez Pérez et al. 2011).
- 5.2. Enfermedades que alteran el metabolismo del calcio y/o de la vitamina D: hiperparatiroidismo, insuficiencia renal crónica, hipercalciuria (Hudec & Camacho 2013).
- 5.3. Enfermedades psiquiátricas: anorexia nerviosa, esquizofrenia (Jagielska et al. 2017).
- 5.4. Enfermedades óseas o reumáticas: osteomalacia, artropatías inflamatorias crónicas (Kathuria et al. 2017).
6. Factores de riesgo edad-dependientes:
 - 6.1. Hiperparatiroidismo secundario (Hudec & Camacho 2013).
 - 6.2. Estrés oxidativo (Cervellati et al. 2014).
 - 6.3. Resistencia a la vitamina D (Hewison et al. 1993).
7. Características del hueso (Shen et al. 2013):
 - 7.1. Microarquitectura ósea.
 - 7.2. Densidad.
 - 7.3. Composición.
 - 7.4. Talla.

1.2.3. Diagnóstico de osteoporosis.

Según el grupo de trabajo de la OMS, se establece la presencia de osteopenia cuando la DMO, medida mediante absorciometría con

rayos X de doble energía (DXA), se encuentra entre 1 y 2.5 desviaciones estándar por debajo de la media de un adulto sano joven de la misma etnia y sexo (T-score). Del mismo modo, se define osteoporosis cuando la DMO se sitúa por debajo de 2.5 desviaciones estándar de esta media. Se consideraría osteoporosis grave cuando se añade la presencia de fractura.

Según la definición de la OMS, se han calculado las siguientes prevalencias para la población femenina española (Grupo de Trabajo de Enfermedades Reumatológicas de la SemFYC 2014) (Tabla 3):

Tabla 3. Prevalencia de osteopenia y osteoporosis en la columna lumbar en la población femenina española. [Modificada de: (Grupo de Trabajo de Enfermedades Reumatológicas de la SemFYC 2014)].

Edad (años)	Columna (L2-L4)	%
20-44	Osteopenia	13.08
	Osteoporosis	0.34
	Normal	86.57
45-49	Osteopenia	31.90
	Osteoporosis	4.31
	Normal	63.79
50-59	Osteopenia	41.99
	Osteoporosis	9.09
	Normal	48.92

Edad (años)	Columna (L2-L4)	%
60-69	Osteopenia	50.00
	Osteoporosis	24.29
	Normal	25.71
70-80	Osteopenia	39.39
	Osteoporosis	40.00
	Normal	20.61

1.2.3.1. Diagnóstico por imagen.

Para el diagnóstico de osteoporosis se puede recurrir a distintas técnicas de imagen. A pesar de ello, hay que recalcar que no se puede prescindir de una adecuada anamnesis y exploración física que nos ayudará también a elegir la mejor prueba para cada caso individual. La valoración del estado óseo puede hacerse mediante:

- Radiografía: nos permite identificar la enfermedad en estadios avanzados, cuando hay una importante pérdida de mineralización ósea o cuando ya está presente una fractura (Link 2016).
- Gammagrafía ósea: tras la administración de bifosfonato marcado con Tecnecio-99m, se mide la captación de dicho radiofármaco por parte de los cristales de hidroxapatita. A mayor metabolismo óseo mayor absorción gammagráfica, por lo tanto, a nivel de las fracturas, se observará una hipercaptación.

La gammagrafía tiene la ventaja de evidenciar la ubicación de una lesión de forma precoz y de poner de manifiesto una zona patológica invisible a nivel radiológico (Fan & Peh 2016).

- Tomografía Computarizada (TC)/Resonancia Magnética Nuclear (RMN): se utilizan ampliamente para el diagnóstico y el estudio de extensión de lesiones cancerosas, aunque se han empleado también para la valoración de la estructura ósea, en particular a nivel lumbar. La TC, con sus variantes cuantitativa periférica y volumétrica, consigue obtener un estudio detallado de la morfología ósea alcanzando una elevada resolución, sin embargo, logra una sensibilidad en el diagnóstico de fracturas de tan solo un 60-75%.

La RMN, técnica de imagen atractiva por la inocuidad radiológica, detecta un mayor número de lesiones óseas pero presenta varias limitaciones: no está exenta de artefactos, determina pobremente la arquitectura trabecular e induce a la realización de biopsias innecesarias al tener escasa especificidad en la distinción entre fractura y lesiones neoplásicas (Link 2016).

- Ultrasonografía cuantitativa (Qus): mide indirectamente la densidad ósea cuantificando la atenuación de la amplitud de la onda de ultrasonido y su velocidad de transmisión a través del hueso. Tiene como ventajas el coste reducido, la no utilización de radiaciones ionizantes y la facilidad de manejo del aparato.

Las limitaciones vienen representadas por la necesidad de efectuar el estudio en zonas accesibles con escaso tejido blando alrededor (el calcáneo, por ejemplo, donde más se emplea) y por la gran variabilidad ambiental (temperatura, posición del paciente y aparato) y la variabilidad inter-operador. Por todo ello, el uso de esta técnica sigue limitado a casos seleccionados (Olszynski et al. 2013).

- DXA: es el patrón oro para el diagnóstico de la osteoporosis y la que establece la OMS para tal fin. Utiliza dos haces de rayos X de alta y baja energía, midiendo su atenuación ósea para calcular, mediante una fórmula matemática, la densidad del hueso por unidad de superficie (Figura 3). Los resultados se expresan en g/cm^2 , pero también en forma de T-score y Z-score donde el primero representa la DMO en desviaciones estándar respecto a una población de referencia joven del mismo sexo y etnia, mientras que el segundo respecto a una población de la misma edad, sexo y etnia del sujeto examinado, proporcionando una información más precisa sobre el estado óseo e incluso el riesgo de fractura a largo plazo (Figura 4). La DXA, aunque tenga un coste considerable, es de gran utilidad debido a que posee un alto valor predictivo de fractura y una elevada precisión y repetitividad proporcionando una baja dosis de radiaciones ionizantes (Jain & Vokes 2017).

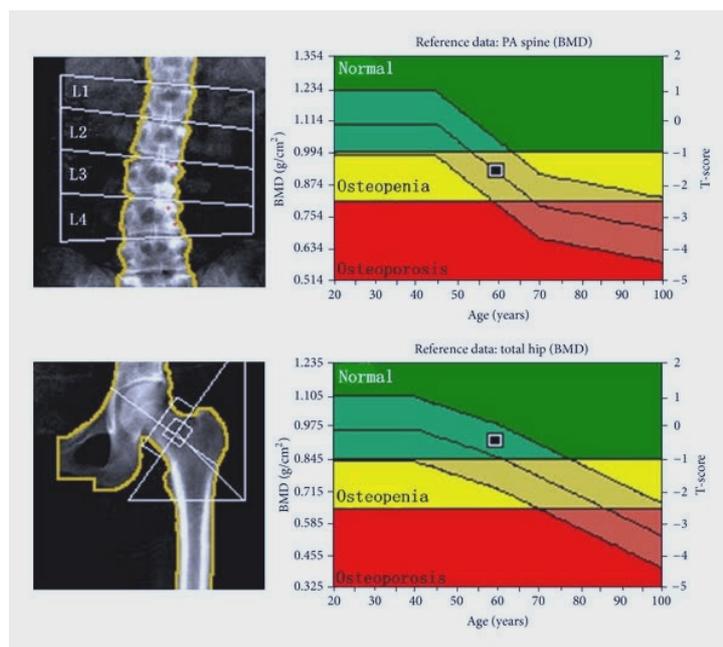


Figura 3. Resultado de una DXA de cadera y de fémur de una mujer de 63 años.



Figura 4. Osteoporosis, osteopenia, y normalidad densitométrica según T-score y Z-score.

El resultado del T-score o Z-score entre -1 y -2.5 DS con respecto a la población de referencia diagnóstica al paciente de osteopenia, por debajo de -2.5 DS se considera

osteoporosis establecida mientras que por encima de -1 la DMO se mantiene en el rango de la normalidad.

1.2.3.2. Diagnóstico por el laboratorio clínico.

Los procesos de formación y reabsorción ósea llevados a cabo principalmente por los osteoblastos y por los osteoclastos, conllevan la producción de sustancias llamadas marcadores bioquímicos de remodelado óseo que se vierten al torrente hemático pudiéndolos medir con una simple analítica de sangre. Estas proteínas se clasifican según su origen como marcadores de formación (osteocalcina -OCN-, fosfatasa alcalina específica del hueso -FAO-, propéptido aminoterminal del colágeno de tipo I -PINP- y propéptido carboxiterminal del colágeno de tipo I -PICP-) o de resorción ósea (deoxipiridinolina -Dpy-, piridinolina -Pyr-, telopéptido N-terminal del colágeno de tipo I -NTx-, telopéptido C-terminal del colágeno de tipo I -CTx-).

Los marcadores de remodelado óseo se relacionan con la DMO aunque su asociación no es tan fuerte como para poderse considerar diagnósticos de osteoporosis (Eastell & Szulc 2017). Estas moléculas se han investigado y utilizado para identificar los pacientes con elevado riesgo de fractura, pero sobre todo son de gran importancia en el seguimiento de los tratamientos antirresortivos (Garnero 2017). A

continuación, se expondrán los biomarcadores más importantes relacionados con la reabsorción y la formación ósea estudiados hasta la fecha.

- OCN: proteína no colágena sintetizada por los osteoblastos. Conocida también como proteína Gla ósea por poseer entre sus 49 aminoácidos tres grupos carboxiglutámicos (Gla), su formación depende de la vitamina K y forma parte de los cristales de hidroxiapatita (Engelke et al. 1991). Posee una semivida muy breve (alrededor de 5 minutos en el torrente circulatorio) y se elimina a nivel renal (Christenson 1997). La OCN plasmática presenta un pico en la adolescencia en relación con el crecimiento esquelético y otro en la postmenopausia. Niveles aumentados de OCN se observan en patologías con metabolismo óseo aumentado como la enfermedad de Paget, las metástasis óseas, la osteomalacia, el hiperparatiroidismo, la acromegalia y las fracturas, mientras que su disminución se halla en el déficit de hormona del crecimiento, de vitamina D, en el hipotiroidismo y en la anorexia nerviosa, entre otras (Taylor et al. 1994). Con respecto a la osteoporosis, se han descrito niveles de OCN más elevados en mujeres postmenopáusicas osteoporóticas que en mujeres sin osteoporosis (Singh et al. 2015).

- Fosfatasa alcalina ósea (FAO): es una de las isoformas de la familia de las fosfatasas alcalinas que, como su nombre indica, trabajan en un entorno de pH elevado. Sus variaciones hemáticas fisiopatológicas corresponden, *grosso modo*, a las de la OCN, aunque contrariamente a ésta, tiene una vida media más larga (1-2 días) (Lum 1995). La FAO se localiza en la membrana externa de los osteoblastos y se determina en plasma, siendo un marcador de remodelado óseo y de la acción de los tratamientos antirresortivos (Liu et al. 2017).
- Colágeno tipo I: es el más representado a nivel óseo. Su precursor, el procolágeno, antes de incorporarse a las fibras de colágeno pierde sus extremos, amínico y carboxílico, que se secretan al torrente sanguíneo. El PICP se mantiene en la sangre de 6 a 8 minutos antes de su metabolización hepática. Se ha descrito que sus niveles presentan dos acmés: el primero en la adolescencia y el segundo en la postmenopausia (Smedsrød et al. 1990). El PINP muestra mayor sensibilidad que el PICP, aunque menor que la OCN y la FAO (Kanterewicz et al. 2009).
- Dpy y Pyr: son derivados de aminoácidos que hacen de puente entre las fibras de colágeno maduro y se hallan en el plasma cuando se rompen estos entrecruzamientos durante la resorción ósea (Weaver et al. 1997). La determinación de estas moléculas en sangre es más reproducible y fiable que en orina, y

ambas modifican sus niveles según el recambio óseo (Miller et al. 2005).

- NTx y CTx: son telopéptidos que, durante el proceso de recambio óseo y por la degradación del colágeno llevada a cabo por la fosfatasa ácida tartrato-resistente (TRAP) y la catepsina K, se liberan a la sangre y se excretan por la orina. La concentraciones urinarias de NTx suben en la infancia hasta la pubertad para luego estabilizarse y volver a aumentar en la mujer postmenopáusica (Garnero 2014). El CTx existe en dos isoformas, α y β , siendo la isoforma β madura y detectable en sangre e indicativa de reabsorción ósea (Baim & Miller 2009). El aclaramiento del CTx depende de la función renal y por lo tanto su determinación a fines diagnóstico-terapéuticos no se recomienda en pacientes con insuficiencia renal (Wheater et al. 2013). Los niveles del CTx reflejan rápidamente la respuesta al tratamiento con bifosfonatos siendo útiles en la monitorización de la terapia antirresortiva (Baim & Miller 2009).
- TRAP 5b: es una isoforma de la enzima TRAP producida por los osteoclastos durante el proceso de resorción ósea. Estudiada inicialmente como marcador de metástasis óseas, se ha revelado muy útil en la monitorización del tratamiento con alendronato y como marcador del metabolismo óseo por su gran

sensibilidad y especificidad al no estar influenciada por la insuficiencia hepática o renal (Väänänen et al. 2000).

- Esclerostina (SOST): es una proteína que se expresa sólo en la matriz mineralizada de los osteocitos y que bloquea la vía *Wingless* (Wnt). De esta molécula se hablará detalladamente en el apartado 1.3.8. Su concentración en el suero podría utilizarse como marcador negativo del recambio óseo (Galea et al. 2017).
- Osteoprotegerina (OPG): es una citoquina que, como se detallará en el apartado 1.3.6, impide la reabsorción ósea gracias a su acción inhibitoria sobre el ligando del receptor activador del factor nuclear kappa B (RANKL). Los niveles de OPG aumentan con el envejecimiento, observándose un incremento más marcado a partir de la menopausia en la mujer, en particular en presencia de osteoporosis (Abrahamsen et al. 2005). Sus valores hemáticos han sido correlacionados con la DMO, con los niveles de los otros biomarcadores de metabolismo del hueso, con las fracturas vertebrales y, por otra parte, con la mayoría de los factores de riesgo cardiovascular (Mezquita-Raya et al. 2005).

Recientemente se están investigando nuevos biomarcadores de remodelado óseo para el diagnóstico y prevención de las enferme-

dades ósea, en particular de la osteoporosis (Miura & Satoh 2017). Panach y col. estudiaron 179 microRNAs (miRNAs) séricos en pacientes con fracturas osteoporóticas comparando su expresión en pacientes sometidos a reemplazo de la cabeza del fémur por osteoartritis severa encontrando una asociación entre los miRNA miR-122-5p, miR-125b-5p y miR-21-5p con la presencia de fractura, planteando su posible utilidad como biomarcador de enfermedad (Panach et al. 2015). Ulteriores análisis serán necesarios para el uso de estas moléculas en la práctica clínica.

1.3. Relación entre enfermedad cardiovascular y osteoporosis.

La ECV y osteoporosis representan, como ya se ha mencionado, unos de los problemas de salud pública de mayor relevancia, tanto por su alta morbilidad como por el impacto socioeconómico que suponen.

Ambas son patologías multifactoriales que tienen una estrecha relación con la edad y que, hasta hace unos años, se consideraban de curso paralelo pero independiente. En las últimas décadas, los investigadores han postulado y comprobado que la ECV y la disminución de la masa ósea están íntimamente vinculadas. Efectivamente, a partir

de los años 90, una serie de investigaciones (prospectivas, observacionales, longitudinales y aleatorizadas) han descrito la relación entre alteraciones cardiovasculares y DMO disminuida (Wu et al. 2014; Kuipers et al. 2013; Lampropoulos et al. 2016; Demer & Tintut 2009). Así, por ejemplo, se ha descrito un aumento del riesgo cardiovascular y de infarto agudo de miocardio por cada unidad de disminución de la desviación estándar en la masa ósea (Kado et al. 2000).

Entre los múltiples estudios que relacionan la ECV con la osteoporosis, destacan los siguientes:

- En 2003, Tanko y col., consideraron la disminución de la DMO como un mejor predictor independiente de la mortalidad por ECV que la HTA (Tanko et al. 2003).
- Dos años después, gracias a un estudio multicéntrico, aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo, los mismos autores afirmaron que entre la osteoporosis y ECV existía una asociación que iba más allá de unos factores de riesgo comunes, especulando una relación que profundizaría sus raíces en unos mecanismos fisiopatológicos comunes. En este estudio, el grupo de mujeres postmenopáusicas diagnosticadas de osteoporosis demostraron poseer cuatro veces más riesgo de padecer un evento cardiovascular agudo respecto a las mujeres con una DMO normal que se mantenía tal tras los ajustes de los factores de confusión (diabetes mellitus, HTA, tabaquismo...)

(Tanko et al. 2005).

- Los mismos hallazgos encontrados por Tanko y col. se confirmaron en la investigación de Lian y col. llevada a cabo en 1240 pacientes menopáusicas ingresadas en el servicio de cardiología del *People's Hospital* de la provincia china de Qinghai (Lian et al. 2017).
- Por su parte Jørgensen y col. en 2006, encontraron una asociación estadísticamente significativa entre las fracturas óseas y las placas ateromatosas carotideas en mujeres climatéricas (Jørgensen et al. 2006).
- Recientes estudios demostraron que la calcificación vascular, que es un punto clave en el desarrollo de la ECV y que presenta un mecanismo muy complejo, tiene territorios comunes con el proceso normal de mineralización ósea. De hecho, proteínas como la OPG, la osteopontina (OPN) y la OCN entre otras, que son indispensables en el desarrollo del tejido óseo, también forman parte del proceso de calcificación a nivel vascular (Shi et al. 2018).

A pesar de los esfuerzos realizados, a día de hoy no se ha conseguido establecer el nexo causal entre estas dos patologías, aunque, como se ha señalado, son numerosos los potenciales eventos respon-

sables especulados. La mayoría de estos procesos radican en la regulación de la osteoblastogénesis, de la osteoclastogénesis y de la inflamación, implicando diferentes vías de transducción de señales intracelulares. En los siguientes epígrafes se describen los mecanismos en común en los que se ha puesto el foco de atención hasta la fecha, en un intento de aclarar el vínculo fisiopatológico entre ECV y osteoporosis.

1.3.1. Célula mesenquimal, progenitor común.

Las células mesenquimales, también llamadas células madres estromales o células troncales, son células multipotentes con morfología fibroblastoide. Descubiertas por primera vez en 1924 por el científico ruso Maximow y mejor caracterizadas por Friedenstein en los años 70, estas células pueden dar lugar a varias clases celulares como son los osteoblastos, los condrocitos y los adipocitos (Friedenstein et al. 1974).

La transcripción de los genes de la familia Hedgehog, Indian hedgehog (Ihh) y Sonic hedgehog (Shh) junto con la transcripción de las proteínas morfogenéticas óseas (BMP) y la expresión del *Runt-related transcription factor 2* (Runx2), inducen la diferenciación de las células mesenquimales hacia la línea osteoblástica (Fakhry et al. 2013).

Entre los quince representantes de las BMP, que pertenecen a la familia de los factores de crecimiento transformante beta (TGF- β), la BMP2, la BMP4 y la BMP7 tienen actividad osteoinductora y favorecen la conversión del tejido conjuntivo en tejido óseo a través de la inducción de los factores de transcripción Runx2 y Msx-2 (Figura 5) (Oryan et al. 2014).

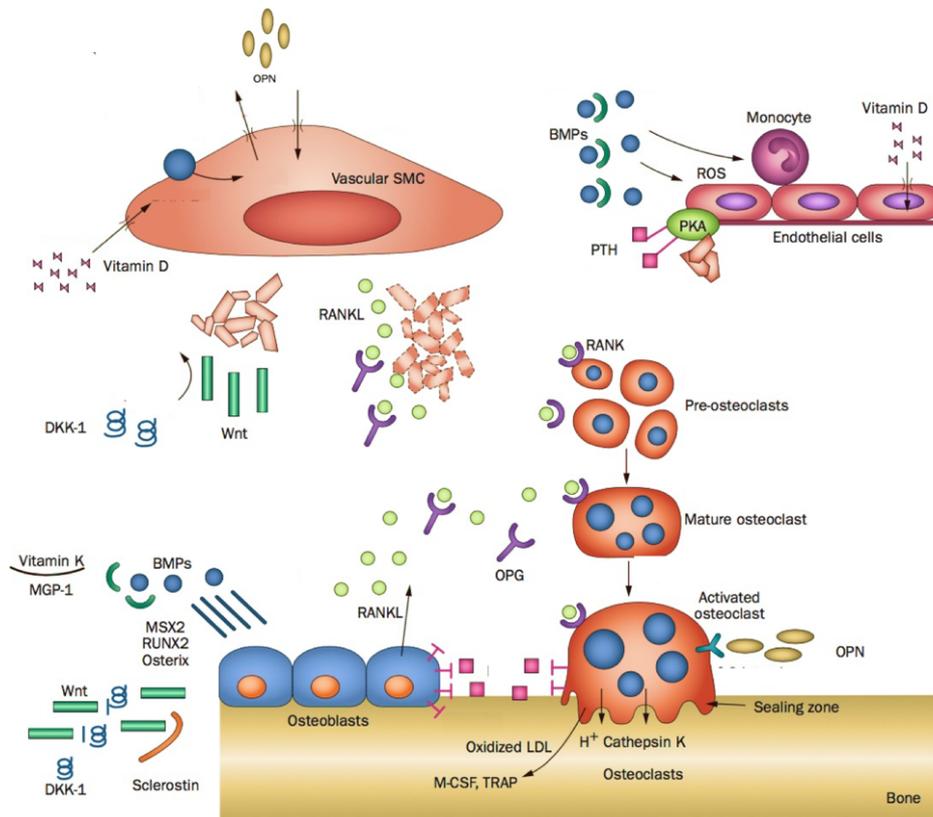


Figura 5. Representación gráfica de los mecanismos comunes de la regulación celular en el tejido vascular y en el tejido óseo. [Modificada de (Lampropoulos et al. 2012)].

La OPG actúa inhibiendo RANKL y su acción sobre la producción de osteoclastos, disminuyendo en consecuencia la reabsorción de hueso. En cambio, en las células endoteliales RANKL tiene un rol en el desarrollo de las osteoblast-like cells (OLC) reduciendo las calcificaciones vasculares. La vitamina D aumenta la expresión de RANKL en el hueso mientras que a nivel cardiovascular su déficit induce un estado dislipídico aumentando el riesgo de ECV. Otras moléculas, las BMP, contribuyen a la diferenciación de los osteoblastos y, gracias a la producción de radicales libres y a la conversión de las células musculares lisas vasculares (VSMC) en OLC, alteran la función vascular. Por otra parte, la MGP y la OPN inhiben la acción de la BMP en ambas localizaciones, vascular y ósea. Wnt también, a través de Runx2, promueve la diferenciación de los osteoblastos. Finalmente, SOST y Dkk-1, antagonistas de la vía Wnt, se encuentran en mayores concentraciones en pacientes con disfunción vascular por su efecto pro-calcificación.

La cascada de eventos que conduce a la diferenciación de la célula madre hacia la adipogénesis, tiene como protagonista la proteína activadora 1 (AP-1). La modulación de la expresión génica llevada a cabo por Ap-1 se realiza con la participación de otros factores de transcripción como KLF5, C/EBPs, SREBP-1, STATs y del ligando del receptor activado de proliferación de los peroxisomas gamma (PPAR γ) (Sarjeant & Stephens 2012).

PPAR γ es una de las cuatro isoformas de los receptores intracelulares de la familia PPAR (alfa, beta, gamma y el más reciente delta), moléculas nucleares que funcionan como factores de transcripción, fundamentales para la diferenciación en adipocitos de la célula mesenquimal.

PPAR γ actúa disminuyendo la expresión de Runx2, indispensable para el desarrollo de los osteoblastos e intensifica la expresión de genes adipogénicos *aP2/FABP*, *SCD1* y *PEPCK* (Den Broeder et al. 2015)(Figura 6).

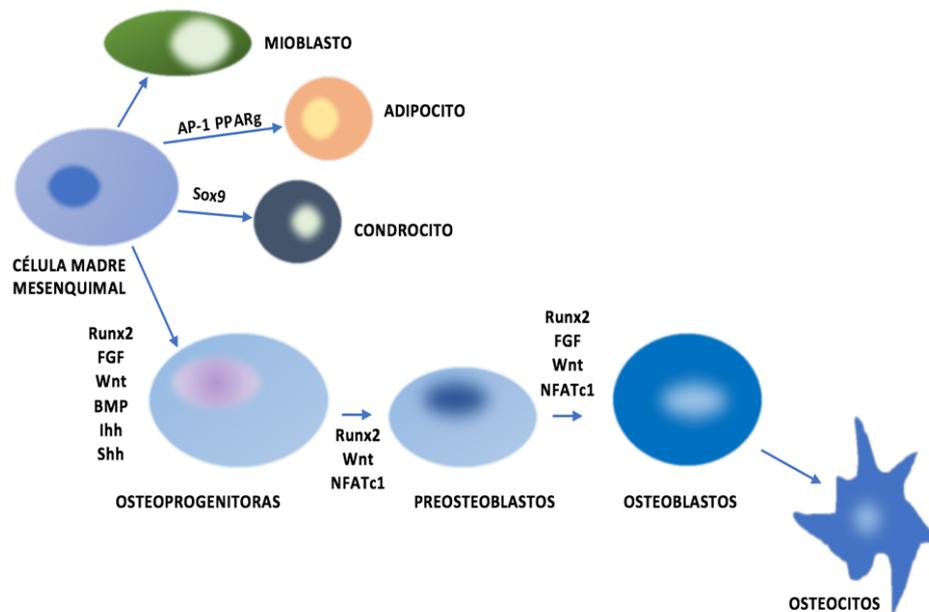


Figura 6. Diferenciación de la célula madre mesenquimal. La línea celular que finalmente se origina a partir de la célula madre mesenquimal depende de la activación de diferentes vías de señalización y factores de transcripción. La expresión del gen *MyoD* conduce a la diferenciación hacia mioblastos mientras que la activación del gen *Sox9* promueve la diferenciación hacia condrocitos. La expresión de genes pro-adipocíticos como *aP2/FABP*, *SCD1* y *PEPCK* gracias a *Ap-1*, *PPAR γ* y otros factores de transcripción, modulan la diferenciación de la célula madre hacia adipocito reduciendo también la expresión de *Runx2* que desviaría el linaje a la osteoblastogénesis. *Runx2* es la diana de numerosas vías de señalización (*TGF- β* , *Wnt*, factor de crecimiento tipo insulínico -*IGF-*, *BMP*), su activación a través de la expresión de *Osterix* conduce a la diferenciación de la célula mesenquimal en célula osteoprogenitora, preosteoblasto, osteoblasto y finalmente osteocito.

La modulación de la célula madre mesenquimal es, en definitiva, un proceso finamente regulado y un elemento primordial y fundamental para el desarrollo de tejido óseo o adiposo y de las implicaciones fisiopatológicas consecuentes.

1.3.2. Mediadores inflamatorios.

La inflamación es un proceso mediado por citoquinas y es la base fundamental de varios procesos fisiológicos, aunque desempeña

también un papel importante en múltiples patologías entre las cuales se encuentran la osteoporosis y la ECV.

Mediadores inflamatorios, en particular el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), las interleuquinas (IL) 1 y 6 así como el receptor activador del factor nuclear kappa B (RANK) y el factor estimulante de colonias-1 (CSF-1), se encuentran implicados en la génesis de la patología cardiovascular y ósea controlando la acción osteoclástica por un lado y participando en el desarrollo de la ECV a través de la inducción del proceso ateromatoso por el otro (Bessueille & Magne 2015). La TNF- α es una citoquina muy potente que posee múltiples funciones biológicas como pueden ser la activación de los leucocitos, la producción de otras citoquinas o de radicales libres del oxígeno (McKellar et al. 2009). No obstante, su acción puede ser incluso dañina para el organismo por su actividad inflamatoria que se intensifica cuándo la concentración de esta molécula aumenta. Las alteraciones provocadas por la TNF- α a nivel cardiovascular han sido ampliamente descritas: se investigó su implicación en la disfunción endotelial mediada por los radicales libres del oxígeno, su importancia en la formación y en la inestabilidad de la placa de ateroma por su acción oxidante de los lípidos y su papel en el reclutamiento de los neutrófilos, siendo además considerada un biomarcador de ECV, por su relación con la morbimortalidad antes y después de un evento cardiovascular (Tian et al. 2015).

La IL-1 y la IL-6 fueron igualmente investigadas por su implicación en la ECV siendo mediadores inflamatorios y activadores de la respuesta inmune. Algunos polimorfismos de IL-1 e IL-6 se relacionaron con la aterosclerosis precoz y el infarto de miocardio y ambas moléculas fueron correlacionadas con la progresión de la aterosclerosis y la insuficiencia cardiaca, en esta última patología probablemente por la influencia de estas proteínas sobre la regulación de los canales de calcio (Sarwar et al. 2012).

La relación entre TNF- α , IL-1 y IL-6 y la reabsorción ósea en la mujer postmenopáusica se estudió a principio de los años noventa. En dichas investigaciones los niveles de estas citoquinas aparecían más elevados en la mujer postmenopáusica que en la mujer en edad fértil, y se relacionaban con un aumento de reabsorción ósea que resultaba reversible con la administración de anticuerpos anti IL-1 y anti TNF- α (Cohen-Solal et al. 1993). Las mismas citoquinas demostraron tener la capacidad de modular la diferenciación de los progenitores celulares hacia las células osteoclasticas (Gibon et al. 2016). Consecuentemente, los niveles sanguíneos de IL-1 y TNF- α se consideraron posibles predictores de pérdida ósea (Scheidt-Nave et al. 2001).

1.3.3. Vitamina K, osteocalcina y proteína Gla de la matriz.

La proteína Gla de la matriz (MGP) así como la OCN ya descrita, son moléculas que pertenecen a la familia de las proteínas que contienen el dominio Gla dependiente de la vitamina K y que se encuentran en múltiples localizaciones como son el riñón, el tejido vascular, el cartílago y el hueso.

Un ensayo clínico en 155 mujeres postmenopáusicas estudió el efecto de la suplementación de la vitamina K en el hueso (Braam et al. 2003). Las pacientes fueron repartidas en tres grupos: el primero tratado con placebo, el segundo con calcio, magnesio, zinc y vitamina D y el último añadiendo la vitamina K. El tratamiento de tres años con vitamina K resultó en una menor pérdida ósea a nivel del cuello del fémur que vino a confirmar lo encontrado por Price y col. en los años ochenta: la modulación de la OCN y de la MGP en el tejido óseo por parte de la vitamina K se traduciría en un aumento de la mineralización ósea (Price et al. 1982).

Jie y col. asociaron la disminución de la vitamina K y consecuentemente de la OCN y de la MGP no solamente con una reducción de la masa ósea, sino también con un aumento de las calcificaciones aórticas (Jie et al. 1996).

Ratones tratados crónicamente con warfarina, un oxidante de

la vitamina K, evidenciaron una disminución de la DMO: el descenso de la fitomenadiona por acción de la warfarina provocó la reducción de la acción de la OCN y MGP y en consecuencia la pérdida de masa ósea. En los mismos animales se aisló MGP infracarboxilada en las placas ateromatosas confirmando la implicación de dicha proteína en la génesis de la ECV (Sweatt et al. 2003).

Ulteriores estudios han relacionado los niveles séricos de la OCN con la aterosclerosis y el síndrome metabólico demostrando la influencia de esta proteína ósea en la ECV (Reyes-Garcia et al. 2012; K. M. Kim et al. 2016).

La MGP, fisiológicamente expresada a nivel vascular, desempeña un papel protector, probablemente a través de la inhibición de la BMP (Boström et al. 2001). La importancia del normal funcionamiento de la MGP se evidencia en la práctica clínica en el síndrome de Keutel, enfermedad autosómica recesiva rara causada por mutaciones en el gen codificante de MGP, y en el cual se observan anomalías óseas y vasculares con osificación de los cartílagos, calcificaciones en la arterias pulmonares y aterosclerosis difusa confirmando la influencia de esta molécula en ambas localizaciones (Figura 7) (Weaver et al. 2014).



Figura 7. Síndrome de Keutel [Modificada de (Parmar et al. 2006)]. En la figura se pueden observar las alteraciones radiográficas típicas de la enfermedad de Keutel: A) osificación de los cartílagos, B) anomalías óseas y C) calcificaciones en las arterias pulmonares.

1.3.4. ALOX 15, LO 12-15 y PPAR.

El gen ALOX 15 codifica la proteína lipooxigenasa 12/15 (LO 12/15), una enzima que participa activamente a nivel óseo y vascular permitiendo la conversión del ácido araquidónico y del ácido linoleico en el PPAR γ , ya mencionado como molécula fundamental en la diferenciación de la célula mesenquimal hacia adipocitos.

El receptor del PPAR γ es la diana de la tiazolidindiona, un medicamento ampliamente utilizado en el tratamiento de la diabetes mellitus. Su actividad agonista de PPAR γ , analizada por Hulin y col., además del efecto hipoglucemiante posee la capacidad de disminuir los

niveles de colesterol, de TG y de ácidos grasos no esterificados y por lo tanto el proceso aterosclerótico (Hulin et al. 1996). Dicha función está mediada por la inhibición de la vasoconstricción, de la inflamación vascular, de la producción de cadherinas y de la función de las metaloproteínas (Desvergne et al. 2004).

Algunas investigaciones han estudiado la poco conocida isoforma PPAR δ , que también parece estar involucrada en la regulación del metabolismo del colesterol por parte de los macrófagos (Oliver et al. 2001; Vosper et al. 2001). En el hueso la activación de PPAR δ impulsa la vía de Wnt aumentando la expresión de la OPG y disminuyendo la osteoclastogénesis. Ratones privados de PPAR δ presentaron menor activación de la vía Wnt, menores niveles de la OPG y un aumento de los osteoclastos con osteopenia (Scholtysek et al. 2013).

En el tejido óseo las LDL oxidadas inhiben la osteogénesis desviando los progenitores mesenquimales desde la diferenciación en osteoblastos hacia la diferenciación en células adiposas, actuando como sustrato para PPAR γ (Pei et al. 2004).

Estudios en animales han demostrado que con el bloqueo de LO 12/15 no sólo aumenta la mineralización ósea, sino que también disminuye la aterogénesis (Klein et al. 2004). El LO 12/15, en el interior de los macrófagos, oxida las LDL y promueve la secreción de citoquinas, de factores de transcripción, la activación de las células T y el

aumento del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF): estas acciones estimulan la proliferación del endotelio y del músculo liso (Inoue et al. 2001).

1.3.5. Osteopontina.

La OPN, una glicoproteína de la matriz extracelular, se encuentra, entre otros, en las paredes arteriales y en el hueso. Secretada tanto por osteoclastos como por osteoblastos, es un potente inhibidor de la mineralización ósea actuando sobre la actividad osteoclástica (Giachelli & Steitz 2001).

La función de esta molécula se ha estudiado en ratones desprovistos del gen OPN en los cuales se comprobó la ausencia de la pérdida de mineralización ósea, típica tras una ooforectomía, al no producir dicha glicoproteína (Ihara et al. 2001).

A nivel vascular la OPN no se detecta en situación basal. Su producción es secundaria al daño endotelial y a la secreción de mediadores inflamatorios y, al contrario de lo esperado, su expresión se halla aumentada en las lesiones ateromatosas: la presencia de la OPN en las

placas calcificadas en sujetos con hiperlipemia derivaría en un mecanismo compensatorio cuya finalidad sería la disminución del proceso de mineralización (Ohmori et al. 2017).

La reducción de la DMO llevada a cabo por la OPN se basaría principalmente en la inhibición sobre la BMP-2, proteína implicada también en la patología cardiovascular (Valerio et al. 2002) (Figura 5). Efectivamente BMP-2, así como Runx2, no se encuentra en arterias sanas mientras que sí se halla en las lesiones ateroscleróticas (Cheng et al. 2003).

La acción de las proteínas OPN, BMP-2 y Runx2 ha sido investigada como nexo de unión entre el metabolismo óseo y las calcificaciones vasculares, incluso en el paciente con enfermedad renal crónica. La presencia en estos sujetos de una disminución de los inhibidores de la calcificación y el consecuente incremento hemático de calcio y fósforo, provocó la precipitación de cristales de fosfato cálcico a nivel vascular (Paloian et al. 2016).

Por otro lado, las VSMC pueden perder la función contráctil y adquirir la expresión de marcadores óseos y la capacidad de liberar vesículas de hidroxapatita (Nahar-Gohad et al. 2015). La transición de las VSMC a células OLC se ha achacado también a la actividad de la BMP-2, de la BMP-4 y del Runx2 (Kurabayashi 2015).

Sigue sin esclarecerse si estos factores de transcripción juegan un papel sólo en la progresión de la diferenciación de las VSMC o también en el impulso inicial de este proceso.

1.3.6. Osteoprotegerina, RANK y RANKL.

La OPG es una citoquina que se expresa en múltiples células tales como osteoblastos, VSMC y células estromales de la médula ósea.

La OPG actúa inhibiendo RANKL, un miembro de la familia de los factores de necrosis tumoral producido por células endoteliales, células T y VSMC. RANKL, a través de la unión a su receptor RANK (presente en osteoclastos, células B y T), de la activación del factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NfκB) y del factor nuclear de células T activadas c1 (NFATc1), es un elemento necesario para la diferenciación, la maduración y la activación de los osteoclastos. La OPG uniéndose a RANKL bloquea finalmente la reabsorción del tejido óseo (Kearns et al. 2008).

La función de la OPG se objetiva en ratones OPG *knock-out* que presentan una mayor susceptibilidad a la osteopenia y en los animales con hiperexpresión del gen que manifiestan osteopetrosis (Mezquita-Raya et al. 2005).

Estos hallazgos se reflejan, a nivel clínico, en la enfermedad de Paget juvenil, cuya causa se achaca a la delección del gen que codifica la OPG y que conlleva una resorción ósea alterada con presencia de fracturas, artropatía por vecindad, neuropatía por compresión y calcificaciones vasculares (Whyte et al. 2014).

La OPG parece asimismo tener un papel relevante en el desarrollo de las calcificaciones vasculares. Según el mecanismo de acción anteriormente expuesto, los vasos libres de calcificaciones deberían asociar un alto nivel de dicha citoquina. Contrariamente, en un estudio prospectivo en mujeres postmenopáusicas con osteoporosis establecida, se observaron valores elevados de OPG que se asociaban también a una mayor presencia de calcificaciones vasculares (Browner et al. 2001).

Pocos años más tarde Kaden y col. contradijeron estos hallazgos postulando que la OPG podía ser un marcador de ambas enfermedades osteoporótica y cardiovascular, teniendo funciones diferentes según su ubicación: en el tejido óseo bloqueando RANKL y disminuyendo la reabsorción ósea y a nivel endotelial reduciendo las calcificaciones vasculares; estos resultados fueron confirmados posteriormente por Kearns e Higgins (Higgins et al. 2015; Kearns et al. 2008; Kaden et al. 2004).

Diversas investigaciones han atribuido a RANKL también un rol en el desarrollo de las OLC a nivel endotelial y más recientemente se ha seguido estudiando su acción en las calcificaciones vasculares in vivo e *in vitro*, aunque con resultados contrastantes (Higgins et al. 2015; Davenport et al. 2016).

1.3.7. Óxido nítrico.

El óxido nítrico o monóxido de nitrógeno (NO) es una molécula producida a partir del aminoácido L-arginina por la acción del enzima óxido nítrico sintasa (NOS) que produce L-citrulina y NO. La síntesis de NO tiene dos vías principales: la vía constitutiva, a través del enzima NOS dependiente del calcio (cNOS, con sus isoformas neuronal nNOS y endotelial eNOS), y la vía independiente del calcio (iNOS), inducible por el estímulo de algunas citoquinas (Hukkanen et al. 1995).

El cNOS produce NO en respuesta al llamado "*shear stress*", es decir al roce que produce la sangre en las paredes vasculares. La producción de NO se debe asimismo a la acción de los estrógenos y de determinados factores de crecimiento. El NO, estudiado detalladamente por Camargo y Manucha, posee efectos protectores contra la aterosclerosis controlando la vasodilatación, la función trombótica y la adhesión celular, jugando un papel fundamental en la función del

endotelio y de la homeostasis cardiovascular (Camargo & Manucha 2016).

Experimentos llevados a cabo en ratones demostraron que deprivando a estos animales del enzima cNOS se inducía HTA, daño vascular con proliferación de la neoíntima y una disminución del número y de la función de los osteoblastos con un subsiguiente descenso de la DMO (Armour et al. 2001).

Estos hallazgos se confirmaron en humanos en un ensayo clínico aleatorizado en mujeres con menopausia quirúrgica en las cuales, utilizando nitroglicerina como donante de NO, se consiguió prevenir la pérdida de DMO típica de esta condición (Wimalawansa 2000). En un estudio similar, Fiore y col., consiguieron prevenir la pérdida de tejido óseo tratando con L-arginina ratones medicados con ciclosporina A (Fiore et al. 2000).

Nabhan postuló que los donantes de NO podían tener utilidad en la prevención de la osteoporosis postmenopáusica y confirmó dicho axioma a través de un estudio aleatorizado con mononitrato de isosorbide, en el cuál encontró una asociación significativa entre el tratamiento y el descenso de los marcadores óseos de reabsorción y el incremento de los indicadores de formación (Nabhan 2006). El uso intermitente de dicho fármaco y su utilidad fue evaluado recientemente por el grupo de Misra que demostró una reducción del 33% del

riesgo de fractura de cadera en los sujetos tratados con mononitrato de isosorbide (Misra et al. 2017).

1.3.8. Vía Wnt.

La vía Wnt es un sistema de señalización celular involucrado en diferentes procesos como la embriogénesis, la organogénesis, la patología cardíaca, la enfermedad tiroidea y la actividad osteoblástica entre otras (Wodarz & Nusse 1998).

La vía Wnt se puede activar de dos formas: a través de la vía clásica o canónica, más estudiada, o mediante la vía no canónica. En condiciones basales, cuando la vía Wnt no está estimulada, un complejo proteico formado por axina, glucógeno sintasa quinasa 3 beta (GSK3 β) y por la proteína de la poliposis adenomatosa del colon (APC), fosforila la β -catenina que degradándose en los proteosomas reduce su concentración intracelular. Cuando la proteína Wnt se une con un receptor de la familia *frizzled*, asociado a las proteínas relacionadas con el receptor de las lipoproteínas de baja densidad 5 y 6 (LRP5 y LRP6), el complejo proteico axina-APC-GSK3, gracias a la cascada generada por los prótidos *Dishevelled*, se fracciona y no ejerce su

acción sobre la β -catenina que aumenta de esa forma sus niveles citosólicos. La β -catenina se puede así trasladar al núcleo dónde activa determinados factores de transcripción como el factor de los linfocitos T/factor de unión 1 al potenciador linfoide (Tcf-Lef1) desempeñando su función. La vía Wnt posee diferentes antagonistas entre los cuales se encuentra la SOST, expresada por los osteocitos, que actúa compitiendo con Wnt en la unión con el complejo LRP5/6-*frizzled*.

En el tejido óseo la activación de la vía Wnt induce la diferenciación de los osteoblastos, previa la activación de los factores de transcripción *Runx2* (Wang et al. 2014).

De nuevo, la importancia de esta cascada de señalización se deduce en el momento de su ausencia o disfunción. El síndrome pseudoglioma-osteoporosis (OPPG), la enfermedad de Van Buchem y la osteosclerosis son patologías en las que, entre otros signos, encontramos alteraciones óseas que se achacan a mutaciones de los genes implicados en la vía Wnt: del gen de la LRP5 en el caso de la OPPG y del gen de la SOST en la enfermedad de Van Buchem y en la osteosclerosis (Nassar et al. 2016).

A partir de estos descubrimientos algunos investigadores estudiaron la relación entre los polimorfismos de dichos genes y las variaciones fisiopatológicas de la DMO, buscando en estas diversidades genéticas la base de la predisposición a la osteoporosis. Los resultados

de los ensayos sugirieron una influencia de los genes Wnt10b, LPR5, LPR6 y SOST en la mineralización ósea (van Meurs et al. 2005; Panach et al. 2014).

Anticuerpos monoclonales neutralizantes dirigidos contra SOST (scl-Ab) administrados a modelos murinos con osteopenia, demostraron aumentar la masa ósea, así como lograron incrementar los marcadores de formación de hueso en mujeres postmenopáusicas. Estas características hacen que puedan ser considerados como tratamientos potenciales para la enfermedad osteoporótica (MacNabb et al. 2016).

Estudios recientes han demostrado que la vía Wnt juega un papel importante también a nivel vascular. En los vasos con calcificaciones se han hallado niveles de SOST elevados: la presencia de este inhibidor de la vía de señalización Wnt podría ser un mecanismo de realimentación negativa para paliar el proceso de calcificación vascular (Zhu et al. 2011).

La molécula Dickkopf 1(Dkk-1) es otro de los antagonistas de la vía Wnt. Uniéndose con el receptor de LRP5 y 6 interrumpe la cascada de señalización disminuyendo la cantidad de receptores de membrana LRP. De forma similar a SOST, se detectan mayores niveles de dicho inhibidor en el plasma de mujeres climatéricas y/o osteopénicas (Hampson et al. 2017).

En un estudio de Reyes-García y col., se han descrito niveles elevados de Dkk-1 en pacientes diabéticos con un aumento del grosor de la íntima media carotídea y de la incidencia de enfermedad aterosclerótica, confirmando los hallazgos de un estudio anterior de Ueland que halló la expresión del gen Dkk-1 en placas carotídeas (Reyes-García et al. 2016).

A nivel cardiovascular la proteína LRP5 tiene, entre otras funciones, la capacidad de eliminar las lipoproteínas que presentan Apoε: estudios en animales demostraron que ratones deficientes en LRP5 padecían hipercolesterolemia y estudios en humanos lo confirmaron gracias a la investigación de poblaciones asiáticas que, siendo portadoras de una alteración del gen LRP5 con la subsiguiente pérdida de su función, manifestaban altas cantidades de colesterol plasmático (Borrell-Pages et al. 2017).

A raíz de los estudios descritos, en los últimos años la investigación se está dirigiendo hacia la vía Wnt como posible diana terapéutica para frenar la pérdida de calcificación a nivel óseo y disminuir el proceso ateromatoso a nivel vascular (Fassio et al. 2017).

1.3.9. Vitamina D.

La vitamina D o calciferol es un compuesto liposoluble que se

clasifica en dos grupos según su origen: endógena, la isoforma D₃ o colecalciferol, producida en la piel y exógena, D₂ o ergocalciferol, de origen vegetal (Hart et al. 2006). Su función más conocida es a nivel óseo donde, tras su transformación renal en el metabolito activo 1,25 dihidroxivitamina D [1,25(OH)₂D], la vitamina D interactúa con su receptor presente en los osteoblastos aumentando la expresión de RANKL que, uniéndose a RANK, favorece la maduración de los osteoclastos a partir de sus precursores. El aumento de fósforo y calcio que deriva de la reabsorción ósea operada por dichas células y de la reabsorción intestinal directamente mediada por la vitamina D, favorece la adecuada mineralización esquelética (Hosseini-nezhad & Holick 2013).

Los receptores de la vitamina D (VDR) se encuentran en la mayor parte de los tejidos corporales, aunque su función y localización más conocida y estudiada es la esquelética; la presencia de los VDR en múltiples zonas ha llevado la investigación hacia otros órganos y sistemas, en particular el sistema cardiovascular.

Varios estudios mostraron que modelos murinos desprovistos de los VDR presentaban miocardiopatía hipertrófica, HTA, un estado protrombogénico, así como alteraciones vasculares y del metabolismo lipídico (Asano et al. 2017; Mark et al. 2016). Por otra parte, un grupo coreano relacionó, mediante un estudio angiográfico, la caren-

cia de vitamina D con la enfermedad coronaria (Lim et al. 2012), aunque posteriormente Degerud y Alsancak no hallaron diferencias significativas de estenosis carotidea según los valores séricos de vitamina D (Degerud et al. 2015; Alsancak et al. 2015).

Finalmente, la hipovitaminosis D se vinculó, gracias a estudios de tipo observacional, con una elevación de TG y descenso de HDL, pudiéndose explicar de esta forma el nexo entre las dos condiciones (Challoumas 2014).

1.4. Factores de riesgo comunes.

1.4.1. Depleción de estrógenos.

La depleción estrogénica característica de la menopausia tiene repercusiones fisiopatológicas a múltiples niveles, más llamativamente en la fertilidad, pero también a nivel óseo y cardiovascular, fenómeno ya descrito hace más de setenta y cinco años por Albright (Albright et al. 1941). Más recientemente se ha hecho hincapié en la importancia de los estrógenos en la salud del hueso, considerando la deficiencia de estos esteroides como el mayor contribuyente de la pérdida ósea relacionada con la edad (Fernández-Murga et al. 2015). En

el estudio de Khosla se comprobó también, mediante citometría de flujo, que el aumento de la resorción ósea debida al déficit estrogénico se relacionaba con un aumento en la expresión de RANKL en linfocitos T, B y en las células madre del estroma de médula ósea (MSC) postulando la implicación de esta vía de señalización en la osteoporosis por déficit estrogénico. Estos resultados confirmaron investigaciones previas y objetivaron una mayor cantidad de RANKL en dichas células de mujeres postmenopáusicas con respecto a las de las premenopáusicas, además de presentar menor pérdida de DMO cuando eran tratadas con estrógenos (Taxel et al. 2008; Khosla 2013).

Los estrógenos, tras la unión con su receptor ER, contribuyen a la regeneración del hueso: en la diferenciación de los precursores de los osteoblastos y osteoclastos favorecen la supervivencia de las células osteoinductoras y la apoptosis de los elementos que participan en la degradación ósea (Kousteni et al. 2002; Di Gregorio et al. 2001).

El efecto antioxidante de los estrógenos ha sido descrito en el mecanismo de acción de estas hormonas a nivel óseo, pero no solamente en él: enzimas antioxidantes inducidas por el tratamiento con estradiol (E₂), como la tiorredoxina, participan en la prevención del daño cardíaco (Satoh et al. 2007).

La importancia de los estrógenos en el sistema cardiovascular se pone de manifiesto cuando éstos descienden o desaparecen: el aumento de las patologías cardíacas y vasculares a partir de la menopausia indica que la depleción de estrógenos tiene un papel importante en la génesis de esta patología multifactorial. De hecho, en los años 80 se empezó a asociar la terapia hormonal sustitutiva (THS) con una disminución de la enfermedad coronaria; a partir de entonces se desarrollaron decenas de estudios para aclarar el papel de los estrógenos en la salud cardiovascular con resultados a favor del tratamiento (Stampfer & Colditz 1991; TL et al. 1983; Grodstein et al. 2000). Desde 1993 a 2005, 161808 mujeres entre 50 y 79 años fueron incluidas en el estudio WHI, ensayo clínico a gran escala diseñado para evaluar los riesgos y beneficios de la THS en la salud de la mujer menopáusica. Los resultados reflejaron decenas de años de tratamiento con THS encontrando, en la cohorte de pacientes tratadas, un aumento de cáncer de mama y colorrectal, de infarto agudo de miocardio y de tromboembolismo. Tal es así, que se vieron obligados a interrumpir el ensayo. A partir de este momento el uso de la THS disminuyó de forma importante así como los defensores del estrógeno como protector cardiovascular (Lakey et al. 2010). Pocos años más tarde surgieron numerosos estudios diseñados para suprimir los defectos del WHI encontrados *a posteriori*, como por ejemplo una dosis de THS dema-

siado elevada o una selección errónea de las mujeres incluidas, habiendo seleccionado menopáusicas de larga evolución (Harman et al. 2005; Miller et al. 2016). Restringiendo la población incluida y con el diseño adecuado, los estudios KEEPS y ELITE no encontraron un mayor riesgo de ECV en las mujeres tratadas con estrógenos e incluso se halló un espesor miointimal carotideo menor en las paciente en tratamiento (Harman et al. 2014; Hodis et al. 2016).

La depleción estrogénica, como se ha explicado previamente, tiene una repercusión bien establecida a nivel óseo y aún controvertida a nivel cardiovascular y es por este motivo que, en la práctica clínica diaria, la THS se indica como tratamiento precoz de los síntomas de la perimenopausia sin llegar a estar aprobada en la prevención primaria o secundaria de la ECV.

1.4.2. Envejecimiento.

La pérdida de la función ovárica no explica por completo la disminución de la DMO o las variaciones metabólicas que se verifican a lo largo de los años. Efectivamente, estudios epidemiológicos demostraron que las alteraciones óseas empiezan ya en la tercera década de vida, mucho antes del inicio del decline de la función gonadal (Riggs et al. 2008).

El envejecimiento celular, propio de la edad, contribuye en buena parte a la degeneración ósea. En las células de sujetos ancianos, los investigadores encontraron un tiempo de duplicación celular de casi el doble respecto a los sujetos más jóvenes, además de una expresión aumentada de p53, p21 y BAX, genes pro-apoptóticos (Zhou et al. 2008).

El estrés oxidativo, el estado proinflamatorio y la disminución de la longitud de los telómeros, se han revelado como factores influyentes en la pérdida de la masa ósea relacionada con la edad (Kassem & Marie 2011).

La relación que, hace más de 20 años, Hui encontró entre edad y aumento del riesgo de fractura sin observar una reducción de la DMO se puede explicar, adicionalmente a todo lo anteriormente comentado, con un envejecimiento de las estructuras extraóseas, como son los tendones y los músculos, que aumentan el riesgo de fractura (Hui et al. 1988).

Como ya se ha comentado, la incidencia y la prevalencia de la aterosclerosis, de la HTA y de la ECV también aumentan rápidamente a partir de los 45 años en los hombres y 10 años más tarde en las mujeres, siendo la edad un agente determinante del riesgo cardiovascular (Lakatta & Levy 2003). El envejecimiento se caracteriza por una disminución del *turnover* celular debido a cambios en la transcripción

genómica, en la traducción del RNA mensajero (RNAm) y en la epigenética. En algunas células se producen modificaciones tales como oxidación, metilación y fosforilación de proteínas que dan lugar a alteraciones y desórdenes moleculares en las reacciones cinéticas encargadas de la reparación de orgánulos citoplasmáticos, afectando todo ello a la homeostasis celular (Lakatta 2015).

La senectud vascular, estudiada por Xiao en 2016, es uno de los factores de riesgo más relevantes de la progresión y de la gravedad de la ECV. El proceso de envejecimiento involucra principalmente las tareas de barrera y supervisión de la homeostasis de las células endoteliales, a través de la vasoconstricción, de la vasodilatación, del control de la adhesión celular y de la coagulación (Eckers & Haendeler 2015). El fracaso de esta labor induce un estado de inflamación, proliferación, daño estructural y apoptosis en el que los miRNAs juegan un papel crucial (Lin et al. 2016). A nivel clínico estos hallazgos se reflejan en el deterioro de la función contráctil vascular con HTA y pérdida de la capacidad de regulación tensional, en el aumento del grosor del miocardio, de la fibrosis, de la función diastólica y de la contractilidad cardíaca (Sánchez & Peiró 2017).

1.4.3. Sedentarismo.

La OMS considera la inactividad física como una de las diez causas más importantes de morbilidad (Guilbert 2003).

A pesar de las medidas implementadas para disminuir el hábito sedentario y la evidencia de que la actividad física regular juega un papel protector contra una de las principales causas de muerte como es la cardiopatía isquémica, hoy en día la población es cada vez más inactiva (Varo et al. 2003). Varios estudios han encontrado que el deporte, asociado con otros cambios en el estilo de vida, podría prevenir asimismo la mayor parte de los casos de diabetes mellitus (Hu et al. 2001).

La obesidad y la hipertensión, factores de riesgo importantes de la ECV, tienen en el sedentarismo un aliado fundamental. El ejercicio físico permite mantener TA en rango y el normopeso, contrastando el aumento de masa grasa especialmente a nivel abdominal (Rosique-Esteban et al. 2017).

A nivel osteomuscular la importancia de la actividad física se hace evidente a partir de los primeros lustros de vida. Esto ha sido demostrado por los estudios "*Pediatric Osteoporosis Prevention*" (POP) y "*Malmö POP*", en los cuales el ejercicio se ha relacionado con

una disminución de las fracturas, incluso en la población pediátrica (Fritz et al. 2016; Cöster et al. 2017).

En la población adulta el ejercicio físico permite mantener una masa ósea mayor y de mejor calidad a lo largo del tiempo. Según lo descrito por Wang y col. en un ensayo clínico con 436 pacientes, a partir de valores de DMO iniciales semejantes y tras un seguimiento de 4 años, los sujetos sometidos a ejercicio físico controlado mostraron una mayor DMO además de una mejor calidad de vida, así como una mejoría del dolor (Wang et al. 2016).

A nivel plasmático se ha verificado un aumento de los marcadores de formación ósea en mujeres hipertensas, precedentemente inactivas, tras 15 semanas de entrenamiento, lo que confirma el beneficio del ejercicio sobre el tejido óseo (Mohr et al. 2015).

Un nuevo metanálisis que analiza la efectividad del ejercicio en la prevención de la osteoporosis en la mujer postmenopáusica, ha concluido que la actividad física preserva y promueve la mineralización ósea a todos los niveles (Zhao et al. 2017) y recientemente, el grupo de Zhang estudió el papel del estrés mecánico debido a la actividad física en los osteoblastos y en los osteoclastos, utilizando ratones hembras. Los resultados mostraron que, la fuerza aplicada sobre los distintos componentes del tejido óseo durante el ejercicio, favo-

rece la acción osteoblástica e inhibe la osteoclástica a través de la modulación de la expresión de la periostina y de la semaphorina-3A (Zhang et al. 2017).

1.4.4. Alcohol y tabaco.

El alcohol tiene una relación ambigua con la ECV. Cantidades exiguas y moderadas de esta sustancia se han asociado con una reducción en la incidencia de diabetes, HTA, patología arterial, angina pectoris e ictus (Maraldi et al. 2006). Por el contrario, la ingesta crónica de dosis elevadas de etanol puede producir una serie de modificaciones que conllevan alteraciones cardiovasculares perjudiciales (Kyung Eun et al. 2017).

El alcohol se metaboliza en el hígado en dos etapas: primero el enzima alcohol dehidrogenasa convierte el alcohol en acetaldehído, un reactivo tóxico, después otra enzima, la aldehído dehidrogenasa transforma el acetaldehído en acetato. Durante estas reacciones se producen agentes oxidantes que, como ya se ha detallado, tienen una acción negativa en el endotelio vascular. El abuso crónico de alcohol induce además un estado pro-aterosclerótico mediante el aumento de

citoquinas proinflamatorias como TNF- α y la producción de moléculas de adhesión celular (iCAM-1, vCAM-1, e-Selectina) (Carnevale & Nocella 2012).

Numerosos estudios han asociado el consumo crónico de alcohol con una disminución de la DMO y con un aumento de la incidencia de fracturas, sin observarse diferencias de género (Kanis et al. 2005; Backo & Love 2013). En un estudio basado en autopsias del departamento forense de la Universidad de Aarhus en Dinamarca, los investigadores encontraron una alteración de la mineralización ósea en los cadáveres de alcohólicos por una disminución de la actividad osteoblástica sin observarse anomalías en el proceso de resorción ósea (Ulhøi et al. 2017).

Los mecanismos implicados en la génesis de la osteopenia producida por el alcohol se extrapolaron a los anteriormente expuestos para la ECV: las especies reactivas de oxígeno serían la base de las alteraciones trabeculares que relacionan el etanol y la osteopenia según las investigaciones de Alund y col. (Alund et al. 2017). Por otro lado, su consumo prolongado y excesivo provocaría una reducción de los metabolitos de la vitamina D y causaría hipogonadismo secundario, lo cual se revelaría perjudicial para el hueso (Turner 2000).

Un análisis de los factores de riesgo de la osteoporosis, en 7305 sujetos a lo largo de la península italiana, afirmó que la DMO estaba

comprometida no solamente por el abuso de alcohol, sino también por el consumo de tabaco (Cavalli et al. 2016). La cantidad y la duración de la exposición al humo se relacionó asimismo con el grado de pérdida ósea (Ugurlu et al. 2016).

La toxicidad del tabaco en el hueso podría actuar a más niveles: indirectamente inhibiendo la absorción de calcio y actuando negativamente en hormonas tales como E₂, PTH y FA (Blum et al. 2002), al igual que de forma directa inhibiendo la formación ósea (Broulik & Jarab 1993). Experimentos con ratas Wistar sometidas a inhalación de humo pasivo demostraron que, a partir de los 4 meses de exposición, presentaban una disminución de la DMO de hasta un 12%, una disminución de la FAO y un aumento de la TRAP indicando que el tabaco podría inducir una disminución de la formación ósea y un aumento de su reabsorción (Gao et al. 2011).

También se ha estudiado la relación de la inhalación pasiva de humo de tabaco con la aterosclerosis. En un trabajo de 2016, el grupo neoyorquino de Yankelevitz, ha asociado la duración de la exposición pasiva al tabaco con el grado de calcificación de las arterias coronarias, proponiendo añadir este factor de riesgo a los clásicamente descritos para la ECV (Yankelevitz et al. 2016). Tras 12 años del cese del hábito tabáquico las calcificaciones vasculares disminuyen y se observa una normalización de muchas de las alteraciones producidas

por dicho tóxico: de los radicales libres, de los lípidos y de la coagulación (Cheezum et al. 2017; Shah & Cole 2010). En la alteración vascular, en el estadio pro-inflamatorio y en el estado pro-trombótico se basa el mecanismo patogénico de los más de cuatro mil componentes del humo del tabaco (Al Rifai et al. 2017).

1.4.5. Genéticos.

El origen genético de la asociación entre osteoporosis y ECV ha suscitado, desde hace años, mucho interés. Las investigaciones han generado hipótesis dirigidas hacia múltiples caminos: desde el gen de la enzima convertidor de la angiotensina y de la OPG a los loci de la vitamina K epóxido reductasa. Sin embargo, los mayores esfuerzos se han centrado en el estudio del polimorfismo del gen Apoε (Fodor et al. 2013; Briongos-Figuero et al. 2016).

La apolipoproteína Apoε es una proteína plasmática de 299 aminoácidos codificada por el gen Apoε situado en el cromosoma 19 y se expresa en tres isoformas: Apoε2, Apoε3 e Apoε4 (Figura 8). Es un componente fundamental de los quilomicrones y se produce principalmente en el hígado. La Apoε, uniéndose a los receptores de las LDL, regula el catabolismo de las lipoproteínas que contienen TG y colesterol (Errico et al. 2017).

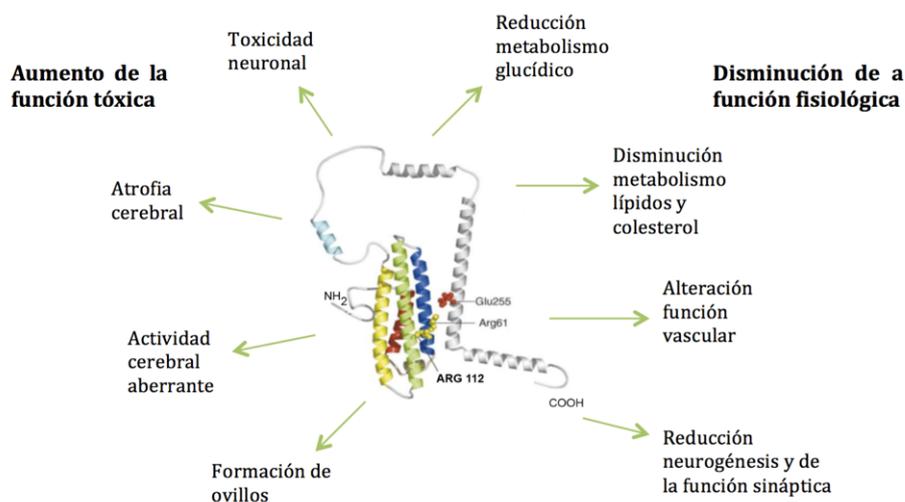


Figura 8. Apolipoproteína $\epsilon 4$: morfología y funciones. Se describen en la Figura 8 las funciones propias de la apolipoproteína $\epsilon 4$ según el aumento o la disminución de su función.

El uso de modelos animales carentes de la Apo ϵ (Apo ϵ -/-) ha permitido relacionar dicha deficiencia con un aumento del colesterol, de las LDL y con las estenosis carotideas, estando la isoforma $\epsilon 4$ especialmente vinculada con el incremento de la aterosclerosis (Mastroianno et al. 2017; Shibata et al. 2017).

Por otro lado, la implicación de la Apoε con la predisposición a la osteoporosis sigue en debate. Feng y col. encontraron en un nuevo modelo murino deficiente en Apoε y Fas, una asociación entre aterosclerosis y osteopenia (Feng et al. 2007), que Lee y col. hallaron unos años antes en mujeres postmenopáusicas (Lee et al. 2005). Un meta-análisis de 2011 avaló estos resultados, confirmando la existencia de una relación entre el déficit de Apoε4 y la disminución de la DMO (Peter et al. 2011) y más recientemente otros estudios consiguieron fortalecer el nexo entre la Apoε4 y la aterosclerosis, descartando por otro lado el vínculo de ésta con la osteopenia (Hou & Wu 2012; S. A. Kim et al. 2016).

En 2018, el grupo de Lin, basándose en el pleiotropismo genético, identificaron nuevos loci potencialmente implicados en ambos fenotipos, el osteoporótico y el dislipémico, volviendo a hipotetizar una participación de la vía Wnt en la patogénesis de ambas enfermedades (Lin et al. 2018).

Aunque la influencia genética en ambas enfermedades sea irrefutable, se necesitan más estudios para aclarar los polimorfismos realmente implicados en la génesis de estas patologías.

1.5. Dislipemia: variable determinante en la pared vascular y en el hueso.

1.5.1. La conexión grasa-hueso.

La relación entre el tejido óseo y el tejido adiposo ha sido una cuestión ampliamente debatida. En los últimos años se han llevado a cabo numerosos estudios para aclarar esta controversia. Históricamente se ha atribuido a la grasa un efecto protector frente a la pérdida de masa esquelética debido a los efectos mecánicos del aumento del peso sobre la estructura ósea. Efectivamente, el incremento de las fuerzas aplicadas en los huesos, conduce a la disminución de la actividad osteoclástica y a la activación de los osteoblastos y por lo tanto a la ganancia de tejido óseo (Reid 2008).

A nivel endocrinológico el adipocito opera a través de dos vías diferentes: directamente secretando adipoquinas como la leptina, e indirectamente actuando sobre la producción pancreática de amilina e insulina y la formación de estrógenos; a través de estas moléculas interviene de manera importante en la regulación positiva de la formación ósea. Adiponectina y leptina son dos adipocitoquinas producidas principalmente por los adipocitos. Estas hormonas han sido investigadas por varios autores como un enlace entre el tejido óseo y el

adiposo aunque sin resultados apodícticos (Takeda & Karsenty 2008; Lorentzon et al. 2006).

Ratones genéticamente modificados deficientes en los receptores de leptina o con insensibilidad a ella, mostraron una DMO aumentada a pesar de presentar otras características fisiopatológicas como hipogonadismo o hipercortisolismo que les predispondrían a una disminución de la mineralización del hueso; en estos animales la administración periférica de leptina conseguía aumentar de forma importante la formación ósea (Thomas & Burguera 2002).

Lei y col. exploraron recientemente los efectos de esta adipocitocina en modelos murinos tras la inducción de fracturas. Los ratones sucesivamente tratados con leptina evidenciaron una mayor formación del callo de fractura, de la fusión ósea y de la curación respecto a los tratados con placebo (Lei et al. 2016).

Por otro lado, Gulin y col., en un estudio en 236 pacientes, además de confirmar la relación ya bien conocida entre la adiponectina y la prevención de la ECV, demostraron que esta molécula representaba un predictor independiente de fractura ósea y de mortalidad por cualquier causa (Gulin et al. 2017), hallazgo confirmado también en la investigación de Tanna y col. (Tanna et al. 2017).

Sin embargo, en la última década, varios estudios han evidenciado una relación inversa entre los dos tejidos: la presencia de obesidad central se asociaría con una disminución de la calidad ósea (Krishnan et al. 2017; Rexhepi et al. 2015). Los mecanismos fisiopatológicos planteados para explicar esta hipótesis radican básicamente en la existencia de progenitores comunes de las células de los dos tejidos y en el estado proinflamatorio grasa-dependiente que actuaría negativamente en la salud ósea (explicado en el apartado 1.3.1).

1.5.2. Alteración del metabolismo lipídico, DMO, marcadores de remodelado óseo y fracturas.

Las primeras investigaciones que observaron una relación entre la DMO y los niveles de lípidos hemáticos se remontan a los años 70 (Pinals & Jabbs 1972). A partir de entonces, este tema ha despertado un gran interés, contribuyendo a la realización de estudios para descubrir la naturaleza de este vínculo.

La discrepancia en la literatura acerca de la relación entre el perfil lipídico y la DMO se objetiva en las diferentes hipótesis fisiopatológicas propuestas. Algunos autores hipotetizaron que la dislipemia, con su gran cantidad de grasa plasmática, provocaría una extravasación de los lípidos hacia las paredes vasculares, lugar en el que se

oxidan. Tras su modificación estas moléculas actuarían a nivel de los vasos como inductores de la acción osteoblástica con la consiguiente formación de placas calcificadas mientras que, en el tejido óseo, fomentarían la inhibición de las células formadoras de hueso disminuyendo la mineralización y orientando la diferenciación de los progenitores celulares hacia la línea adipocitaria. Las dos actividades opuestas de las mismas células estarían mediadas por la enzima fosfatasa alcalina (FA) que demostraría así una acción dual, agonista y antagonista, dependiendo de su localización (Stein & Lian 1993; Parhami et al. 1999). Otros autores (Rubin & Silverberg 2004) relacionaron la ECV y la osteoporosis a través de otra vía: la alteración en el aporte de flujo sanguíneo en los territorios distales del organismo propio de la ECV, que sería, siendo según estos autores, la causa de la alteración funcional de las células óseas. Dicha postura ha sido avallada posteriormente por Bagger y col. mediante un estudio en 1176 mujeres danesas postmenopáusicas (Bagger et al. 2007).

El mevalonato (Figura 9 y 10), un importante metabolito intermediario en la biosíntesis de colesterol también ha sido implicado por varios autores en la diatriba sobre el origen de ambas enfermedades. El mevalonato estaría involucrado no sólo en la producción de colesterol sino también en la diferenciación de las MSC hacia osteoblastos apoyando la tesis de la existencia de una relación entre dislipemia y

osteoporosis (Cummings & Bauer 2000; Parhami et al. 2002; Tintut et al. 2004).

Los resultados arrojados por los distintos estudios son dispares y en muchas ocasiones contradictorios. Algunos autores han encontrado una relación entre un perfil lipídico favorable (descrito como niveles bajos de LDL, colesterol total y TG y niveles aumentados de HDL) y una DMO favorable, como es el caso de los trabajos de (Yamaguchi et al. 2002; Tankó et al. 2003; Bloch-Thomsen et al. 2003; Orozco 2004; Cui et al. 2005; Makovey et al. 2009; Jeong et al. 2014), mientras que otros autores describen una DMO favorable asociada a un perfil lipídico patológico (descrito como niveles elevados de LDL, TG y colesterol total y niveles disminuidos de HDL) (Adami et al. 2004; Brownbill & Ilich 2006; Ersoy et al. 2017). También podemos encontrar en la literatura estudios donde no se ha logrado objetivar relación alguna entre el perfil lipídico y la DMO (Samelson et al. 2004; Solomon et al. 2005; Ghadiri-Anari et al. 2016; Li et al. 2015; Go et al. 2012; Abbasi et al. 2017).

Hay que tener en cuenta la gran heterogeneidad de los estudios incluidos, las distintas poblaciones analizadas y la ausencia de una estandarización homogénea a la hora de valorar los resultados.

Con el objetivo de intentar arrojar luz en esta disyuntiva, diversos estudios se han llevado a cabo en modelos animales, destacando el trabajo de Pelton y col. en 2012 dónde ratones fueron asignados a dos grupos: el primero recibía una dieta rica en colesterol y el segundo a una dieta pobre en lípidos, ambos durante 4 meses. Las dietas no provocaron un aumento de peso del animal, descartando así el sobrepeso como factor de confusión. Los resultados analíticos demostraron una diferencia significativa en los niveles de colesterol y en el hueso: los ratones hipercolesterolémicos presentaban una DMO disminuida, una alteración de las trabéculas y de las propiedades mecánicas del hueso. No se encontró diferencia en cantidad de OCN hemática, siendo eso un hecho sugerente de la falta de influencia de los osteoblastos en la relación lípidos-tejido óseo. Contrariamente, la cuantía de Pyr en los murinos con dieta rica en colesterol se hallaba más elevada, planteando un papel de los osteoclastos en la mediación entre colesterol y DMO (Pelton et al. 2012).

1.6. Implicaciones terapéuticas: repercusión de las estatinas sobre el metabolismo óseo y de los bifosfonatos sobre el metabolismo lipídico.

Las estatinas son unos fármacos inhibidores de la 3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A reductasa (HMG-CoA reductasa) y tienen como principal función la acción hipolipemiante. La HMG-CoA reductasa actúa bloqueando un paso fundamental de la biosíntesis del colesterol: la formación de mevalonato a partir de la HMG-CoA (Rey et al. 1997) (Figura 9).

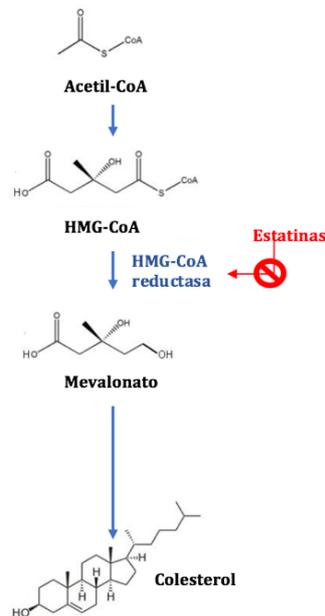


Figura 9. Síntesis de colesterol y mecanismo de acción de las estatinas. *La síntesis de colesterol empieza con 3 moléculas de acetil-Coenzima A (Acetil-CoA) que, gracias a la acción de la HMG-CoA sintasa, forman la HMG-CoA. Esta molécula se transforma en mevalonato por acción de la HMG-CoA reductasa. Posteriormente, el mevalonato, a través de farnesil pirofosfato, escualeno y lanosterol da lugar al colesterol. Las estatinas inhiben la HMG-CoA reductasa disminuyendo finalmente la síntesis de colesterol.*

Desde el momento de su descubrimiento, hace más de cuarenta años, innumerables estudios han sido desarrollados para estudiar nuevas posibilidades terapéuticas de estos medicamentos focalizando la atención en el tejido óseo (Horne et al. 2003; Bickel et al. 2002).

Un meta-análisis de Hatzigeorgiou y Jackson de 2005 examinó la literatura publicada sobre el efecto de las estatinas en el hueso. Los 25 artículos que finalmente cumplían los criterios de inclusión, estudiaron más de medio millón de pacientes y llegaron a sugerir que podría existir un beneficio en el uso de estos medicamentos para el tratamiento de la osteoporosis por la disminución de las fracturas y la mejoría en la DMO en la cadera, aunque no se relacionaron los marcadores de reabsorción ósea con la toma de estos fármacos (Hatzigeorgiou & Jackson 2005).

Liu y col. en un meta-análisis posterior confirmaron estos hallazgos tras la revisión de 12 artículos, concluyendo que las estatinas

podían "mejorar o mantener la DMO a nivel lumbar, de cadera y de fémur" (Liu et al. 2013).

El primero en intentar explicar el origen de este efecto fue Mundy en 1999. En un estudio *in vitro* e *in vivo* encontró un aumento de la BMP-2 en células óseas de humanos y de roedores, secundario al tratamiento con estatinas y a la cascada de eventos desencadenada por la inhibición de la producción de mevalonato (Mundy et al. 1999). Este mecanismo podía depender de la estatina utilizada: las lipofílicas poseerían la capacidad de estimular la síntesis de BMP-2 que faltaría en el caso de la hidrofílicas (Chuengsamarn et al. 2010). Un factor que podría llevar a duda sobre el real efecto de este fármaco es el impacto del primer paso hepático. Debido a sus características farmacocinéticas, las cantidades necesarias para obtener un efecto "óseo" es sensiblemente superior a aquellas para conseguir la actividad hipolipemiante (Williams & Feely 2002). Otra justificación del efecto de esta molécula puede radicar en la acción antiinflamatoria. La reducción de TNF- α , de la proteína C reactiva y el aumento del flujo arterial mediado por las estatinas, contribuiría a la disminución de la acción negativa de la flogosis sobre el tejido óseo (Ansell et al. 2003). Las estatinas podrían asimismo bloquear la osteoclastogénesis a través de la inducción de la expresión de la OPG y la consecuente inhibición de la vía del RANK (Rattazzi et al. 2016).

Sin embargo, no todas las investigaciones encontraron un efecto beneficioso del tratamiento con inhibidores de la HMG-CoA reductasa. Algunos, como Lima y col., observaron que la simvastatina utilizada en ratas, tenía un efecto negativo sobre la regeneración ósea (Lima et al. 2011). Otros estudios no encontraron ninguna relación estadísticamente significativa entre estos fármacos hipolipemiantes y la DMO, aunque sí una disminución de la frecuencia de fracturas (Pasco et al. 2002; Rejnmark et al. 2002).

La dosis terapéutica de atorvastatina fue investigada en varones objetivando que, contrariamente a lo que se había descrito en estudios anteriores, ejercía un efecto favorable en la DMO y en las cantidades de marcadores de reabsorción ósea que se reducían tras un año de uso (Chen et al. 2014).

Ward y col. examinando el tipo de fracturas de forma retrospectiva en 7000 pacientes observaron un riesgo inferior de rotura del cuello de fémur en los sujetos tratados con estatinas sin embargo, esta diferencia no se apreciaba a nivel de miembro superior, inferior o global (Ward et al. 2014).

Más tarde, el estudio JUPITER, un ensayo clínico internacional aleatorizado caso-control y doble ciego, involucró 17000 participantes durante un periodo de cinco años estudió la acción de la rosuvastatina. Un grupo del ensayo fue asignado a la toma de la estatina, un

inhibidor de la HMG-CoA reductasa hidrofílico y el otro a la administración de placebo. La incidencia de fracturas se comprobó mediante radiografía o TC sin observarse diferencias estadísticamente significativa en los dos brazos de estudio (Peña et al. 2015).

Un estudio italiano en 20 mujeres postmenopáusicas hipercolesterolémicas demostró que el tratamiento con 40 mg diarios de atorvastatina durante solo tres meses conseguía disminuir los niveles de LDL y colesterol total sin afectar TG y HDL aumentando las cantidades de OPG séricas y reduciendo las de OCN. Sin embargo, el hallazgo más importante fue la disminución de la expresión de RANKL en las células T secundario al tratamiento con dicha estatina (Rattazzi et al. 2016).

En 2017 An y col. publicaron un meta-análisis de 33 artículos publicados entre 2000 y 2014. La justificación para la realización de este meta-análisis, argumentada por los autores, hacía hincapié en la heterogeneidad de los artículos incluidos y en el uso del riesgo de fractura como único resultado. El grupo de investigadores añadió algunos aspectos a considerar a la hora de valorar la eficacia del tratamiento con estatinas sobre el hueso, encontrando una mejoría en la DMO vertebral y de cadera y en concentraciones de OCN con el uso de dichos fármacos (An et al. 2017). No obstante, Donzelli, Battaglia y Schivalocchi criticaron fuertemente las conclusiones de An y col. por incluir

estudios observacionales que según los autores no son exentos de factores de confusión y que se podrían solventar sólo con ensayos clínicos aleatorizados. Los autores afirmaron que éstos últimos diseños son los únicos que pueden probar causalidad y que, quitando estos tipos de estudios, no se alcanzaba significación estadística. Asimismo en el meta-análisis de An y col. no se consideró la adherencia al tratamiento: en la carta al editor se hace referencia a numerosas investigaciones en las cuales el solo hecho de cumplir con el tratamiento, fármaco o placebo que sea, induce a un beneficio, siendo los buenos cumplidores pacientes con costumbres más saludables en general (Donzelli et al. 2017).

Una investigación más reciente analizó la eficacia de la combinación alendronato-simvastatina en ratas hembras, clasificando los animales en cinco grupos: ovariectomizados alimentados con dieta rica en grasas, ovariectomizados con dieta rica en grasas y tratadas con alendronato, ovariectomizados con dieta rica en grasas y tratadas con simvastatina, ovariectomizados con dieta rica en grasas y tratadas con ambos fármacos, y grupo control. El brazo de estudio tratado con los dos fármacos demostró un mejor perfil lipídico y de marcadores óseos con respecto al grupo medicado con monoterapia (Mohamed et al. 2017).

Los bifosfonatos, por otra parte, son fármacos ampliamente estudiados y utilizados como tratamiento de la osteoporosis que ejercen

su función antiresortiva mediante dos mecanismos principales: el primero, propio de los bifosfonatos más antiguos, a través de la acción tóxica en los osteoclastos y el segundo, perteneciente a las moléculas más recientes, por medio de la inhibición de farnesildifosfato sintasa, enzima implicado en la formación de colesterol a partir del mevalonato (Rodan & Fleisch 1996; Fleisch 1998) (Figura 10).

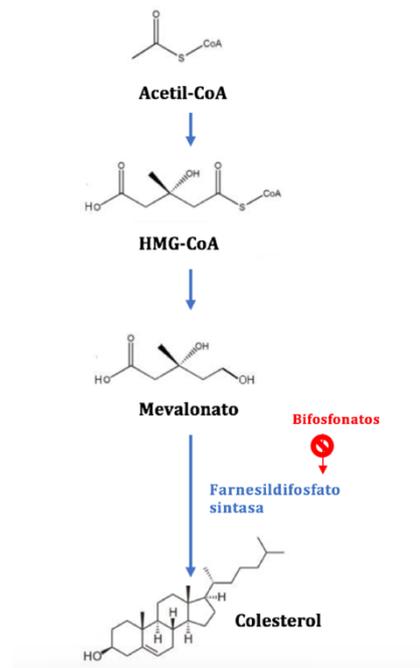


Figura 10. Síntesis de colesterol y mecanismo de acción de los bifosfonatos. La síntesis de colesterol, como anteriormente descrito, empieza con 3 moléculas de

acetil-Coenzima A (Acetil-CoA) que, gracias a la acción de la HMG-CoA sintasa, forman la HMG-CoA. Esta molécula se transforma en mevalonato por acción de la HMG-CoA reductasa. Posteriormente, el mevalonato, a través de farnesil pirofosfato, escualeno y lanosterol da lugar al colesterol utilizando en una de las etapas el farnesidifosfato sintasa. Los bifosfonatos inhiben la farnesidifosfato sintasa disminuyendo finalmente la síntesis de colesterol.

La inhibición de esta vía conduce por un lado a la apoptosis de los osteoclastos secundaria al bloqueo de la síntesis de isoprostenoides, indispensables para la correcta formación y funcionamiento de esta célula, y por otro a la inhibición de la síntesis del esterol (Woo et al. 2006).

Adami mostró el efecto hipolipemiante del neridronato endovenoso revelando un aumento de las HDL, del cociente HDL/LDL y de la relación ApoAI/Apo B, así como de una reducción de las LDL (Adami et al. 2000). Asimismo Guney y col., en 2008, en un seguimiento de 49 mujeres diagnosticadas de osteoporosis y dislipemia tratadas con alendronato, observaron una reducción estadísticamente significativa en colesterol total, LDL y TG, proponiendo retrasar el tratamiento con hipolipemiantes en estas pacientes (Guney et al. 2008).

Además de los factores de riesgo y de los mecanismos fisiopatológicos comunes anteriormente descritos, el tratamiento de ambas

patologías es, por lo tanto, otro nexo que nos sugiere la posible existencia de una relación entre ambas entidades.

Capítulo 2

HIPÓTESIS

Hipótesis:

La ECV y la osteoporosis son dos patologías que coexisten en la mayoría de las mujeres postmenopáusicas.

La dislipemia es uno de los mayores factores de riesgo para el desarrollo de la ECV; asimismo recientemente se ha especulado sobre su posible implicación en la génesis de la osteoporosis.

La hipótesis del presente proyecto de Tesis Doctoral es la existencia de una relación entre el perfil lipídico y el estado del metabolismo óseo en mujeres postmenopáusicas. Esta potencial relación puede escaparse a análisis incompletos que valoren sólo aspectos aislados como la DMO o los marcadores bioquímicos, y podría hacerse evidente sólo ante un acercamiento más exhaustivo. La inclusión de variables cuyo papel en el metabolismo óseo ha sido desvelado en los últimos años proporciona un potencial analítico adicional.

Capítulo 3

OBJETIVOS

Objetivos:

- Estudiar el estado del metabolismo óseo en una cohorte (CARMEN) de mujeres postmenopáusicas del área metropolitana de Valencia mediante una evaluación exhaustiva que incluye DMO, marcadores bioquímicos de recambio óseo y variables relevantes como los niveles de vitamina D, perfil hormonal, o proteínas tipo osteoprotegerina.
- Estudiar el lipidograma junto con una serie de características clínicas y analíticas de las mujeres incluidas en la cohorte "CARMEN" e investigar su relación con la densidad mineral ósea.
- Investigar el impacto del perfil lipídico sobre la DMO, tras desarrollar un análisis discriminante en el que se incluye un listado exhaustivo de variables que, a la luz de la evidencia presente, tienen un papel confirmado en el metabolismo óseo.

Capítulo 4

MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. Población de estudio.

Las mujeres participantes en la presente tesis doctoral pertenecen a la cohorte *Chronic Aliment Reduction after Menopause* (CARMEN). La cohorte "CARMEN" deriva de una cohorte consecutiva no seleccionada de pacientes que acudieron a las consultas externas monográficas dedicadas a la salud postmenopáusica ("Salud de la Mujer") de dos centros terciarios del área metropolitana de Valencia: el Hospital Doctor Peset y el Hospital Clínico, entre los años 1998 y 2016.

A las mujeres que acudían para realizar controles rutinarios se les proponía participar en dicha cohorte y, al aceptar, quedaban incluidas tras firmar el consentimiento informado según la legislación vigente (anexo I).

4.1.1 Criterios de inclusión.

- Menopausia (menopausia quirúrgica por ooforectomía bilateral o menopausia natural, establecida como amenorrea de más de 12 meses con niveles de hormona folículo-estimulante (FSH) superiores a 40 UI/ml según la definición de la OMS).

4.1.2 Criterios de exclusión.

- Premenopausia o perimenopausia.
- Presencia de patología ósea distinta a la osteoporosis primaria o bien trastorno metabólico que se manifieste con osteoporosis secundaria (cáncer, síndrome de Cushing, artritis reumatoide...).
- Toma de fármacos con acción sobre la masa ósea o su metabolismo (corticoides, THS o bifosfonatos).
- Toma de fármacos con acción sobre el metabolismo lipídico (estatinas, inhibidores de la absorción intestinal de colesterol, resinas de intercambio iónico, fibratos).

En el momento de cerrar la entrada al estudio de la presente tesis doctoral, la cohorte "CARMEN" estaba constituida por 1304 mujeres. De estas, 342, cumplían los criterios de exclusión, por lo tanto, salieron del estudio. En concreto, 57 mujeres fueron excluidas por padecer o haber padecido cáncer, 14 presentaban una enfermedad primaria del hueso diferente de la osteoporosis, 6 un trastorno metabólico con osteoporosis secundaria, 9 tomaban corticoides de forma continuada, 154 bifosfonatos o THS y 102 se trataban con estatinas. Además, 295 mujeres asistieron a la visita de inclusión y firmaron el

consentimiento informado, pero posteriormente no se realizaron las pruebas de laboratorio y/o de imagen necesarias para poder participar en el presente estudio.

Finalmente, fueron 667 mujeres las que cumplieron todos los requisitos.

Dado el carácter retrospectivo de la presente tesis doctoral, para poder trabajar con los datos de la cohorte "CARMEN" con el objetivo de desarrollar nuestra investigación, se solicitó, mediante la elaboración y la presentación de un proyecto de investigación, la autorización al Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Clínico de Valencia, obteniendo una resolución favorable (anexo II).

4.2. Recogida de datos.

A las mujeres incluidas en el estudio se les realizó una anamnesis y una exploración física básica, una analítica de sangre y una DXA. La analítica fue obtenida tras un ayuno mínimo de 8 horas. La muestra hemática se procesó mediante centrifugación en un plazo de dos horas para separar el suero de los otros elementos sanguíneos; se conservó posteriormente a -70°C hasta su análisis.

A las mujeres se les pesaba y medía para estimar su índice de masa corporal mediante la relación: $IMC = \text{peso (kg)} / \text{estatura (m}^2\text{)}$. Asimismo, se les tomaba la TA tras permanecer sentadas al menos 10 minutos mientras se les realizaba la anamnesis.

Finamente, a las mujeres se les ofrecía un pequeño cuestionario en el que se les preguntaba acerca de factores de riesgo de osteoporosis tales como la presencia de una historia familiar de osteoporosis y/o de fracturas de cadera, historia personal de menopausia precoz (<45 años, por fallo ovárico precoz o menopausia iatrogénica), tratamientos crónicos (ver “factores de exclusión”), consumo de tóxicos, así como otras variables como número de gestaciones, partos, etc (ver apartado 4.2.1). En la medida de lo posible estos datos fueron contrastados con los datos de las historias clínicas.

4.2.1. Anamnesis y exploración física.

En la visita de inclusión, a las pacientes “CARMEN” se les realizaba una anamnesis exhaustiva incluyendo:

- Edad (fecha de nacimiento).
- Edad de la menarquia.
- Edad de la menopausia.

- Tipo de menopausia (natural o iatrogénica).
- Historia obstétrica (gestaciones y partos).
- Enfermedades crónicas.
- Historia de fracturas.
- Medicación habitual, actual o previa.
- Consumo de tabaco y/o de otros tóxicos.
- Historia familiar de osteoporosis o fractura.
- Peso (en kilogramos, medido con una báscula de palanca y plataforma calibrada, con la paciente sin zapatillas posicionada en el centro de la plataforma en actitud erguida).
- Talla (en centímetros, medida con estadímetro calibrado con la paciente de pie en posición erguida sin zapatos ni adornos en la cabeza que puedan alterar la medición).
- TA (sistólica y diastólica, medida con un manguito del tamaño adecuado en el brazo izquierdo flexionado y apoyado en la mesa a la altura del corazón, con un esfigmomanómetro calibrado tras cinco minutos de descanso en posición sentada sin cruzar las piernas).

4.2.2. Lipidograma.

Se evaluaron en suero mediante métodos rutinarios automatizados, los siguientes marcadores bioquímicos de perfil lipídico: HDL (mg/dL), colesterol total (mg/dL) y TG (mg/dL), por pruebas colorimétricas enzimáticas mediante analizador automático (Autoanalizador Olympus AU5400; Beckman Coulter, Irlanda).

Las LDL se obtuvieron mediante la fórmula de Friedewald [$LDLc = CT - (HDLc + TG/5)$] siempre y cuando los niveles de TG se mantenían inferiores a 400 mg/dl (Warnick et al. 1990). En los casos en los que los TG superaban este valor se utilizaba un método espectrofotométrico mediante analizador automático (Autoanalizador Olympus AU5400; Beckman Coulter, Irlanda).

4.2.3. Marcadores del metabolismo óseo y otras determinaciones.

Los niveles de fósforo inorgánico total (mg/dL), calcio (mg/dL) y de la FA (U/L) se obtuvieron mediante métodos colorimétricos cinéticos y por luz ultravioleta con un analizador automático (Autoana-

lizador Olympus AU5400; Beckman Coulter, Irlanda). El mismo analizador se empleó para cuantificar la glucosa con una prueba UV enzimática.

La OPG (pg/mL) se obtuvo con un inmunoensayo enzimático (ELISA; Bender MedSystems GmbH, Austria) y el β -CTX (ng/mL) con el empleo de un inmunoensayo electroquimioluminiscente (Autoanalizador E170 Modular Analyser; Roche Diagnostics GmbH, Alemania).

Las hormonas E₂ (pg/mL), FSH (mUI/mL), hormona luteinizante -LH- (mUI/mL) y la Vitamina D (ng/mL) se determinaron con un inmunoensayo de electroquimioluminiscencia "ECLIA" (Autoanalizador E170 Modular Analyser; Roche Diagnostics GmbH, Alemania).

Los rangos de referencias para los marcadores descritos se encuentran detallados en la Tabla 4.

Tabla 4. Rangos de referencia de los marcadores del metabolismo óseo utilizados en nuestro estudio.

Marcadores formación	Valores biológicos de referencia	Unidad
OPG	216-768	pg/mL
FA	30.0-120.0	U/L

Resorción/re-modelado	Valores biológicos de referencia	Unidad
β-CTx	0.1 - 0.5	ng/mL
Calcio	8.8 - 10.6	mg/dL
Fosforo	2.5 - 4.5	mg/dL

Hormonas	Valores biológicos de referencia	Unidad
E₂	< 5.0 - 54.7	pg/mL
FSH	25.8 - 134.8	mUI/mL
LH	15.9 - 54.0	mUI/mL

Los valores biológicos de las hormonas detallados en esta tabla son de referencia para una población de mujeres postmenopáusicas.

Otras determinac.	Valores biológicos de referencia	Unidad
Glucosa	74.0 - 106.0	mg/dL
Vit D	11.1 - 42.9	ng/mL

4.2.4. Densitometría.

La DXA se realizó a nivel de la cadera no dominante y en la columna lumbar entre L2 y L4 mediante tres tipos distintos de densitómetros: Horizon DXA System de la empresa Hologic (EEUU), Lunar iDXA de GE Healthcare (EEUU) y Norland XR-36 de Swissray (EEUU). El resultado fue proporcionado por el programa informático del densitómetro en gramos por centímetro cuadrado. Para poder equiparar los resultados obtenidos con densitómetros de diferentes fabricantes calculamos la DMO estandarizada según las indicaciones de anteriores trabajos (Lu et al. 2001; Hui et al. 1997). Se obtuvo asimismo el resultado de la DXA en valores de T-score y de Z-score.

4.3. Análisis estadístico.

En nuestra cohorte se asumió que la población seguía una distribución normal según lo postulado en el teorema central del límite en el cual se establece que: *"para cualquier variable aleatoria X con media μ y varianza σ^2 , la distribución de las medias en muestras aleatorias simples de tamaño n se aproxima, al aumentar el tamaño muestral, a una distribución normal con media μ y varianza σ^2/n . El teorema*

central del límite permite utilizar la distribución normal como aproximación a la distribución de \bar{x} si el tamaño muestral es suficientemente grande, esta aproximación será razonablemente precisa siempre que n sea superior a 30" (Yuval Filmus 2010).

En la primera parte del presente trabajo de Tesis Doctoral realizamos un estudio descriptivo presentando los resultados como medias y desviaciones estándar (DE). Tras la descripción de la muestra valoramos las correlaciones mediante el empleo del coeficiente de correlación de Pearson que se calcula para medir la relación lineal entre medidas continuas con distribución normal. Las medias se compararon utilizando modelos anidados de efectos fijos y efectos mezclados de ANOVA. Si mediante este test se obtenían diferencias significativas, se aplicaban los test de corrección post hoc para lo cual era necesario saber si las varianzas de las variables eran homogéneas o heterogéneas, lo que se calculó empleando el test de Levene. Si las varianzas eran homogéneas, se usó el test de corrección post hoc de Bonferroni, y si éstas eran heterogéneas, se empleó el test T3 de Dunnett.

Finalmente empleamos la regresión logística. El modelo multivariante logístico o logit expresa el odds como función exponencial de las variables independientes:

$$\frac{p}{1-p} = e^{\beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_n X_n}$$

Donde p es la probabilidad de sufrir osteoporosis/osteopenia y X_i ($i=1,2,\dots, n$) son las variables independientes (variables antropométricas y del perfil lipídico). Los β_i son los coeficientes de regresión, estimados en el análisis. El aumento unitario de un determinado factor X_i o la presencia de un factor respecto a la ausencia en caso de factores dicotómicos, multiplica el odds por el valor e^{β_i} .

Por tanto, la influencia significativa de un factor se midió en términos de variación producida en el odds (donde el odds es la razón entre la probabilidad de sufrir osteoporosis/osteopenia y la probabilidad de no sufrir osteoporosis/osteopenia). La prueba de Hosmer y Lemeshow se utilizó para la calibración del modelo, esto es, el grado en que la probabilidad pronosticada se ajustaba a la realidad, indicando un mal ajuste si el valor de significación era menor que 0.05.

Se aplicó la regresión logística en la que la variable dependiente era dicotómica (sufrir osteoporosis/osteopenia o no).

En nuestro caso el modelo multivariante logístico expresó la probabilidad que tiene un paciente de sufrir osteoporosis/osteopenia en función de los distintos factores lipídicos y antropométricos. El análisis detectó, por tanto, qué aspectos incrementan significativamente la probabilidad de sufrir osteoporosis/osteopenia.

Para descubrir la jerarquía en la influencia de los dos bloques de variables introducidas (factores lipídicos y antropométricos) se

aplicó un método de entrada de variables por bloques y en cada bloque se seleccionaron las variables influyentes mediante un criterio de salida BSTEP. Los modelos de selección de variables por pasos permiten minimizar los efectos negativos de la sobreestimación (*overfitting*) que se puede producir en un modelo multivariante con poca muestra y muchas variables predictoras.

Además, la selección de variables por pasos permitió detectar la multicolinealidad de manera que, si dos variables independientes estaban altamente relacionadas, sólo entraba una de ellas en el modelo (si es que ésta tenía impacto significativo).

De esta manera se establecieron dos pasos con dos modelos: el primer paso con un modelo con las variables relevantes del bloque de las variables lipídicas y un segundo paso donde se añadieron las variables antropométricas llegando a un modelo con las variables relevantes que habían mejorado la calidad (capacidad explicativa) del modelo anterior.

En cada paso se comprobó la mejoría explicativa del modelo con respecto al paso anterior mediante la reducción del estadístico -2Log de la verosimilitud y mediante el aumento significativo del R_2 de Nagelkerke. Del modelo final (el que incluía todas las variables) se comprobó su validez mediante el área bajo la curva (AUC) y el porcentaje de aciertos. Valores de AUC cercanos a 1 o 0 indican que el test es

casi siempre adecuado o inadecuado, respectivamente, mientras que valores cercanos a 0.5 indican que usar el test no es mejor que el azar.

El nivel de significatividad empleado en los análisis ha sido del 5% ($\alpha=0.05$).

El análisis estadístico se realizó mediante el programa estadístico informático *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) de IBM (versión 24.0 para Mac, SPSS Inc., Chicago, Illinois).

Capítulo 5

RESULTADOS

5.1. Estudio poblacional.

La primera parte de nuestro estudio consta de un extenso análisis de las 667 mujeres postmenopáusicas del área metropolitana de Valencia incluidas en nuestra cohorte. El estudio se ha centrado en las características clínicas, analíticas y densitométricas descritas a continuación.

Tabla 5. Datos demográficos y clínicos del grupo de estudio.

	Media/porcentaje	n
Edad (años)	57.2 ± 9.5	667
Edad menarquia (años)	12.6 ± 1.4	667
Edad menopausia (años)	47.3 ± 5.4	667
Años de menopausia	10.0 ± 8.8	667
Menopausia natural	79.1%	667
Menopausia iatrogénica	20.9%	667
Peso (kg)	65.9 ± 10.9	646
Talla (cm)	157.7 ± 5.9	644
IMC (Kg/m²)	26.5 ± 4.2	644
TA sistólica (mmHg)	135.0 ± 21.4	502
TA diastólica (mmHg)	82.3 ± 11.7	502

	Media/porcentaje	n
Gestaciones	2.2 ± 1.3	563
Partos	1.9 ± 1.1	563
Fumadoras	21.4%	667
Fracturas*	17.3%	347

* Fractura no justificada por una caída desde una altura importante (más de tres escalones), impacto de alta energía o accidente de tráfico, exceptuando fracturas en dedos, cabeza y clavícula.

5.1.1. Características epidemiológicas de la muestra poblacional.

Los indicadores demográficos básicos y las variables clínicas de las mujeres de la cohorte “CARMEN” incluidas en nuestro estudio, se encuentran detallados en la Tabla 5.

Tal como se desprende de la Tabla 5, nuestra cohorte está formada por una población relativamente joven debido a que la consulta “Salud de la Mujer” a la que acudían, estaba dirigida principalmente a pacientes que se enfrentan a la etapa del climaterio. Estas mujeres solían asistir a las revisiones ginecológicas rutinarias con el objetivo de realizarse controles de salud. La edad de menarquia y de la menopau-

sia coincide con las medias nacionales descritas por las principales sociedades científicas (Marco Hernández et al. 2008; Asociación Española para el estudio de la Menopausia 2012). El IMC demuestra que, en nuestra población, las mujeres menopáusicas presentan sobrepeso. Destacar finalmente los años que transcurrieron entre la menopausia y el estudio clínico-analítico como también la TA, sistólica y diastólica en el rango de la normalidad.

5.1.2. Niveles plasmáticos de los lípidos.

En la Tabla 6 se observa que nuestra cohorte presentó, de media, unos niveles de colesterol total y LDL séricos por encima de los valores recomendados, mientras que los niveles de TG y HDL se situaron dentro de los valores de referencia anteriormente descritos.

Tabla 6. Niveles plasmáticos de los lípidos del grupo de estudio.

	Media	n
Colesterol total (mg/dL)	214.7 ± 39.5	667
LDL (mg/dL)	132.6 ± 33.4	667
HDL (mg/dL)	62.7 ± 15.1	667

	Media	n
TG (mg/dL)	100.8 ± 52.4	667

5.1.3. Niveles sanguíneos de los marcadores del metabolismo óseo, de las gonadotrofinas, del estradiol, de la vitamina D y de la glucosa.

Tabla 7. Niveles plasmáticos de los marcadores del metabolismo óseo, hormonas, de la glucosa y de la vitamina D del grupo de estudio.

Marcadores de formación	Media	n
OPG (pmol/L)	129.9 ± 201.6	354
FA (U/L)	170.0 ± 53.0	562
Resorción/remodelado	Media	n
β-CTx (ng/mL)	0.5 ± 0.2	464
Calcio (mg/dL)	9.6 ± 0.5	640
Fosforo (mg/dL)	3.6 ± 0.5	635

Hormonas	Media	n
E₂ (pg/mL)	20.0 ± 32.1	635
FSH (mUI/mL)	75.6 ± 35.0	542
LH (mUI/mL)	34.4 ± 15.0	456
Otras determin.	Media	n
Glucosa (mg/dL)	102.0 ± 23.9	654
Vit D (ng/mL)	26.5 ± 22.8	339

5.1.4. Estudio densitométrico de la masa ósea.

Tabla 8. Estudio densitométrico de la masa ósea del grupo de estudio a nivel del fémur (no dominante).

Cadera	Media ± DE	n
DMO	0.79 ± 0.12	653
T-score	-1.04 ± 1.09	652
Z-score	-0.07 ± 1.00	651

Los valores de DMO se expresan en g/cm², mientras que los de los parámetros T- y Z-score se expresan en desviaciones estándar.

Tabla 9. Estudio densitométrico de la masa ósea del grupo de estudio a nivel de la columna lumbar (L2-L4).

Columna	Media \pm DE	n
DMO	1.00 \pm 0.15	637
T-score	-1.31 \pm 1.36	636
Z-score	-0.13 \pm 1.28	635

Los valores de DMO se expresan en g/cm², mientras que los de los parámetros T- y Z-score se expresan en desviaciones estándar.

Tal y como se observa en las Tablas 8 y 9, y de acuerdo con la edad de los sujetos participantes y con la consulta en la que se reclutaron, las mujeres incluidas muestran un buen estado óseo promedio, presentando únicamente una leve osteopenia tanto en cadera como en columna lumbar a tenor de los valores de T-score mostrados.

5.2. Estudio de correlación.

La segunda parte de esta tesis doctoral ha estado centrada en la valoración de la relación entre lípidos y densidad ósea en nuestra cohorte de mujeres valencianas.

5.2.1. Relación entre las variables antropométricas y la DMO.

Entre las variables antropométricas estudiadas en nuestra población de mujeres postmenopáusicas, la edad fue la variable que más se asoció con la disminución de la DMO observada en ambas localizaciones esqueléticas (columna lumbar, $r=-0.0346$, $p<0.00001$; cadera, $r=-0.143$, $p<0.00001$) (Figuras 11 y 12).

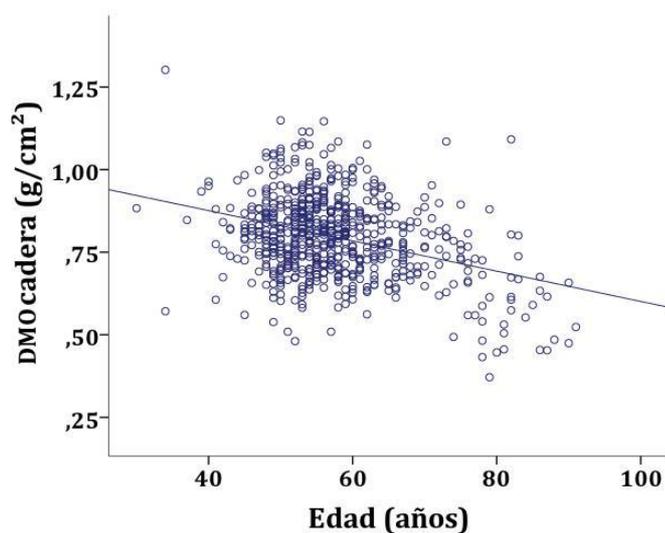


Figura 11. Correlación entre la edad y la DMO del grupo de estudio a nivel del fémur (no dominante).

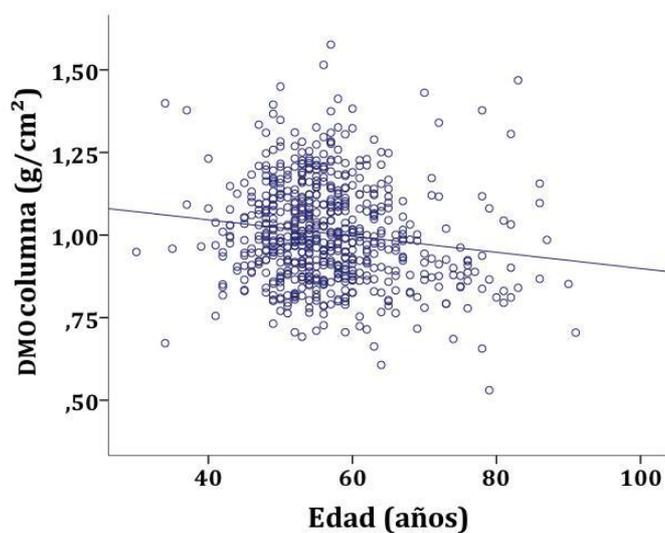


Figura 12. Correlación entre la edad y la DMO del grupo de estudio a nivel de la columna lumbar (L2-L4).

Si analizamos la muestra en cuartiles según la edad (≤ 51 años, 52-55 años, 56-61 años y ≥ 62 años), se puede observar que la DMO media de la columna y de la cadera se mantiene estable en los grupos de edad menor de 51 años, entre 52 y 55 años y entre 56 y 61 años (0.81 g/cm² para la cadera, 1.01 g/cm² para la columna) pero disminuye significativamente en las mayores de 62 años (0.74 g/cm² para la cadera, 0.96 g/cm² para la columna, $p < 0.001$), (Figura 13).

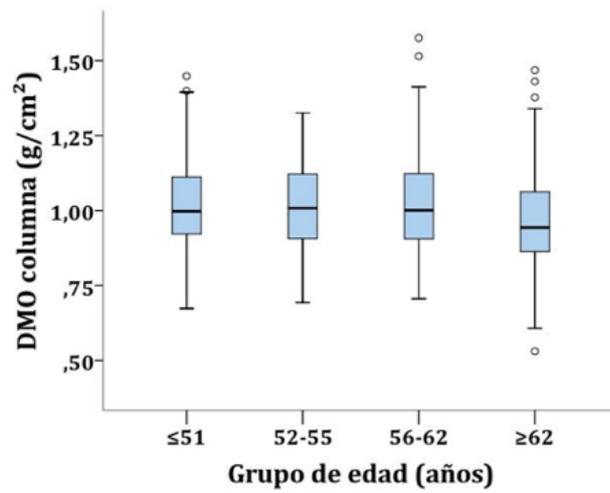
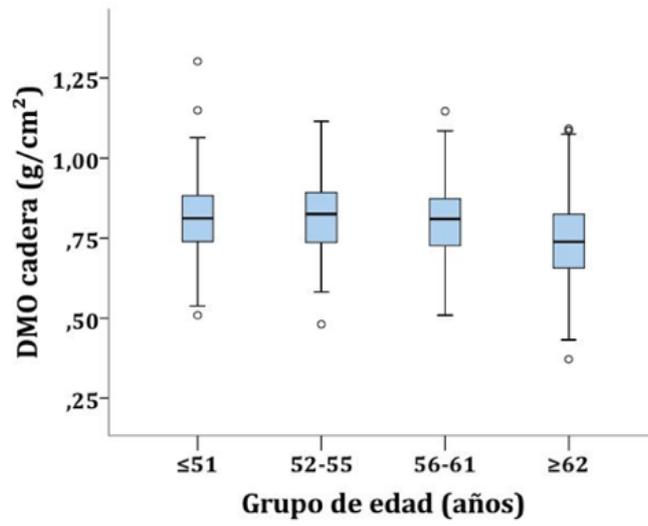


Figura 13. Diferencia en DMO entre grupos de edad a nivel del fémur (no dominante, figura superior) y de la columna lumbar (L2-L4, figura inferior).

De la misma forma, a más años de menopausia, menos DMO ($r=-0.361$ $p<0.00001$ y $r=-0.199$, $p<0.00001$) (Figuras 14 y 15).

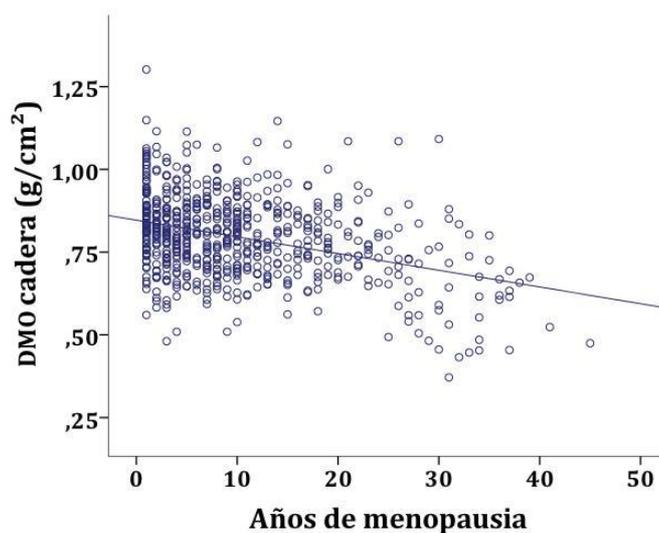


Figura 14. Correlación entre los años de menopausia y la DMO del grupo de estudio a nivel del fémur (no dominante).

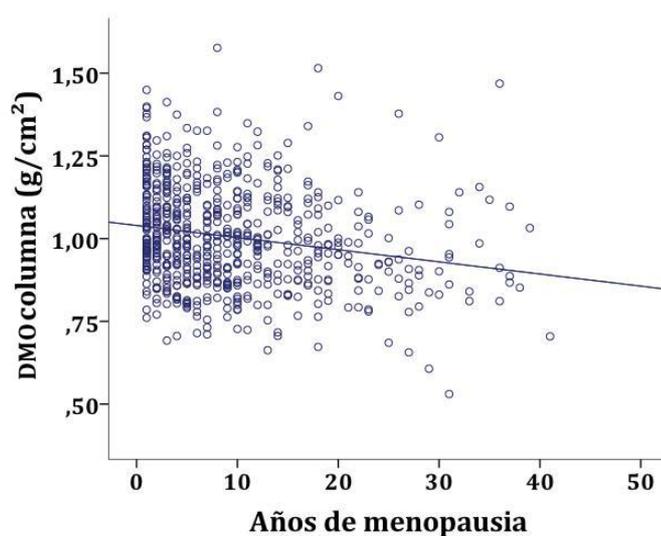


Figura 15. Correlación entre los años de menopausia y la DMO del grupo de estudio a nivel de la columna lumbar (L2-L4).

En nuestro estudio encontramos, como era de esperar, una correlación positiva entre la DMO y el IMC ($r=0.254$, $P<0.00001$ en cadera y $r=0.243$, $p<0.00001$ en columna) y entre la DMO y el peso ($r=0.145$, $p<0.00001$ en cadera y $r=0.169$, $p<0.00001$ en columna) (Figuras 16 y 17).

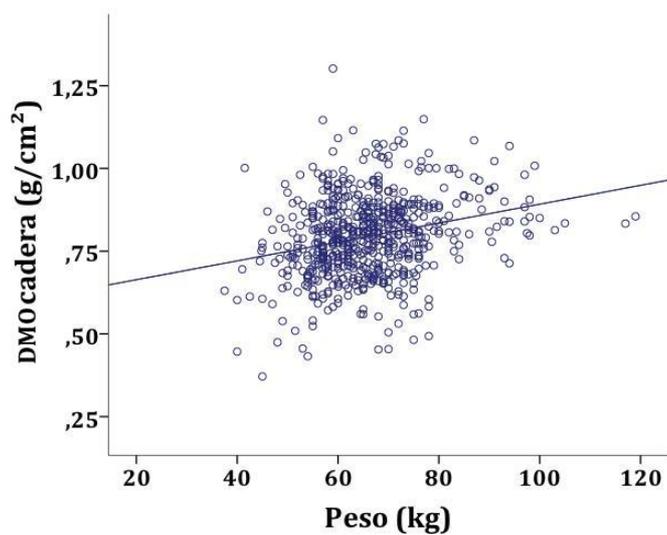


Figura 16. Correlación entre el peso y la DMO del grupo de estudio a nivel del fémur (no dominante).

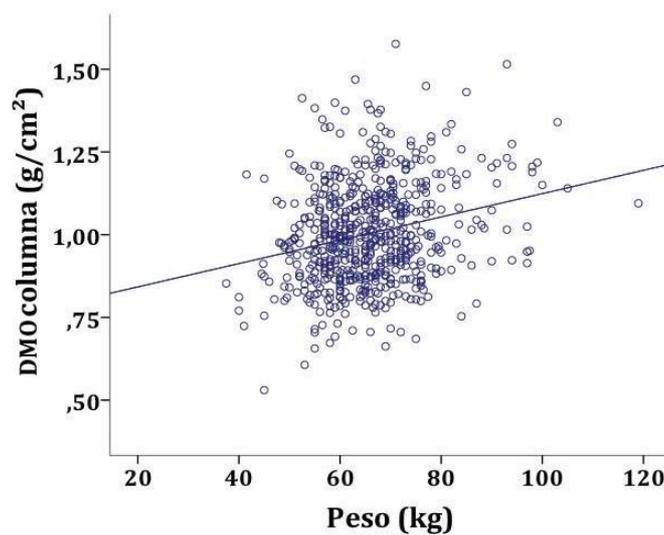


Figura 17. Correlación entre el peso y la DMO del grupo de estudio a nivel de la columna lumbar (L2-L4).

Finalmente, en el presente estudio no se encuentra relación entre TA sistólica y diastólica con la DMO a nivel de columna. Sin embargo, la DMO de cadera es mayor en las pacientes con TA diastólica más elevada ($r=0.089$, $p<0.05$) (Figura 18) y el incremento del Z-score en la misma localización se asocia a valores sistólicos mayores ($r=0.135$, $p<0.003$).

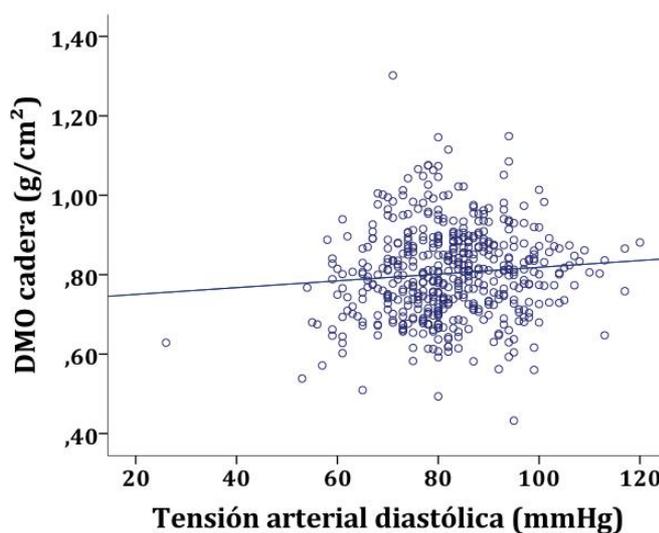


Figura 18. Correlación entre la TA diastólica y la DMO del grupo de estudio a nivel del fémur (no dominante).

5.2.2. Relación entre el perfil analítico y el lipidograma.

Tabla 10. Relación entre el perfil analítico y el lipidograma.

	Colesterol total	TG	HDL	LDL
E₂	-0.075	-0.075	-0.060	-0.036
FSH	0.111**	-0.110**	0.189**	-0.071
LH	0.107**	-0.043	0.072**	0.102**
Glucosa	-0.177**	0.139**	-0.170**	-0.152**
Vit D	0.238**	-0.070	0.236**	0.167**

** correlación estadísticamente significativa ($p < 0.005$)

Como se puede observar en la Tabla 10, no se encuentra relación ninguna entre E₂ y lípidos, pero sí, una relación positiva entre LH y colesterol, HDL y LDL y entre FSH y colesterol y HDL. La glucosa se relaciona de forma significativa, con todos los lípidos estudiados: positivamente con los TG y negativamente con los demás. Finalmente se hallan niveles más elevados de vitamina D hemáticos en las mujeres con valores aumentados de colesterol total, HDL y LDL.

5.2.3. Relación entre los marcadores del metabolismo óseo y la DMO.

La Tabla 11 muestra la correlación entre los niveles de determinados marcadores del metabolismo óseo y la DMO. Como se puede observar, los niveles del β -CTx y de la FA muestran una correlación negativa tanto con la DMO a nivel de cadera como con la DMO a nivel de columna.

Sin embargo, niveles más altos de calcio y fósforo en suero se asocian a valores mayores de la DMO tanto en cadera como en columna lumbar.

Tabla 11. Relación entre los marcadores del metabolismo óseo y la DMO.

	DMO cadera	DMO columna
β-CTx	-0.180**	-0.138**
Calcio	0.185**	0.100**
Fósforo	0.199**	0.081**
OPG	-0.025	0.003
FA	-0.100**	-0.106**

** correlación estadísticamente significativa ($p < 0.005$)

5.2.4. Relación entre el perfil lipídico y óseo.

5.2.4.1. Relación entre el perfil lipídico y la DMO.

Tal y como se describe en los objetivos, se ha realizado en la cohorte “CARMEN” un estudio detallado de la correlación existente entre los valores de los lípidos séricos con los valores de la DXA a nivel de columna y de cadera. Encontrando, en la cadera, una relación positiva entre colesterol total y los valores de la DMO ($r=0.185$, $p<0.00001$) (Figura 19).

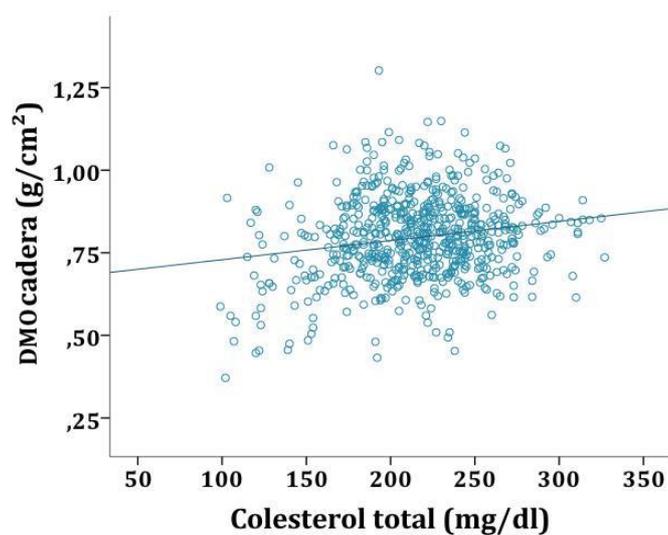


Figura 19. Correlación entre el colesterol total y la DMO del grupo de estudio a nivel del fémur (no dominante).

Por otra parte, los niveles séricos de HDL mantienen una relación positiva ($r=0.109$, $p<0.005$) con la DMO de cadera (Figura 20), mientras que no se observa correlación con los valores de T y Z-score.

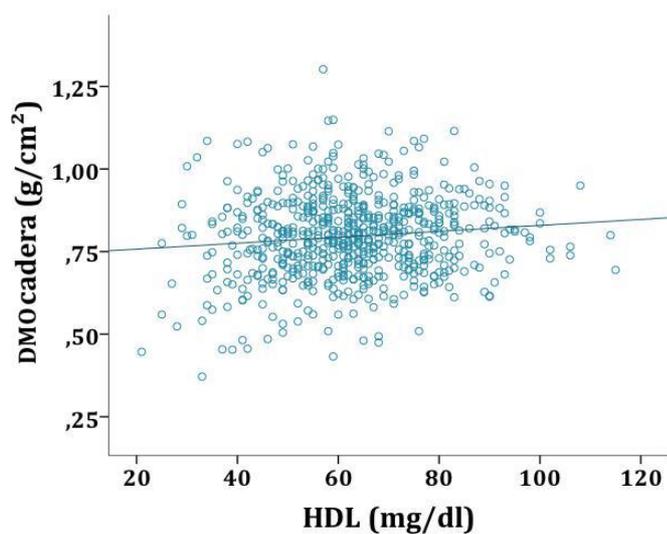


Figura 20. Correlación entre las HDL y la DMO del grupo de estudio a nivel del fémur (no dominante).

De igual forma, los niveles séricos de LDL en nuestras mujeres correlacionan positivamente tanto con la DMO como con la T- y Z-

score ($r=0.169$, $p<0.00001$; $r=0.195$, $p<0.00001$; $r=0.79$, $p<0.05$; respectivamente) (Figura 21 y Tabla 12).

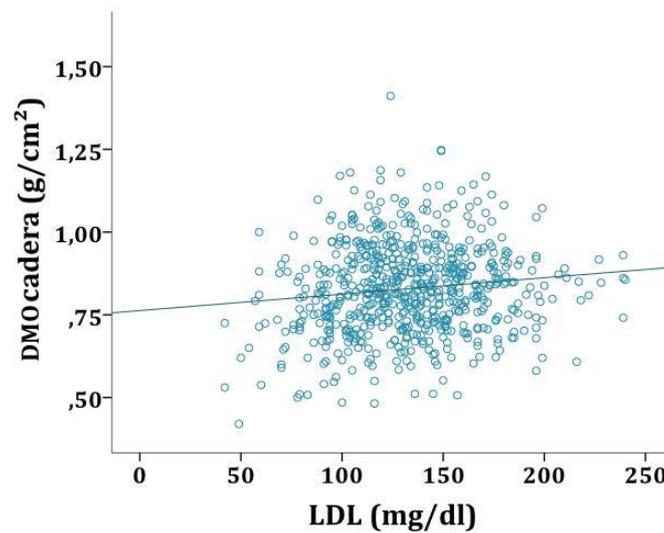


Figura 21. Correlación entre las LDL y la DMO del grupo de estudio a nivel del fémur (no dominante).

En nuestro trabajo no se observa relación TG/DMO ni se alcanza significación estadística en la correlación colesterol total/Z-score de cadera, aunque la tendencia sea similar a los otros valores. Finalmente, en la columna no existen correlaciones con los valores del lipidograma analizados (Tabla 12).

Tabla 12. Relación entre la DMO y el lipidograma.

	DMO cad	Tscore cad	Zscore cad	DMO col	Tscore col	Zscore col
ColT	0.185**	0.187**	0.065	0.036	0.038	-0.063
LDL	0.169**	0.195**	0.079**	0.012	0.049	-0.054
HDL	0.109**	0.062	0.010	0.075	-,010	-0.033
TG	-0.050	-0.046	-0.041	-0.030	-0.015	-0.009

cad: cadera; col: columna; colT: colesterol total

*** correlación estadísticamente significativa ($p < 0.005$)*

En el estudio más exhaustivo de la relación entre DMO y lípidos se ha clasificado la edad de los sujetos según cuartiles: Q1 ≤ 51 años, Q2 entre 52 y 55 años, Q3 entre 56 y 61 años y Q4 ≥ 62 años. Al analizar las diferencias en estos subgrupos, observamos que no se encuentra ninguna correlación entre mineralización ósea y lipidograma en las mujeres de menos de 62 años (Q1, Q2, Q3) (Tabla 13, Figura 22); en cambio, las correlaciones entre estos valores de las mujeres pertenecientes al cuartil 4 y la DMO, vuelven a la significatividad estadística encontrada en el análisis de la cohorte total e incluso los TG, anteriormente no correlacionados, alcanzan significación a nivel de cadera (Tabla 14, Figura 23).

Tabla 13. Relación entre la DMO y el lipidograma en las mujeres de edad inferior a 62 años.

	DMO cad	Tscore cad	Zscore cad	DMO col	Tscore col	Zscore col
CoIT	0.040	0.047	0.046	-0.006	-0.011	0.003
LDL	0.052	0.081	0.070	-0.027	0.006	-0.002
HDL	-0.028	-0.066	-0.039	0.015	-0.069	-0.017
TG	0.031	0.023	0.010	0.041	0.043	0.042

cad: cadera; col: columna; colT: colesterol total
*** correlación estadísticamente significativa ($p < 0.005$)*

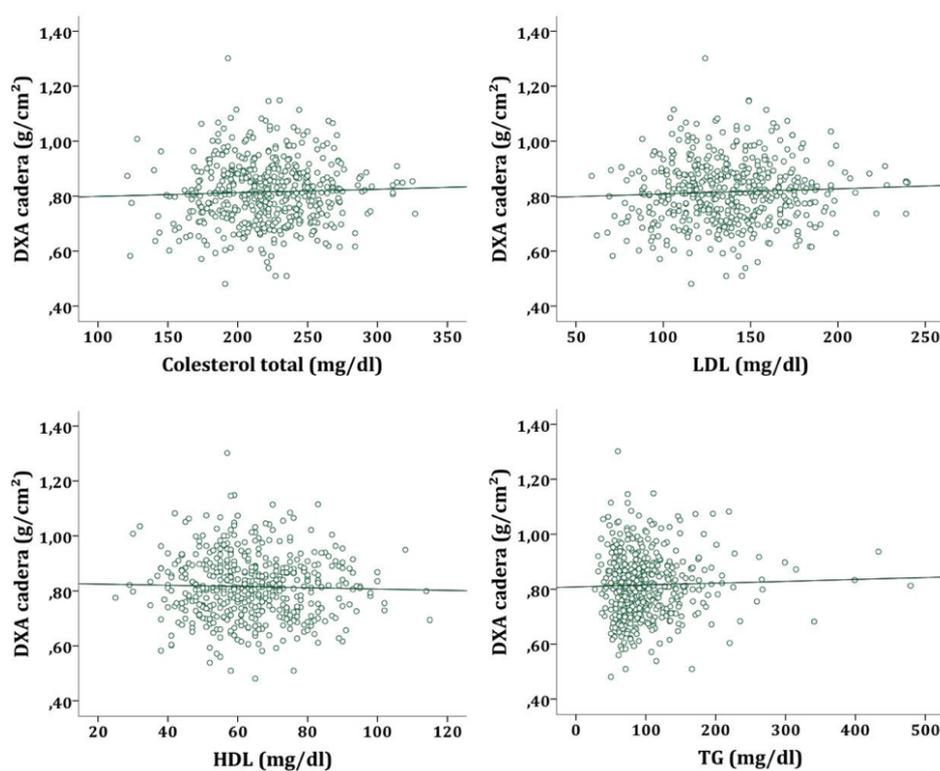


Figura 22. Correlación entre la DMO y el lipidograma en las mujeres de edad inferior a 62 años.

Tabla 14. Relación entre la DMO y el lipidograma en las mujeres de edad superior o igual a 62 años.

	DMO cad	Tscore cad	Zscore cad	DMO col	Tscore col	Zscore col
ColT	0.287**	0.246**	0.147	0.009	-0.007	-0.105
LDL	0.248**	0.235**	0.142	-0.009	0.012	-0.080
HDL	0.309**	0.219	0.165**	0.163	0.050	0.004
TG	-0.189**	-0.155**	-0.200**	-0.198	0.141	-0.186

cad: cadera; col: columna; colT: colesterol total

*** correlación estadísticamente significativa ($p < 0.005$)*

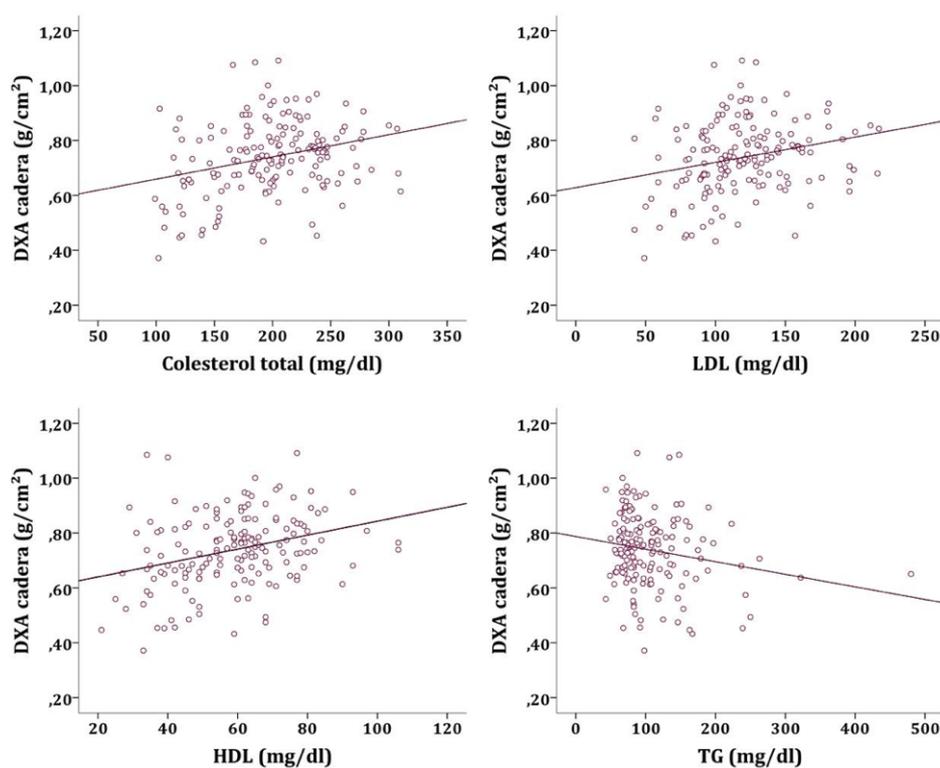


Figura 23. Correlación entre la DMO y el lipidograma en las mujeres de edad superior o igual a 62 años.

5.2.4.2. Relación entre el perfil lipídico y los marcadores del metabolismo óseo.

Observamos, en nuestra serie, que los niveles del β -CTx se relacionan negativamente con todos los lípidos estudiados, siendo dicha

correlación estadísticamente significativa para el colesterol total y las HDL. Sin embargo, el calcio y el fósforo muestran una concordancia positiva y significativa con el colesterol total, las HDL y las LDL y el aumento de la FA está vinculado con el incremento de las HDL. Finalmente, los niveles de OPG no correlacionan con ninguno de los lípidos (Tabla 15).

Tabla 15. Relación entre el perfil lipídico y los marcadores del metabolismo óseo.

	Colesterol total	LDL	HDL	TG
β-CTx	-0.116**	-0.068	-0.109**	-0.031
Calcio	0.414**	0.294**	0.317**	0.040
Fósforo	0.276**	0.225**	0.165**	-0.011
FA	0.073	0.041	-0.011	0.136**
OPG	0.028	0.005	0.071	-0.037

** correlación estadísticamente significativa ($p < 0.005$)

Al igual que en la relación con la DMO, hemos analizado los niveles de marcadores del metabolismo óseo dividiendo la cohorte en cuartiles por edad, observando un comportamiento diferente en los primeros tres cuartiles con respecto al último (Tabla 16 y Tabla 17).

Tabla 16. Relación entre el perfil lipídico y los marcadores del metabolismo óseo en las mujeres de edad inferior a 62 años.

	Colesterol total	LDL	HDL	TG
β-CTx	-0.031	0.004	0.005	-0.135**
Calcio	0.292**	0.187**	0.202**	0.102**
Fósforo	0.129**	0.110**	0.059	0.008
FA	0.060	0.038	-0.032	0.146**
OPG	0.023	0.006	0.058	-0.037

** correlación estadísticamente significativa ($p < 0.005$)

Tabla 17. Relación entre el perfil lipídico y los marcadores del metabolismo óseo en las mujeres de edad superior o igual a 62 años.

	Colesterol total	LDL	HDL	TG
β-CTx	-0.260**	-0.202**	-0.314**	0.167**
Calcio	0.520**	0.394**	0.475**	-0.021
Fósforo	0.407**	0.322**	0.304**	-0.007
FA	0.091	0.035	0.025	0.123
OPG	0.057	0.015	0.139	-0.029

** correlación estadísticamente significativa ($p < 0.005$)

5.3. Análisis multivariante.

En la última parte de la presente Tesis Doctoral se calcula, mediante el modelo multivariante logit, la probabilidad que tiene una paciente de sufrir osteoporosis/osteopenia a nivel del fémur del miembro inferior no dominante y de columna vertebral lumbar entre L2 y L4 en función del perfil lipídico y de las variables antropométricas que actúan como variables independientes.

5.3.1. Cadera

Los porcentajes de la variable objetivo osteoporosis/osteopenia a nivel de cadera se representan en la Figura 24.

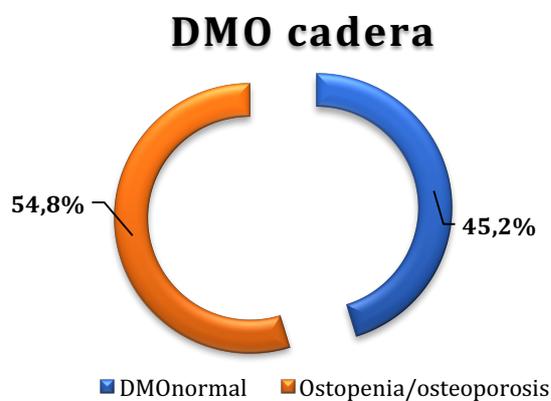


Figura 24. Porcentajes de la variable objetivo osteoporosis/osteopenia a nivel de cadera.

En la siguiente tabla se puede observar un resumen de los dos pasos (bloques) utilizados en el análisis multivariante (Tabla 18):

Tabla 18. Análisis multivariante de cadera.

Modelo	Variables significativas	-2Log de la verosimilitud	R₂ de Nagelkerke
1^{er} bloque: lípidos	Colesterol	731.541	10.0%
2^o bloque modelo final: lípidos y antropométricas	Colesterol, edad, años de menopausia, IMC	653.166	19.2%

Los resultados obtenidos demuestran que las variables lipídicas y antropométricas aportan capacidad explicativa, siendo el colesterol, la edad de la paciente, los años de menopausia y el IMC las variables relevantes en el modelo.

Para el modelo final, la prueba de Hosmer y Lemeshow tiene un valor de χ^2 de 13.475 y un p-valor de 0.097 evidenciando que el modelo ajusta adecuadamente los datos.

El modelo tiene un valor moderado de AUC de 0.726 con un porcentaje de aciertos global del 65.5%, siendo similares los % de clasificados correctamente entre los pacientes con osteoporosis/osteopenia (64.3%) que entre los sujetos sin enfermedad (69.0%).

El modelo final incluye cuatro predictores, la edad, los años de menopausia, el IMC y el colesterol (Tabla 19).

Tabla 19. Modelo final del análisis multivariante de cadera.

Predictores	b	E.T.	Wald	Sig.	Exp(b)	I.C.	I.C.
						95% Inferior	95% Superior
Colesterol	-0.005	0.003	3.058	0.080	0.995	0.990	1.001
Edad	0.044	0.020	5.138	0.023	1.045	1.006	1.086
Años menopausia	0.090	0.021	18.824	0.000	1.094	1.050	1.139
IMC	-0.082	0.024	11.521	0.001	0.922	0.879	0.966
Constante	0.189	1.246	.023	0.879	1.208		

E.T. error típico

La ecuación del modelo logístico que permite estimar la odds para los distintos valores de los factores independientes es la siguiente:

$$\text{Odds} = \frac{p}{1-p} = 1.045^{\text{edad}} \times 1.094^{\text{años menopausia}} \times 0.995^{\text{colesterol}} \times 0.992^{\text{IMC}}$$

Finalmente, la ecuación del modelo logístico nos informa que a nivel de cadera:

- El riesgo de sufrir osteoporosis u osteopenia aumenta un 4.5% por cada año de más que tiene la paciente.
- El riesgo de sufrir osteoporosis u osteopenia aumenta un 9.4% por cada año de más de menopausia.
- El riesgo de sufrir osteoporosis u osteopenia tiende a reducirse un 0.5% por cada mg que aumenta el colesterol.
- El riesgo de sufrir osteoporosis u osteopenia se reduce un 7.8% por cada unidad que aumenta el IMC.

En el siguiente gráfico se observan las probabilidades de sufrir osteoporosis u osteopenia según la combinación de múltiples factores: maximizan la probabilidad de sufrir osteoporosis u osteopenia la edad elevada y más años de menopausia; de la misma manera, las

combinaciones que minimizando dicho riesgo incluyen, por lo general, menor edad y menos años de menopausia (Figura 25).

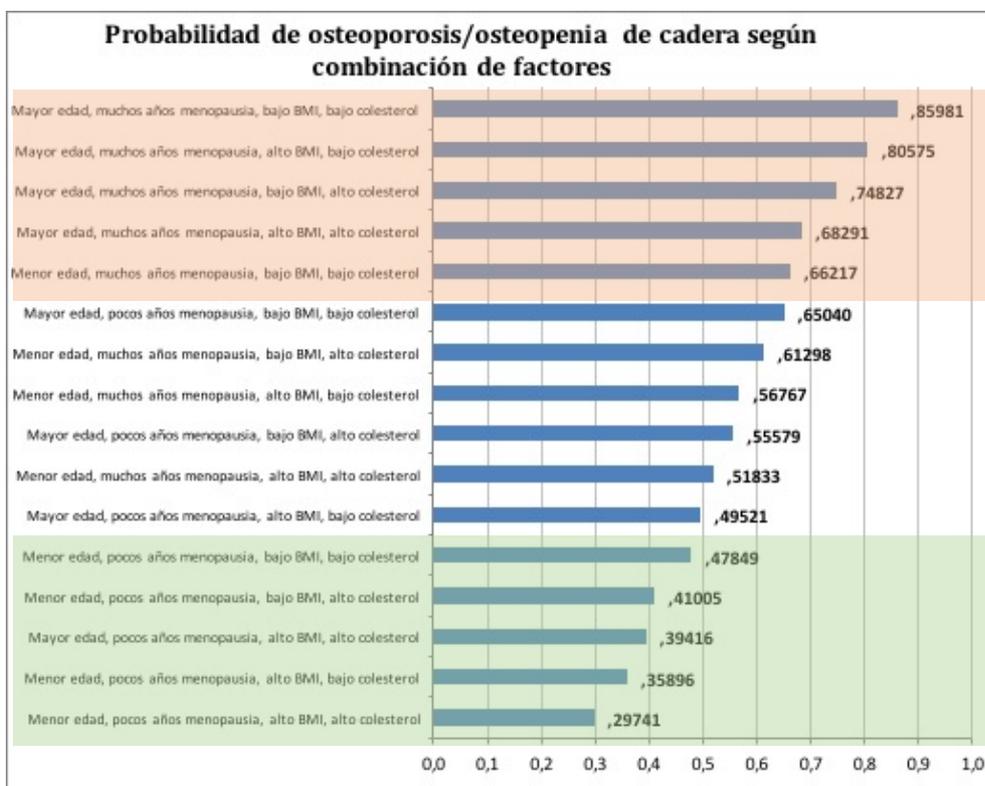


Figura 25. Probabilidad de osteoporosis/osteopenia a nivel de cadera según la combinación de los factores significativos en el análisis multivariante.

5.3.2. Columna

Los porcentajes de la variable osteoporosis/osteopenia de la columna lumbar se representan en la Figura 26.

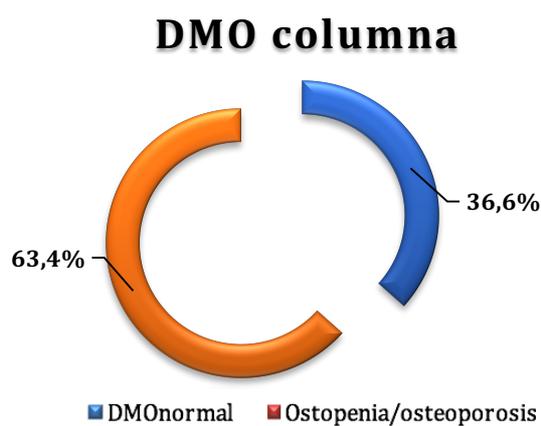


Figura 26. Porcentajes de la variable objetivo osteoporosis/osteopenia a nivel de columna.

En la siguiente tabla se puede observar un resumen de los dos pasos (bloques) utilizados en el análisis multivariante (Tabla 20):

Tabla 20. Análisis multivariante de columna.

Modelo	Variables significativas	-2Log de la verosimilitud	R ₂ de Nagelkerke
1^{er} bloque: lípidos	/	688.555	0.0%
2^o bloque modelo final: lípidos y antropométricas	Partos, años de menopausia, IMC	633.438	13.7%

Los resultados obtenidos a nivel de columna demuestran que las variables antropométricas aportan capacidad explicativa, siendo en este caso los partos, los años de menopausia y el IMC las variables relevantes en el modelo.

La prueba de Hosmer y Lemeshow para el modelo final tiene un valor de Chi² de 5.974 y un p-valor de 0.650 demostrando que, como en el análisis de la cadera, el modelo para la DMO de columna ajusta adecuadamente los datos. El modelo tiene un valor moderado de AUC de 0.693 con un porcentaje de aciertos global del 69.5%, siendo algo más elevado los % de clasificados correctamente entre los pacientes con osteoporosis u osteopenia (70.4%) que entre los sujetos sin patología (65.7%).

El modelo final para la DMO de columna incluye tres predictores, los años de menopausia, el IMC y el número de partos (Tabla 21).

Tabla 21. Modelo final del análisis multivariante de columna.

Predictores	b	E.T.	Wald	Sig.	Exp(b)	I.C.	I.C.
						95% inferior	95% superior
Años menopausia	0.101	0.018	32.044	0.000	1.107	1.068	1.146
Partos	0.148	0.090	2.700	0.100	1.160	0.972	1.383
IMC	-0.097	0.024	15.843	0.000	0.907	0.865	0.952
Constante	2.094	0.642	10.642	0.002	8.121		

E.T. error típico

La ecuación del modelo logístico que permite estimar la odds para los distintos valores de los factores independientes es la siguiente:

$$\text{Odds} = \frac{p}{1-p} = 8.121 \times 1.107^{\text{años menopausia}} \times 1.160^{\text{partos}} \times 0.907^{\text{IMC}}$$

La ecuación del modelo logístico nos informa que a nivel de columna:

- El riesgo de sufrir osteoporosis u osteopenia aumenta un 10.7% por cada año de más de menopausia.
- El riesgo de sufrir osteoporosis u osteopenia se reduce un 9.3% por cada unidad que aumenta el IMC.
- El riesgo de sufrir osteoporosis u osteopenia tiende a aumentar un 16% por cada parto de más que tiene la paciente.

En el siguiente gráfico se observan las probabilidades de sufrir osteoporosis u osteopenia según la combinación de factores: aquellas combinaciones que maximizan la probabilidad de sufrir osteoporosis u osteopenia incluyen años de menopausia altos; de la misma manera, las combinaciones que minimizan dicho riesgo incluyen años de menopausia bajos.

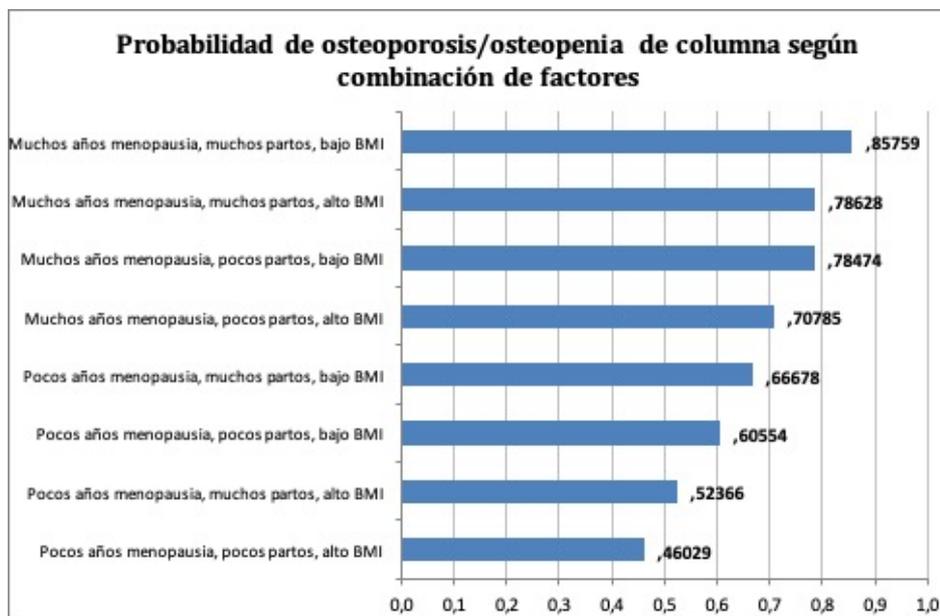


Figura 27. Probabilidad de osteoporosis/osteopenia a nivel de columna según la combinación de los factores significativos en el análisis multivariante.

Capítulo 6

DISCUSIÓN

La ECV y la osteoporosis son dos de las patologías más prevalentes en la población mundial. Estas afecciones son multifactoriales, relacionadas con la edad y suelen coexistir en la mayoría de las mujeres postmenopáusicas. En los últimos años, varios estudios han intentado relacionar ambas enfermedades especulando con la existencia de un factor etiopatogénico común, aunque con resultados no concluyentes o incluso contradictorios. Yamaguchi y col. analizaron 214 mujeres postmenopáusicas afirmando que un perfil lipídico desfavorable se relacionaría con un fenotipo osteoporótico (Yamaguchi et al. 2002). En cambio, Adami y col., estudiando una cohorte de hombres y mujeres y Brownbill & Ilich examinando sólo mujeres postmenopáusicas, encontraron que, a peor perfil lipídico (aumento del colesterol total y/o de las LDL y de los TG con disminución de las HDL), se asociaba una mejor DMO (Adami et al. 2004; Brownbill & Ilich 2006), hecho confirmado por Ersoy y col. en una cohorte de postmenopáusicas osteoporóticas (Ersoy et al. 2017). Finalmente, el grupo de Go en una investigación con 958 mujeres postmenopáusicas y el de Sabour en hombres, no encontraron relación alguna entre dislipemia y osteoporosis (Sabour et al. 2014; Go et al. 2012).

Nuestro estudio, desarrollado con mujeres postmenopáusicas de la Comunidad Valenciana, ha querido arrojar información sobre este nexo dado la importancia que podría tener en el control y en la prevención de ambas enfermedades.

6.1. Análisis de las características clínico-epidemiológicas de la muestra.

La edad media de las mujeres incluidas en nuestro estudio, así como los años transcurridos desde la última menstruación es de 57 y 10 años respectivamente, cifras similares a los sujetos estudiados por grupos como Go y col, y Makovey y col. (edad media de 58 años en ambos estudios) (Go et al. 2012; Makovey et al. 2009). Igualmente, la edad de la menopausia fue, en la mayoría de las investigaciones sobre este tema, muy parecida a la de nuestra (47 años) a pesar de la diferencias socioeconómicas entre las distintas poblaciones estudiadas (Yamaguchi et al. 2002). Sin embargo, hallamos que la media del peso corpóreo, y consecuentemente del IMC, era muy dispar en los estudios previos y, mayoritariamente, más elevado que en nuestra muestra. Esto se podría achacar a las diferencias en las costumbres alimentarias de las distintas regiones del mundo, siendo la dieta mediterránea ampliamente reconocida como cardiosaludable (Makovey et al. 2009; Vitale et al. 2018).

El resto de las variables clínicas (porcentaje de fumadoras y no fumadoras, número de gestaciones, tipo de menopausia, TA) y facto-

res de inclusión/exclusión, son concordantes con lo descrito y utilizados en la mayoría de la literatura previa (Tabla 5) (Makovey et al. 2009; Brownbill & Ilich 2006).

Las medias de los niveles del colesterol total, de las LDL y de los TG encontrados en la cohorte seleccionada "CARMEN" es ligeramente elevada con respecto a los límites de la normalidad, siendo de 215, 133, y de 101 mg/dl respectivamente (Tabla 6). Estos valores coinciden con los descritos por Go y col., Ghadiri-Anari y col. entre otros (Go et al. 2012; Ghadiri-Anari et al. 2016; Yamaguchi et al. 2002; Adami et al. 2004). Los estudios en los que los niveles séricos de estos lípidos resultaron ser más elevados, fueron aquellos en los que la edad media fue también mayor, pudiendo este hallazgo justificar esta observación (Brownbill & Ilich 2006; Majima et al. 2008).

El 75% de las mujeres pertenecientes a la cohorte "CARMEN" presentan hipercolesterolemia. Los estudios de prevalencia desarrollados en España proporcionan resultados heterogéneos: el estudio "DARIO" halló un 75% de hipercolesterolémicas (colesterol total >190 mg/dl) mientras que el INE relata que sólo un 20% de mujeres mayores de 45 años presentan este factor de riesgo cardiovascular. Hay que tomar esta diferencia con cautela dado la discrepancia en el punto de corte de la edad (45 años reportado por el INE y la media de 57 años en la cohorte "CARMEN"), siendo estos periodos de tiempo de profun-

dos cambios en la vida de la mujer, cursando generalmente en el primer caso la premenopausia y en el segundo la menopausia establecida (Grau et al. 2011; Instituto Nacional de Estadística 2017).

En lo que concierne a las HDL, se observa que la media de nuestra muestra, de 63 mg/dl, fue similar a lo reseñado por Jeong y col. (61 mg/dl), Adami y col. (59 mg/dl) y por la gran parte de las investigaciones llevadas a cabo hasta la fecha sobre este tema (Makovey et al. 2009; Yamaguchi et al. 2002; Filardi et al. 2018; Tanko et al. 2005; Abbasi et al. 2017).

El estudio densitométrico de las mujeres en nuestro estudio se ha realizado, como previamente explicado, a nivel del fémur del miembro inferior no dominante y de la columna lumbar, entre las vértebras L2 y L4 (Tabla 8 y Tabla 9). La mayoría de las investigaciones efectuadas sobre la relación entre lipidograma y osteoporosis utilizaron solamente la DMO en g/cm^2 para la medición de la calidad ósea sin tener en cuenta T y Z-score. En nuestro trabajo hemos querido ampliar el estudio a estos parámetros por considerarlos fundamentales para una correcta y global valoración del perfil óseo de la paciente y del riesgo de fractura a corto y largo plazo (Dimai 2017).

La media de la DMO a nivel de cadera es de 0.79 g/cm^2 , al igual que la media de los estudios de Brownbill y col., Go y col., Ghadiri-

Anari y col., Makovey y col y Dennison y col y muy parecido a los observados por Adami y col. y Samelson y col. y demás (0.75-0.79 g/cm²) (Brownbill & Ilich 2006; Go et al. 2012; Ghadiri-Anari et al. 2016; Makovey et al. 2009; Dennison et al. 2007; Samelson et al. 2008; Adami et al. 2004). El resultado de la media del T-score (-1.04 DS) y del Z-score (-0.07 DS) también se mantiene en línea con lo descrito en la literatura anteriormente mencionada.

La DMO de la columna lumbar refleja parcialmente el estado óseo comprobado a nivel de cadera. Efectivamente, con una DMO media de 1.00 g/cm² y un Z-score medio de -0.13 DS, las mujeres del estudio "CARMEN" globalmente no expresan osteoporosis a nivel vertebral, no obstante, teniendo en cuenta el T-score medio (-1.31 DS) sí que demuestran una leve osteopenia y así un aumento del doble del riesgo de fractura. Estos hallazgos reproducen las observaciones de Abbasi y col. (DMO 0.79 g/cm², T-score -1.11 DS), Cui y col. (DMO 1.18 g/cm²), Samelson y col. (DMO 1.07 g/cm²) entre otros (Abbasi et al. 2017; Cui et al. 2005; Samelson et al. 2004).

6.2. Análisis de la relación entre las variables clínico-analíticas, el lipidograma y la DMO.

El perfil hormonal propio de la menopausia, consistente en un aumento de los niveles de FSH y LH con un descenso del E₂ se acompaña de un perfil lipídico de riesgo para el desarrollo de ECV (Tabla 7).

Efectivamente, aunque sin alcanzar la significación estadística, observamos una tendencia inversa entre los niveles de lípidos examinados y del E₂ al igual que Gulhan y col. en un estudio con 47 mujeres con fallo ovárico precoz (Gulhan et al. 2012). Roelfsema y col., tratando pacientes con E₂, consiguieron mejorar el perfil lipídico de las mismas, confirmando los efectos de la depleción de esta hormona esteroidea (Roelfsema et al. 2018).

En nuestro trabajo la LH, de forma coherente con los análisis anteriores, se asocia con un aumento significativo del colesterol total y de las HDL y la FSH un aumento del colesterol total (Song et al. 2016). En contraposición a este y a otros estudios, en nuestra población se correlacionan positivamente los niveles de HDL con los de la LH y de la FSH y el aumento de esta última corresponde asimismo con una disminución de los TG. Investigaciones posteriores sugieren que

esta asociación está mediatizada principalmente por las modificaciones del peso corpóreo (Cho et al. 2011).

Destaca en nuestro estudio la relación inversa entre los niveles de glucosa y el colesterol total, las HDL y las LDL y la correlación positiva con los TG (Tabla 10).

No se observa que la vitamina D presente en este trabajo relación alguna con los TG pero sí se identifica una correlación positiva con el colesterol total, las LDL y las HDL, en oposición con otros estudios en los que se evidenció una mejora del perfil lipídico en las mujeres que recibían un suplemento de vitamina D (Schnatz et al. 2014).

Por otro lado, a nivel del hueso, la relación entre pérdida de masa ósea y edad ha sido ampliamente estudiada a lo largo de las últimas dos décadas. La disminución de la DMO con el avanzar de la edad y los años transcurridos desde la última menstruación que encontramos en nuestro estudio corrobora las investigaciones de varios autores entre los cuales se encuentran Seo y col., Sumino y col. y Riggs y col. (Seo 2009; Sumino 2007; Riggs et al. 2008).

El análisis mediante el test de ANOVA en la cohorte "CARMEN" demuestra que, en nuestra serie, existe una disminución significativa de la DMO a partir de los 62 años de edad (Figura 13), hallazgo extremadamente interesante a la hora del seguimiento de las mujeres postmenopáusicas de nuestra área.

El peso corpóreo mantiene una relación positiva con la DMO, así como el IMC, de forma muy similar en la columna y en la cadera (Figura 16 y Figura 17). Esta relación, justificada por la implicación mecánica del peso en las fuerzas aplicadas sobre el hueso con el remodelado resultante, ha sido fuente de gran controversia (Edelstein & Barrett-Connor 1993; Saarelainen et al. 2011). Sornay-Rendu y col., en un estudio en postmenopáusicas con obesidad, observaron un vínculo positivo entre IMC y DMO, sin embargo, hallaron que la mejor calidad ósea se asociaba a un contenido más alto de masa magra que de masa grasa aunque pertenecieran al mismo rango de IMC (Sornay-Rendu et al. 2013).

A diferencia de lo visto hasta ahora en la presente Discusión, el nexo entre TA y DMO ha sido causa de debate durante muchos años. Cappuccio y col. antes y Tsuda y col. y Gotoh y col. después, encontraron una relación inversa entre masa ósea y TA (Cappuccio et al. 1999; Gotoh et al. 2005; Tsuda et al. 2001). El grupo de Gotoh halló una pérdida de mineralización ósea en el grupo de mujeres hipertensas, sin observar diferencias en cuanto a marcadores plasmáticos del metabolismo del hueso. Cappuccio y col. estudiando exclusivamente una población postmenopáusica observaron también una pérdida de DMO femoral relacionada con el aumento de la TA. Sin embargo, Lidfeldt y col. y Hanley y col. no encontraron ninguna asociación entre DMO y niveles de presión arterial (Lidfeldt et al. 2002; Hanley et al. 2003).

En nuestra cohorte las variaciones de DMO a nivel de columna no se asocian con los cambios de TA, mientras que a nivel de cadera se observa una correlación positiva entre la TA diastólica y la DMO y entre la TA sistólica y el Z-score (Figura 18).

En relación con los marcadores del metabolismo óseo encontramos un nivel de β -CTx en los límites altos de la normalidad, condición característica de la menopausia. De la misma forma la FA se halla aumentada mientras que el calcio y el fósforo permanecen en rango fisiológico (Tabla 7).

En este trabajo, de forma coherente con otras investigaciones, los valores del β -CTx y de la DMO varían de forma opuesta: al aumentar el marcador de resorción ósea, disminuye la mineralización del hueso (Tabla 11) (Olmos et al. 2011; Navarro Casado et al. 2008).

Los niveles séricos de calcio y fósforo aumentan en nuestro estudio con el aumento de la DMO en cadera y en columna, en cambio, la FA, mantiene una tendencia inversa respecto a la DMO: en ambos niveles examinados, con un peor perfil densitométrico se asocia un aumento de la enzima, siendo testigo de la actividad osteoblástica y marcador de formación, incrementando sus niveles en la mujer postmenopáusica (García-Pérez et al. 2002).

Finalmente, no se encontró ninguna relación entre la OPG con la mineralización de la cadera y de la columna lumbar, discrepando

con los datos de los estudios de Mezquita-Raya y col. que describieron una cohorte de 206 postmenopáusicas en las cuales los niveles de OPG circulantes se relacionaban con la DMO y las fracturas óseas (Mezquita-Raya et al. 2005).

6.3. Análisis de la relación entre el perfil lipídico y óseo.

Como se ha mencionado en secciones previas, la relación entre lípidos y masa ósea ha sido investigada por varios autores (Maghbooli et al. 2018; Yamaguchi et al. 2002; Ghadiri-Anari et al. 2016; Go et al. 2012). Muchos estudios realizados hasta la fecha han analizado esta asociación utilizando un pequeño tamaño muestral, analíticas sin periodo de ayunas previo e incluso sin discriminar según el estado pre o post menopáusico de las mujeres incluidas (Reed et al. 2010; Buizert et al. 2009; Martín-González et al. 2017; Samelson et al. 2004; Brownbill & Ilich 2006). Además, en otros estudios se incluyeron pacientes con enfermedades o tratamientos que influían en el perfil lipídico o en la mineralización ósea (Abbasi et al. 2017; Filardi et al. 2018). La disparidad entre el diseño y la metodología de los diferentes estudios podría haber llevado a estos resultados tan contradictorios.

Por esta razón, hemos querido llevar a cabo un estudio con una población seleccionada de mujeres postmenopáusicas sin patologías

o tratamientos que pudieran alterar la relación entre estado óseo y lipídico. Igualmente, hemos llevado a efecto un análisis exhaustivo, incluyendo a una serie de variables clínicas, analíticas y hormonales, que nos posicionan en una situación óptima para llevar a cabo una valoración de calidad muy superior a los análisis disponibles hasta el momento presente encontrando finalmente una correlación significativa entre colesterol total, LDL, HDL y la DMO en el análisis univariante.

En los estudios realizados hasta hoy, la relación encontrada entre las distintas clases de lípidos y la DMO medida en diferentes regiones del cuerpo, ha sido muy dispar (Tabla 22):

Orozco, en una cohorte de 52 mujeres con sobrepeso que estaban cursando los primeros años de postmenopausia, encontró una relación inversa entre LDL y colesterol total con la DMO (Orozco 2004).

Cui y col. relacionaron de igual manera las LDL con la DMO de cadera, aunque no de columna. Por lo que concierne a los TG y a la DMO, la relación encontrada fue positiva, no obstante solo a nivel de trocánter (Cui et al. 2005).

En la columna y en el cuerpo entero, Adami y col. hallaron que un perfil lipídico aterogénico (aumento de LDL y TG y descenso de HDL), se asociaba con un aumento de la mineralización ósea, contradiciendo la mayoría de los estudios anteriores (Adami et al. 2004).

En nuestra cohorte global, todos los lípidos examinados mantienen una correlación positiva con la DMO a nivel de cadera, excepto los TG (Tabla 12).

En las mujeres “CARMEN” observamos que, el aumento de los valores de colesterol total plasmático se corresponde con un incremento de la DMO, confirmando así los resultados de Brownbill y col. y Ersoy y col. (Brownbill & Ilich 2006; Ersoy et al. 2017).

Las LDL manifiestan asimismo un incremento de sus niveles con el aumento de la DMO, hallazgo relatado también por el último trabajo citado. Sin embargo, nuestro estudio discrepa de las observaciones de Solomon y col. que no identificaron ningún vínculo entre las LDL y la DMO (Solomon et al. 2005) y de las de Ghadiri y col., Makovey y col. y Abbasi y col que observaron, entre estos parámetros, una relación inversa (Ghadiri-Anari et al. 2016; Makovey et al. 2009; Abbasi et al. 2017).

Por lo que respecta a las HDL, también hallamos una relación positiva con el perfil óseo, hallazgo que diferencia nuestro estudio de lo Ersoy y col (Ersoy et al. 2017).

Cabe reseñar que en nuestra muestra no se evidenciaron correlaciones significativas entre lípidos y DMO de columna lumbar (L2-L4), confirmando los resultados de Cui y col (Cui et al. 2005). La falta

de asociación con la DMO de columna podría deberse a la fisiopatología de la pérdida de DMO en las vértebras lumbares. La osteoporosis en esta localización se debe principalmente al déficit estrogénico, a diferencia de la de cadera que es menos sensible a las oscilaciones de esta hormona y que está más influenciada por otros factores como por ejemplo la edad (Okano et al. 1998). Otra posible explicación de la disparidad en cuanto a la significatividad estadística entre la relación lípidos/DMO en cadera y columna podría radicar en las dificultades técnicas de medición de la DMO en las distintas partes del cuerpo. Efectivamente, existe una mayor complejidad para obtener una valoración exacta de la DXA a nivel lumbar, donde, la presencia de escoliosis, osteofitos o de calcificaciones aórticas, pueden influir en el resultado de la prueba. Por otra parte, según las principales sociedades científicas como la Fundación Internacional de la Osteoporosis (IOF), la Fundación Nacional de Osteoporosis (NOF) y la *International Society for Clinical Densitometry* (ISCD) para el diagnóstico de osteoporosis se considera a la medición de la DMO por DXA de cadera como el *gold standard*, debido a su mayor capacidad predictora de fracturas con respecto a la DXA de columna y antebrazo (Kanis & Glüer 2000).

Un hallazgo relevante encontrado en nuestro estudio es la diferencia entre los distintos valores de lípidos y la DMO de cadera según la edad (Tabla 13 y Tabla 14). Al dividir la muestra en cuartiles, hemos encontrado que solo el cuartil superior (≥ 62 años) mantiene

una correlación estadísticamente significativa entre los distintos parámetros analizados, mientras que, los primeros tres cuartiles (<62 años), no se presenta dicha relación. La asociación positiva entre colesterol total, LDL y HDL con la DMO hallada en la cohorte total se reafuerza en las mujeres de 62 años o más, alcanzando en este grupo también los TG la significación estadística con una correlación negativa. Quizás la edad de la muestra a estudio podría ser fundamental a la hora de analizar la relación entre lípidos y DMO, el no haber estratificado por edad puede ser la razón por la que numerosos estudios en la literatura no han encontrado una relación significativa entre ambas.

La Tabla 22 resume la relación hallada por los principales estudios y la presente tesis doctoral entre el perfil lipídico y la DMO.

Tabla 22: Relación entre el perfil lipídico y la DMO: principales estudios y resultados del análisis univariante de la presente tesis doctoral.

	CoIT-DMO	LDL-DMO	HDL-DMO	TG-DMO
Presente Investigación	↑	↑	↑	↓*
(Yamaguchi et al. 2002)	↔	↓	↑	↔
(Tanko et al. 2003)	↓	NV	NV	NV

	CoIT-DMO	LDL-DMO	HDL-DMO	TG-DMO
(Bloch-Thomsen et al. 2003)	↓	↓	↔	↔
(Adami et al. 2004)	↔	↑	↓	↑
(Orozco 2004)	↓	↓	NV	NV
(Samelson et al. 2004)	↔	NV	NV	NV
(Solomon et al. 2005)	↔	↔	↔	NV
(Cui et al. 2005)	↓	↓	↔	↔
(Brownbill & Ilich 2006)	↑	NV	NV	↑
(Makovey et al. 2009)	↓	↓	↓	↔
(Go et al. 2012)	↔	↔	↔	↔
(Jeong et al. 2014)	↓	NV	↔	↔
(Li et al. 2015)	↔	↔	↓	↔
(Ghadiri-Anari et al. 2016)	↔	↔	↔	↔
(Abbasi et al. 2017)	↔	↔	↑	↔
(Ersoy et al. 2017)	↑	↑	↓	↔
(Maghbooli et al. 2018)	NV	NV	↓	NV

*NV: no valorado; Flecha hacia arriba: correlación positiva; Flecha hacia abajo: correlación negativa; Flecha horizontal: no correlación * solo en ≥ 62 años.*

En nuestra cohorte de mujeres, hemos ampliado el estudio sobre la relación entre perfil lipídico y óseo examinando la relación entre el lipidograma y los marcadores del metabolismo del hueso encontrando, en primer lugar, un aumento del colesterol total y de las HDL asociado a una disminución del β -CTX (Tabla 15); este hallazgo fue observado también en la cohorte “CAMARGO” y en el estudio de Brownbill y col. aunque sin alcanzar la significación estadística encontrada en nuestro estudio (Hernández et al. 2010; Brownbill & Ilich 2006). Este parámetro tiene un gran valor, pues añade consistencia a nuestro otro hallazgo de relación positiva con la DMO, ya que se trata de coincidencia en dos acercamientos diferentes. En otras palabras, la reducción de β -CTX es acorde a una mayor DMO.

La FA demuestra una correlación significativa solamente con los TG, un aumento de la enzima se corresponde con un incremento del lípido, replicando solo parcialmente los estudios desarrollados sobre esta relación en mujeres durante y después del embarazo y en mujeres de mediana edad (Kim et al. 2013; Choi & Pai 2000). La edad y las particulares condiciones de estas mujeres pueden haber influenciado en la diferencia encontrada con los estudios mencionados. Nuestro estudio discrepa de las observaciones de Bloch-Thomsen y col. que en 133 mujeres menopáusicas tratadas con THS, encontraron

una relación significativa entre la FA y el colesterol total y las LDL pero ninguna correlación con HDL y TG (Bloch-Thomsen et al. 2003).

Un estudio de Terekeci y col. identificó una correlación entre el incremento de los niveles de OPG y el de lípidos (colesterol total y HDL) (Terekeci et al. 2008). En nuestro estudio hallamos también una tendencia paralela entre la OPG y el colesterol total, las LDL y las HDL, aunque sin llegar a ser significativa.

Finalmente, los niveles del colesterol total, de las LDL y de las HDL aumentan, en nuestro estudio, con el incremento del calcio sérico. La misma relación fue encontrada por el grupo italiano de Gallo que, en un estudio en 8610 pacientes, observó un vínculo entre una mayor cantidad de calcio y un peor marco lipídico (Gallo et al. 2016). Otros estudios muestran aumento de riesgo cardiovascular con la suplementación de calcio, razón por la que hay que mantener una gran precaución con la aportación exógena de este mineral en la mujer postmenopáusica por el riesgo cardiovascular que podría suponer (Michaëlsson et al. 2013; Gallo et al. 2016).

Al dividir la muestra en cuartiles según la edad y analizar los valores de los diferentes parámetros analíticos (lipidograma y marcadores del metabolismo óseo), no hemos observado ningún patrón de afectación justificado por la edad.

6.4. Análisis multivariante.

El análisis multivariante efectuado en nuestra población revela que la presencia de osteoporosis u osteopenia a nivel de cadera está influenciada por factores antropométricos y lipídicos (Tabla 19). La presencia de osteoporosis/osteopenia se ve afectada por la edad de la paciente, por los años transcurridos desde el inicio de la menopausia, por el IMC y por el colesterol. La pérdida de DMO con el paso de los años puede estar vinculada, como descrito anteriormente, con el envejecimiento celular (apartado 1.4.2) y con la pérdida de estrógenos (apartado 1.4.1) entre otros factores. La relación encontrada entre el incremento del IMC y disminución del riesgo de osteoporosis/osteopenia podría estar directamente asociada con el efecto mecánico que el peso corpóreo ejerce sobre el hueso e indirectamente con la producción de estrógenos y leptina por parte del tejido adiposo (apartado 1.5.1). Las LDL, las HDL y los TG salen de la ecuación por no mantener significatividad estadística tras el ajuste por estos factores. Los mismos resultados fueron observados por Brownbill y col. y Adami y col. que observaron una relación positiva entre DMO y colesterol total tras el ajuste por IMC y edad (Brownbill & Ilich 2006; Adami et al. 2004). El grupo de Martín-González halló de la misma forma, una relación entre IMC, colesterol y T-score de cadera (Martín-González et al. 2017).

En cuanto a la osteoporosis/osteopenia en la columna, nuestra serie revela un aumento de la patología con el incremento de los años de menopausia y el número de partos, como evidenciado por Demir y col. en 2769 sujetos en los que los investigadores encontraron que la paridad representaba un factor de riesgo para la osteoporosis y la osteopenia así como la duración de la menopausia (Tabla 21) (Demir et al. 2008). Sin embargo, el estudio de Grainge y col. que examinó 580 mujeres en la postmenopausia precoz en cuanto a factores de riesgo para baja DMO, encontró que con el aumentar del número de parto aumentaba la calidad ósea, discrepando con nuestros resultados (Grainge et al. 2001). De la misma manera que por el fémur, en la columna lumbar se patentiza una disminución del riesgo de osteoporosis/osteopenia con el aumento del IMC.

La relación encontrada en nuestra serie entre el número de partos y riesgo de osteoporosis/osteopenia, podría estar vinculada con la pérdida de calcio que se produce en cada gestación debido al aumento de *turnover* óseo secundario al incremento de la demanda fetal a partir de las 20 semanas de embarazo (Pitkin 1985). Sin embargo, la relación que hemos encontrado entre el número de partos y la osteoporosis/osteopenia únicamente a nivel vertebral, podría explicarse por las alteraciones en los niveles de estrógenos que se producen durante el embarazo, que podrían afectar de una manera preferencial a la columna ya que ésta está formada por hueso trabecular

en una proporción mayor que la cadera, siendo este tipo de tejido óseo más susceptible a los efectos de los estrógenos (Manolagas et al. 2013; Gur et al. 2003).

Capítulo 7

LIMITACIONES Y PERSPECTIVAS FUTURAS

La principal fuerza de este trabajo de Tesis Doctoral se basa en el tamaño muestral de la cohorte incluida en el estudio y en sus características. Las mujeres de la cohorte "CARMEN" pertenecen a la Comunidad Valenciana en particular a dos grandes hospitales de Valencia, hospitales que, por la distribución de los pacientes atendidos, reflejan las características globales de la población de la ciudad. Además, siendo mujeres postmenopáusicas seleccionadas, sin enfermedades o tratamientos que puedan influenciar la relación lípidos-hueso, pueden mostrar el verdadero nexo entre las dos entidades estudiadas.

Un punto a destacar de la presente Tesis Doctoral es el novedoso abordaje del estudio del metabolismo óseo mediante una evaluación exhaustiva que incluye DMO, marcadores bioquímicos de recambio óseo y variables relevantes como los niveles de vitamina D, perfil hormonal, o proteínas tipo osteoprotegerina, hasta ahora no analizadas en este escenario clínico.

Por otro lado, consideramos que las limitaciones de este trabajo de Tesis Doctoral podrían ser: 1) el hecho de que las analíticas se hayan realizado en centros distintos, a pesar de utilizar las mismas técnicas, podría influir en los resultados, 2) La ausencia de información sobre los hábitos alimentarios y el sedentarismo/ejercicio físico.

Por todos estos motivos, hay que tomar con precaución las conclusiones de este estudio, aunque, por nuestra parte, no consideramos

concluido este trabajo, con la esperanza de que, aumentando el tamaño muestral de la cohorte, podamos confirmar los resultados obtenidos o, de otra forma, generar nuevas hipótesis para futuras investigaciones.

Capítulo 8

CONCLUSIONES

1. La DMO de las mujeres de nuestra población indica que el 47,5% presenta osteopenia y el 7,2% osteoporosis, valores que reproducen las prevalencias estudiadas en la población femenina española.
2. La pérdida de DMO se agudiza a partir de los 62 años de edad.
3. La DMO se correlaciona positivamente con una serie de variables en nuestro análisis, concretamente con el peso, el IMC, la TA diastólica, el calcio, el fósforo, el colesterol, las LDL, las HDL y los TG e, inversamente, con la edad, los años de menopausia, la β -CTx y la FA, siendo las correlaciones con el perfil lipídico significativas en las mujeres mayores de 62 años.
4. El riesgo de sufrir osteoporosis/osteopenia en la cadera aumenta con la edad y con los años de menopausia y se reduce con el incremento del IMC.
5. Se detectó un impacto del colesterol total que afectó positivamente y de forma independiente a la DMO de cadera.
6. El riesgo de sufrir osteoporosis/osteopenia en la columna lumbar aumenta con la edad y con el número de partos y se reduce con el incremento del IMC.

Capítulo 9

BIBLIOGRAFÍA

- Abbasi, M. et al., 2017. Relationship between metabolic syndrome and its components with bone densitometry in postmenopausal women. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 11(1), pp.73–76.
- Abrahamsen, B. et al., 2005. Circulating amounts of osteoprotegerin and RANK ligand: genetic influence and relationship with BMD assessed in female twins. *Bone*, 36(4), pp.727–735.
- Adami, S. et al., 2000. Chronic Intravenous Aminobisphosphonate Therapy Increases High-Density Lipoprotein Cholesterol and Decreases Low-Density Lipoprotein Cholesterol. *Journal of Bone and Mineral Research*, 15(3), pp.599–604.
- Adami, S. et al., 2004. Relationship Between Lipids and Bone Mass in 2 Cohorts of Healthy Women and Men. *Calcified Tissue International*, 74(2), pp.136–142.
- Albright, F., Smith, P. & Richardson, A., 1941. Postmenopausal osteoporosis: Its clinical features. *Journal of the American Medical Association*, 116(22), pp.2465–2474.
- Almeida, M. et al., 2016. Estrogens and Androgens in Skeletal Physiology and Pathophysiology. *Physiological Reviews*, 97(1), pp.135–187.
- Alsancak, Y. et al., 2015. Relationship between serum vitamin D levels and angiographic severity and extent of coronary artery disease. *European Journal of Clinical Investigation*, 45(9), pp.940–948.
- Alund, A.W. et al., 2017. Partial Protection by Dietary Antioxidants Against Ethanol-Induced Osteopenia and Changes in Bone Morphology in Female Mice. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 41(1), pp.46–56.
- An, T. et al., 2017. Efficacy of statins for osteoporosis: a systematic review and meta-analysis. *Osteoporosis International*, 28(1), pp.47–57.

- Ansell, B.J. et al., 2003. hsCRP and HDL Effects of Statins Trial (CHEST): Rapid Effect of Statin Therapy on C-Reactive Protein and High-Density Lipoprotein Levels. *Heart Disease*, 5(1), pp.2-7.
- Armour, K.E. et al., 2001. Defective Bone Formation and Anabolic Response to Exogenous Estrogen in Mice with Targeted Disruption of Endothelial Nitric Oxide Synthase. *Endocrinology*, 142(2), pp.760-766.
- Asano, L. et al., 2017. Vitamin D Metabolite, 25-Hydroxyvitamin D, Regulates Lipid Metabolism by Inducing Degradation of SREBP/SCAP. *Cell Chemical Biology*, 24(2), pp.207-217.
- Asociación Española para el estudio de la Menopausia, 2012. *Menografía: Perimenopausia.*
- Backo, H. & Love, J., 2013. Alcohol-Induced Osteopenia Among In-Custody and Homicide Deaths from the Harris County Institute of Forensic Sciences. *Journal of Forensic Sciences*, 58(4), pp.1055-1060.
- Bagger, Y.Z. et al., 2007. Links between cardiovascular disease and osteoporosis in postmenopausal women: serum lipids or atherosclerosis per se? *Osteoporosis International*, 18(4), pp.505-512.
- Baim, S. & Miller, P.D., 2009. Assessing the Clinical Utility of Serum CTX in Postmenopausal Osteoporosis and Its Use in Predicting Risk of Osteonecrosis of the Jaw. *Journal of Bone and Mineral Research*, 24(4), pp.561-574.
- Benjamin, E. et al., 2017. Resumen de estadísticas de 2017 Enfermedad del corazón y ataque cerebral. *Circulation*, pp.2-7.
- Bernick, S. & Davis, C., 2014. Coste económico de las enfermedades cardiovasculares desde 2014 a 2020 en seis países europeos. *Trabajo de Investigación*, pp.4-14.
- Bessueille, L. & Magne, D., 2015. Inflammation: a culprit for vascular

- calcification in atherosclerosis and diabetes. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 72, pp.2475–2489.
- Bickel, C. et al., 2002. Relation of markers of inflammation (C-reactive protein, fibrinogen, von Willebrand factor, and leukocyte count) and statin therapy to long-term mortality in patients with angiographically proven coronary artery disease. *The American journal of cardiology*, 89(8), pp.901–908.
- Bloch-Thomsen, A. et al., 2003. Associated response in bone mineral density and atherogenic lipid profile during treatment with two different selective estrogen receptor modulators: levormeloxifene and raloxifene. *Climacteric: the journal of the International Menopause Society*, 6(2), pp.159–167.
- Blum, M. et al., 2002. Household Tobacco Smoke Exposure is Negatively Associated with Premenopausal Bone Mass. *Osteoporosis International*, 13(8), pp.663–668.
- Borrell-Pages, M., Romero, J.C. & Badimon, L., 2017. Cholesterol modulates LRP5 expression in the vessel wall. *Atherosclerosis*, 235(2), pp.363–370.
- Boström, K. et al., 2001. Matrix GLA protein modulates differentiation induced by bone morphogenetic protein-2 in C3H10T1/2 cells. *The Journal of biological chemistry*, 276(17), pp.14044–14052.
- Braam, L.A.J.L.M. et al., 2003. Vitamin K1 Supplementation Retards Bone Loss in Postmenopausal Women Between 50 and 60 Years of Age. *Calcified Tissue International*, 73(1), pp.21–26.
- Briongos-Figuero, L.S. et al., 2016. Relationship among angiotensin-converting enzyme polymorphism, cardiovascular risk, and osteoporotic fractures. *European Journal of Rheumatology*, 3(1), pp.10–12.
- Den Broeder, M.J. et al., 2015. Zebrafish as a Model to Study the Role of Peroxisome Proliferating-Activated Receptors in Adipogenesis and Obesity. *PPAR Research*, 2015(1), pp.1–11.

- Broulik, P.D. & Jarab, J., 1993. The Effect of Chronic Nicotine Administration on Bone Mineral Content in Mice. *Hormone and Metabolic Research*, 25(4), pp.219–221.
- Brownbill, R.A. & Ilich, J.Z., 2006. Lipid Profile and Bone Paradox: Higher Serum Lipids Are Associated with Higher Bone Mineral Density in Postmenopausal Women. *Journal of Women's Health*, 15(3), pp.261–270.
- Browner, W.S., Lui, L.-Y. & Cummings, S.R., 2001. Associations of Serum Osteoprotegerin Levels with Diabetes, Stroke, Bone Density, Fractures, and Mortality in Elderly Women¹. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 86(2), pp.631–637.
- Buizert, P.J. et al., 2009. Lipid Levels: A Link Between Cardiovascular Disease and Osteoporosis? *Journal of Bone and Mineral Research*, 24(6), pp.1103–1109.
- Burke, G.M. et al., 2017. Temporal Associations Between Smoking and Cardiovascular Disease, 1971 to 2006 (from the Framingham Heart Study). *The American Journal of Cardiology*, 120(10), pp.1787–1791.
- Camargo, A.B. & Manucha, W., 2016. Potencial rol protector del óxido nítrico y Hsp70 asociado a alimentos funcionales en la aterosclerosis. *Clínica a Investigación en Arteriosclerosis*, (xx), pp.3701–3710.
- Cappuccio, F.P. et al., 1999. High blood pressure and bone-mineral loss in elderly white women: a prospective study. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Lancet (London, England)*, 354(9183), pp.971–975.
- Carnevale, R. & Nocella, C., 2012. Alcohol and cardiovascular disease: Still unresolved underlying mechanisms. *Vascular Pharmacology*, 57(2–4), pp.69–71.
- Cavalli, L. et al., 2016. Prevalence of osteoporosis in the Italian population and main risk factors: results of BoneTour Campaign.

- BMC Musculoskeletal Disorders*, 17, p.396.
- Cervellati, C. et al., 2014. Oxidative Stress and Bone Resorption Interplay as a Possible Trigger for Postmenopausal Osteoporosis. *BioMed Research International*, 2014, pp.1-8.
- Challoumas, D., 2014. Vitamin D supplementation and lipid profile: What does the best available evidence show? *Atherosclerosis*, 235(1), pp.130-139.
- Cheezum, M.K. et al., 2017. Association of tobacco use and cessation with coronary atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 257, pp.201-207.
- Chen, Z. et al., 2014. Effects of atorvastatin on bone mineral density (BMD) and bone metabolism in elderly males with osteopenia and mild dyslipidemia: A 1-year randomized trial. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 59(3), pp.515-521.
- Cheng, S.-L. et al., 2003. MSX2 promotes osteogenesis and suppresses adipogenic differentiation of multipotent mesenchymal progenitors. *The Journal of biological chemistry*, 278(46), pp.45969-45977.
- Cho, E.J. et al., 2011. Effects of the transition from premenopause to postmenopause on lipids and lipoproteins: quantification and related parameters. *The Korean journal of internal medicine*, 26(1), pp.47-53.
- Choi, J.W. & Pai, S.H., 2000. Serum lipid concentrations change with serum alkaline phosphatase activity during pregnancy. *Annals of clinical and laboratory science*, 30(4), pp.422-8.
- Christenson, R.H., 1997. Biochemical markers of bone metabolism: an overview. *Clinical biochemistry*, 30(8), pp.573-593.
- Chuengsamarn, S. et al., 2010. Effects of statins vs. non-statin lipid-lowering therapy on bone formation and bone mineral density biomarkers in patients with hyperlipidemia. *Bone*, 46(4), pp.1011-1015.

- Cohen-Solal, M.E. et al., 1993. Peripheral monocyte culture supernatants of menopausal women can induce bone resorption: involvement of cytokines. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 77(6), pp.1648–1653.
- Cöster, M.E. et al., 2017. How does a physical activity programme in elementary school affect fracture risk? A prospective controlled intervention study in Malmo, Sweden. *BMJ Open*, 7(2), pp.1–5.
- Cui, L.-H. et al., 2005. Association between bone mineral densities and serum lipid profiles of pre- and post-menopausal rural women in South Korea. *Osteoporosis International*, 16(12), pp.1975–1981.
- Cummings, S.R. & Bauer, D.C., 2000. Do Statins Prevent Both Cardiovascular Disease and Fracture? *Journal of the American Medical Association*, 283(24), p.3255.
- Davenport, C. et al., 2016. RANKL promotes osteoblastic activity in vascular smooth muscle cells by upregulating endothelial BMP-2 release. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 77(Pt A), pp.171–180.
- Degerud, E. et al., 2015. Vitamin D status was not associated with 'one-year' progression of coronary artery disease, assessed by coronary angiography in statin-treated patients. *European Journal of Preventive Cardiology*, 22(5), pp.594–602.
- Demer, L.L. & Tintut, Y., 2009. Mechanisms linking osteoporosis with cardiovascular calcification. *Current Osteoporosis Reports*, 7(2), pp.42–46.
- Demir, B. et al., 2008. Identification of the risk factors for osteoporosis among postmenopausal women. *Maturitas*, 60(3–4), pp.253–256.
- Dennison, E.M. et al., 2007. Lipid profile, obesity and bone mineral density: the Hertfordshire Cohort Study. *QJM : monthly journal of the Association of Physicians*, 100(5), pp.297–303.

- Desvergne, B., Michalik, L. & Wahli, W., 2004. Be Fit or Be Sick: Peroxisome Proliferator-Activated Receptors Are Down the Road. *Molecular Endocrinology*, 18(6), pp.1321–1332.
- Dimai, H.P., 2017. Use of dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) for diagnosis and fracture risk assessment; WHO-criteria, T- and Z-score, and reference databases. *Bone*, 104, pp.39–43.
- Donzelli, A., Battaggia, A. & Schivalocchi, A., 2017. Statin use does not protect from fractures: the healthy adherer effect is a plausible explanation in observational studies. *Osteoporosis International*, 28(9), pp.2739–2740.
- Eastell, R. & Szulc, P., 2017. Use of bone turnover markers in postmenopausal osteoporosis. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 5(11), pp.908–923.
- Eckers, A. & Haendeler, J., 2015. Endothelial Cells in Health and Disease. *Antioxidants & Redox Signaling*, 22(14), pp.1209–1211.
- Edelstein, S.L. & Barrett-Connor, E., 1993. Relation between body size and bone mineral density in elderly men and women. *American journal of epidemiology*, 138(3), pp.160–9.
- Engelke, J.A. et al., 1991. Vitamin K-dependent carboxylase: utilization of decarboxylated bone Gla protein and matrix Gla protein as substrates. *Biochimica et biophysica acta*, 1078(1), pp.31–4.
- Errico, T.L. et al., 2017. Mecanismos básicos : estructura , función y metabolismo de las lipoproteínas plasmáticas. *Clínica e Investigación en Arteriosclerosis*, 25(2), pp.98–103.
- Ersoy, G.S. et al., 2017. Lipid profile and plasma atherogenic index in postmenopausal osteoporosis. *Northern clinics of Istanbul*, 4(3), pp.237–241.
- Fakhry, M. et al., 2013. Molecular mechanisms of mesenchymal stem cell differentiation towards osteoblasts. *World journal of stem cells*, 5(4), pp.136–48.

- Fan, Y. & Peh, W., 2016. Radiology of Osteoporosis: Old and New Findings. *Seminars in Musculoskeletal Radiology*, 20(03), pp.235–245.
- Fassio, A. et al., 2017. New strategies for the prevention and treatment of systemic and local bone loss; from pathophysiology to clinical application. *Current pharmaceutical design*, 23(41), pp.6241–6250.
- Feingold, K.R. & Grunfeld, C., 2015. *Introduction to Lipids and Lipoproteins*, MDText.com, Inc.
- Feng, X. et al., 2007. ApoE-/-Fas-/- C57BL/6 mice: a novel murine model simultaneously exhibits lupus nephritis, atherosclerosis, and osteopenia. *Journal of lipid research*, 48(4), pp.794–805.
- Fernández-Murga, M.L. et al., 2015. Impact of estrogens on atherosclerosis and bone in the apolipoprotein E-deficient mouse model. *Menopause*, 22(4), pp.428–436.
- Feskanich, D., Willett, W. & Colditz, G., 2002. Walking and leisure-time activity and risk of hip fracture in postmenopausal women. *JAMA*, 288(18), pp.2300–2306.
- Filardi, T. et al., 2018. High serum osteopontin levels are associated with prevalent fractures and worse lipid profile in postmenopausal women with type 2 diabetes. *Journal of Endocrinological Investigation*, pp.1–7.
- Fiore, C.E. et al., 2000. L-arginine prevents bone loss and bone collagen breakdown in cyclosporin A-treated rats. *European Journal of Pharmacology*, 408(3), pp.323–326.
- Fleisch, H., 1998. Bisphosphonates: Mechanisms of Action. *Endocrine Reviews*, 19(1), pp.80–100.
- Fodor, D. et al., 2013. Relationship between VKORC1 single nucleotide polymorphism 1173C>T, bone mineral density & carotid intima-media thickness. *The Indian Journal of Medical Research*, 137(4),

pp.734–741.

- Friedenstein, A. et al., 1974. Precursors of fibroblasts in different populations of hematopoietic cells as detected by the in vitro colony assay method. *Experimental Hematology*, 2(2), pp.83–92.
- Fritz, J. et al., 2016. The associations of physical activity with fracture risk—a 7-year prospective controlled intervention study in 3534 children. *Osteoporosis International*, 27(3), pp.915–922.
- Galea, G.L., Lanyon, L.E. & Price, J.S., 2017. Sclerostin's role in bone's adaptive response to mechanical loading. *Bone*, 96, pp.38–44.
- Gallo, L. et al., 2016. Serum Calcium Increase Correlates With Worsening of Lipid Profile. *Medicine*, 95(8), p.2774.
- Gao, S. et al., 2011. Bone turnover in passive smoking female rat: relationships to change in bone mineral density. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 12, p.131.
- García-Pérez, M.A., Moreno-Mercer, J. & Cano, A., 2002. Marcadores bioquímicos de remodelado óseo: aspectos descriptivos. *Progresos de Obstetricia y Ginecología*, 45(8), pp.332–343.
- Garnero, P., 2014. New developments in biological markers of bone metabolism in osteoporosis. *Bone*, 66, pp.46–55.
- Garnero, P., 2017. The Utility of Biomarkers in Osteoporosis Management. *Molecular Diagnosis & Therapy*, 21(4), pp.401–418.
- Ghadiri-Anari, A. et al., 2016. Association of lipid profile with bone mineral density in postmenopausal women in Yazd province. *International journal of reproductive biomedicine (Yazd, Iran)*, 14(9), pp.597–602.
- Giachelli, C.M. & Steitz, S., 2001. Osteopontin: a versatile regulator of inflammation and biomineralization. *Matrix Biology*, 19(7), pp.615–622.
- Gibon, E., Lu, L. & Goodman, S.B., 2016. Aging, inflammation, stem

- cells, and bone healing. *Stem Cell Research & Therapy*, 7(1), p.44.
- Go, J.-H. et al., 2012. Association between Serum Cholesterol Level and Bone Mineral Density at Lumbar Spine and Femur Neck in Postmenopausal Korean Women. *Korean Journal of Family Medicine*, 33(3), p.166.
- Gotoh, M. et al., 2005. High Blood Pressure, Bone-Mineral Loss and Insulin Resistance in Women. *Hypertension Research*, 28(7), pp.565–570.
- Grainge, M.J. et al., 2001. Reproductive, Menstrual and Menopausal Factors: Which Are Associated with Bone Mineral Density in Early Postmenopausal Women? *Osteoporosis International*, 12(9), pp.777–787.
- Grau, M. et al., 2011. Factores de riesgo cardiovascular en España en la primera década del siglo xxi: análisis agrupado con datos individuales de 11 estudios de base poblacional, estudio DARIOS. *Revista Española de Cardiología*, 64(4), pp.295–304.
- Di Gregorio, G.B. et al., 2001. Attenuation of the self-renewal of transit-amplifying osteoblast progenitors in the murine bone marrow by 17 β -estradiol. *Journal of Clinical Investigation*, 107(7), pp.803–812.
- Grodstein, F. et al., 2000. A prospective, observational study of postmenopausal hormone therapy and primary prevention of cardiovascular disease. *Annals of Internal Medicine*, 133(12), pp.933–941.
- Grupo de Trabajo de Enfermedades Reumatológicas de la SemFYC, 2014. *Osteoporosis Manejo: Prevención, diagnóstico y tratamiento*, Barcelona.
- Guilbert, J., 2003. The world health report 2002 - reducing risks, promoting healthy life. *Educ Health (Abingdon)*, 16(2), p.230.
- Gulhan, I. et al., 2012. Serum lipid levels in women with premature

- ovarian failure. *Menopause: The Journal of The North American Menopause Society*, 19(11), pp.1231–1234.
- Gulin, T. et al., 2017. The role of adipokines as prognostic factors of one-year mortality in hip fracture patients. *Osteoporosis International*, 28(8), pp.2475–2483.
- Guney, E. et al., 2008. Effects of bisphosphonates on lipid metabolism. *Neuro endocrinology letters*, 29(2), pp.252–255.
- Gur, A. et al., 2003. Influence of number of pregnancies on bone mineral density in postmenopausal women of different age groups. *Journal of bone and mineral metabolism*, 21(4), pp.234–41.
- Hampson, G. et al., 2017. The relationship between inhibitors of the Wnt signalling pathway (Dickkopf-1(DKK1) and sclerostin), bone mineral density, vascular calcification and arterial stiffness in post-menopausal women. *Bone*, 56(1), pp.42–47.
- Hanley, D. et al., 2003. Associations Among Disease Conditions, Bone Mineral Density, and Prevalent Vertebral Deformities in Men and Women 50 Years of Age and Older: Cross-Sectional Results From the Canadian Multicentre Osteoporosis Study. *Journal of Bone and Mineral Research*, 18(4), pp.784–790.
- Harman, S. et al., 2014. Arterial imaging outcomes and cardiovascular risk factors in recently menopausal women: A randomized trial. *Annals of Internal Medicine*, 161(4), pp.249–260.
- Harman, S.M. et al., 2005. KEEPS: The Kronos Early Estrogen Prevention Study. *Climacteric*, 8(1), pp.3–12.
- Hart, G.R. et al., 2006. Measurement of vitamin D status: background, clinical use, and methodologies. *Clinical laboratory*, 52(7–8), pp.335–43.
- Hatzigeorgiou, C. & Jackson, J.L., 2005. Hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors and osteoporosis: a meta-

- analysis. *Osteoporosis International*, 16(8), pp.990–998.
- Helkin, A. et al., 2016. Dyslipidemia Part 1—Review of Lipid Metabolism and Vascular Cell Physiology. *Vascular and Endovascular Surgery*, 50(2), pp.107–118.
- Hernández, J.L. et al., 2010. Serum lipids and bone metabolism in Spanish men: the Camargo cohort study. *Endocrine journal*, 57(1), pp.51–60.
- Hewison, M. et al., 1993. Tissue resistance to 1,25-dihydroxyvitamin D without a mutation of the vitamin D receptor gene. *Clinical endocrinology*, 39(6), pp.663–70.
- Higgins, C.L. et al., 2015. Distribution of Alkaline Phosphatase, Osteopontin, RANK Ligand and Osteoprotegerin in Calcified Human Carotid Atheroma. *Protein Journal*, 34(5), pp.315–328.
- Hodis, H.N. et al., 2016. Vascular Effects of Early versus Late Postmenopausal Treatment with Estradiol. *New England Journal of Medicine*, 374(13), pp.1221–1231.
- Horne, B.D. et al., 2003. Statin Therapy Interacts With Cytomegalovirus Seropositivity and High C-Reactive Protein in Reducing Mortality Among Patients With Angiographically Significant Coronary Disease. *Circulation*, 107(2).
- Hosseini-nezhad, A. & Holick, M.F., 2013. Vitamin D for Health: A Global Perspective. *Mayo Clinic Proceedings*, 88(7), pp.720–755.
- Hou, J. & Wu, H., 2012. The effects of ApoE gene polymorphisms on lumbar spine bone mineral density and carotid atherosclerosis. *Clinical Biochemistry*, 45(3), pp.219–222.
- Hu, F.B. et al., 2001. Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. *New England Journal of Medicine*, 345(11), pp.790–797.
- Hudec, S. & Camacho, P., 2013. Secondary Causes of Osteoporosis. *Endocrine Practice*, 19(1), pp.120–128.

- Hui, S.L. et al., 1997. Universal Standardization of Bone Density Measurements: A Method with Optimal Properties for Calibration Among Several Instruments. *Journal of Bone and Mineral Research*, 12(9), pp.1463–1470.
- Hui, S.L., Slemenda, C.W. & Johnston, C.C., 1988. Age and bone mass as predictors of fracture in a prospective study. *Journal of Clinical Investigation*, 81(6), pp.1804–1809.
- Hukkanen, M. et al., 1995. Cytokine-stimulated expression of inducible nitric oxide synthase by mouse, rat, and human osteoblast-like cells and its functional role in osteoblast metabolic activity. *Endocrinology*, 136(12), pp.5445–5453.
- Hulin, B., McCarthy, P.A. & Michael Gibbs, E., 1996. The glitazone family of antidiabetic agents. *Current Pharmaceutical Design*, 2(1), pp.85–102.
- Ihara, H. et al., 2001. Parathyroid hormone-induced bone resorption does not occur in the absence of osteopontin. *The Journal of biological chemistry*, 276(16), pp.13065–71.
- Inoue, M. et al., 2001. Oxidized LDL Regulates Vascular Endothelial Growth Factor Expression in Human Macrophages and Endothelial Cells Through Activation of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- γ . *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 21(4), pp.560–566.
- Instituto Nacional de Estadística, 2017a. Defunciones según la Causa de Muerte. , pp.3–10.
- Instituto Nacional de Estadística, 2017b. Estado de salud y accidentalidad. Cifras absolutas y relativas. , pp.1–10.
- Ivergard, M. et al., 2013. Epidemiology and Economic Burden of Osteoporosis in Spain. *Archives of Osteoporosis*, 8(12), pp.195–218.
- Jagielska, G. et al., 2017. Bone mineralization and densitometric

- evaluation of vertebral fractures in women 6-21 years after the onset of anorexia nervosa symptoms. *Psychiatria Polska*, 51(2), pp.231–246.
- Jain, R.K. & Vokes, T., 2017. Dual-energy X-ray Absorptiometry. *Journal of Clinical Densitometry*, pp.1–13.
- Jeong, T.-D. et al., 2014. Relationship between Serum Total Cholesterol Level and Serum Biochemical Bone Turnover Markers in Healthy Pre- and Postmenopausal Women. *BioMed Research International*, 2014, pp.1–7.
- Jie, K. et al., 1996. Vitamin K Status and Bone Mass in Women With and Without Aortic Atherosclerosis: A Population-Based Study. *Calcif Tissue Int.*, 59, pp.352–356.
- Jokinen, E., 2015. Obesity and cardiovascular disease. *Minerva pediatrica*, 67(1), pp.25–32.
- Jørgensen, L. et al., 2006. Carotid Plaque Echogenicity and Risk of Nonvertebral Fractures in Women: A Longitudinal Population-Based Study. *Calcified Tissue International*, 79(4), pp.207–213.
- Kaden, J.J. et al., 2004. Receptor activator of nuclear factor κ B ligand and osteoprotegerin regulate aortic valve calcification. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 36(1), pp.57–66.
- Kado, D.M. et al., 2000. Rate of Bone Loss Is Associated with Mortality in Older Women: A Prospective Study. *Journal of Bone and Mineral Research*, 15(10), pp.1974–1980.
- Kanis, J.A. et al., 2005. Alcohol intake as a risk factor for fracture. *Osteoporosis International*, 16(7), pp.737–742.
- Kanis, J.A. et al., 2013. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporosis International*, 24(1), pp.23–57.
- Kanis, J.A. & Glüer, C.C., 2000. An update on the diagnosis and assessment of osteoporosis with densitometry. Committee of

- Scientific Advisors, International Osteoporosis Foundation. *Osteoporosis international: a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 11(3), pp.192–202.
- Kanterewicz, E. et al., 2009. Relación del telopéptido carboxiterminal del colágeno tipo I sérico con la densidad mineral ósea y el consumo de fármacos en mujeres posmenopáusicas. Datos preliminares del estudio FRODOS. *Medicina Clínica*, 133(16), pp.609–614.
- Kassem, M. & Marie, P.J., 2011. Senescence-associated intrinsic mechanisms of osteoblast dysfunctions. *Aging Cell*, 10(2), pp.191–197.
- Kathuria, P., Gordon, K.B. & Silverberg, J.I., 2017. Association of psoriasis and psoriatic arthritis with osteoporosis and pathological fractures. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 76(6), p.1045–1053.e3.
- Kaul, P. et al., 2011. Ethnic differences in 1-year mortality among patients hospitalised with heart failure. *Heart*, 97(13), pp.1048–1053.
- Kearns, A.E., Khosla, S. & Kostenuik, P.J., 2008. Receptor Activator of Nuclear Factor κ B Ligand and Osteoprotegerin Regulation of Bone Remodeling in Health and Disease. *Endocrine Reviews*, 29(2), pp.155–192.
- Khosla, S., 2013. Pathogenesis of Age-Related Bone Loss in Humans. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 68(10), pp.1226–1235.
- Kim, K.M. et al., 2016. Lower uncarboxylated osteocalcin and higher sclerostin levels are significantly associated with coronary artery disease. *Bone*, 83, pp.178–183.
- Kim, M.K. et al., 2013. Serum alkaline phosphatase, body composition,

- and risk of metabolic syndrome in middle-aged Korean. *Endocrine journal*, 60(3), pp.321–8.
- Kim, S.A. et al., 2016. Association of APOE Genotype with Bone Mineral Density in Men and Women: The Dong-gu and Namwon Studies. *Chonnam Medical Journal*, 52(1), pp.59–63.
- Klein, R.F. et al., 2004. Regulation of Bone Mass in Mice by the Lipoxygenase Gene *&em>Alox15*. *Science*, 303(5655), p.229 LP-232.
- Kousteni, S. et al., 2002. Reversal of Bone Loss in Mice by Nongenotropic Signaling of Sex Steroids. *Science*, 298(5594), p.843 LP-846.
- Krishnan, C., Choksi, P. & Peterson, M.D., 2017. Abdominal adiposity and low physical activity are independently and inversely associated with bone mineral density. *Obesity Research & Clinical Practice*, 11(6), pp.740–746.
- Kuipers, A.L. et al., 2013. Evidence for a Genetic Link Between Bone and Vascular Measures in African Ancestry Families. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 28(8), pp.1804–1810.
- Kurabayashi, M., 2015. Vascular Calcification - Pathological Mechanism and Clinical Application - . Role of vascular smooth muscle cells in vascular calcification. *Clinical calcium*, 25(5), pp.661–9.
- Kyung Eun, Y. et al., 2017. Alcohol and coronary artery calcification: an investigation using alcohol flushing as an instrumental variable. *International Journal of Epidemiology*, pp.1–13.
- Lakatta, E.G., 2015. So! What’s aging? Is cardiovascular aging a disease? *Journal of molecular and cellular cardiology*, 83, pp.1–13.
- Lakatta, E.G. & Levy, D., 2003. Arterial and Cardiac Aging: Major Shareholders in Cardiovascular Disease Enterprises. *Circulation*,

107(1), p.139 LP-146.

- Lakey, S.L. et al., 2010. Self-Reported Changes in Providers' Hormone Therapy Prescribing and Counseling Practices After the Women's Health Initiative. *Journal of Women's Health*, 19(12), pp.2175-2181.
- Lampropoulos, C.E. et al., 2016. Osteoporosis and vascular calcification in postmenopausal women: a cross-sectional study. *Climacteric: the journal of the International Menopause Society*, 19(3), pp.303-7.
- Lampropoulos, C.E., Papaioannou, I. & D'Cruz, D.P., 2012. Osteoporosis: a risk factor for cardiovascular disease? *Nat Rev Rheumatol*, 8(10), pp.587-598.
- Lee, S.I., Lee, S.Y. & Yoo, W.H., 2005. Association of apolipoprotein E polymorphism with bone mineral density in postmenopausal women with rheumatoid arthritis. *Rheumatology*, 44(8), pp.1067-1068.
- Lei, W. et al., 2016. Effects of leptin on femoral fracture in rats. *Journal of Biomedical Research*, 32(2), pp.130-135.
- Li, S. et al., 2015. Relationships of serum lipid profiles and bone mineral density in postmenopausal Chinese women. *Clinical Endocrinology*, 82(1), pp.53-58.
- Lian, X.-L. et al., 2017. Exploration on the relationship between the elderly osteoporosis and cardiovascular disease risk factors. *European review for medical and pharmacological sciences*, 21(19), pp.4386-4390.
- Lidfeldt, J. et al., 2002. The influence of hormonal status and features of the metabolic syndrome on bone density: a population-based study of Swedish women aged 50 to 59 years. The women's health in the Lund area study. *Metabolism: clinical and experimental*, 51(2), pp.267-70.

- Lim, S. et al., 2012. Vitamin D Inadequacy Is Associated with Significant Coronary Artery Stenosis in a Community-Based Elderly Cohort: The Korean Longitudinal Study on Health and Aging. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 97(1), pp.169–178.
- Lima, C.E.V. de C., Calixto, J.C. & Anbinder, A.L., 2011. Influence of the association between simvastatin and demineralized bovine bone matrix on bone repair in rats. *Brazilian Oral Research*, 25(1), pp.42–48.
- Lin, X. et al., 2016. Function , Role , and Clinical Application of MicroRNAs in Vascular Aging. *BioMed Research International*, 2016, p.6021394.
- Lin, X. et al., 2018. Identifying potentially common genes between dyslipidemia and osteoporosis using novel analytical approaches. *Molecular Genetics and Genomics*, 293(3), pp.711–723.
- Link, T.M., 2016. Radiology of Osteoporosis. *Canadian Association of Radiologists Journal*, 67(1), pp.28–40.
- Liu, C.T., Yuan, X.J. & Gao, G.C., 2017. Effects of alendronate on osteoporosis treatment and levels of related cytokines. *Genetics and Molecular Research*, 16(16), p.1.
- Liu, J. et al., 2013. HMG-CoA reductase inhibitors (statins) and bone mineral density: A meta-analysis. *Bone*, 54(1), pp.151–156.
- Lorentzon, M. et al., 2006. Leptin Is a Negative Independent Predictor of Areal BMD and Cortical Bone Size in Young Adult Swedish Men. *Journal of Bone and Mineral Research*, 21(12), pp.1871–1878.
- Lu, Y. et al., 2001. Standardization of Bone Mineral Density at Femoral Neck, Trochanter and Ward's Triangle. *Osteoporosis International*, 12(6), pp.438–444.
- Lum, G., 1995. Significance of low serum alkaline phosphatase activity

- in a predominantly adult male population. *Clinical chemistry*, 41(4), pp.515–8.
- Lusis, A.J., 2000. Atherosclerosis. *Nature*, 407(6801), pp.233–241.
- MacNabb, C., Patton, D. & Hayes, J.S., 2016. Sclerostin Antibody Therapy for the Treatment of Osteoporosis: Clinical Prospects and Challenges. *Journal of Osteoporosis*, 2016, p.6217286.
- Maghbooli, Z. et al., 2018. Negative correlation of high-density of lipoprotein-cholesterol and bone mineral density in postmenopausal Iranian women with vitamin D deficiency. *Menopause*, 25(4), p.1.
- Majima, T. et al., 2008. Increased Bone Turnover in Patients with Hypercholesterolemia. *Endocrine Journal*, 55(1), pp.143–151.
- Mak, J.C.S., Cameron, I.D. & March, L.M., 2010. Evidence-based guidelines for the management of hip fractures in older persons: an update. *Med J Aust*, 192(1), pp.37–41.
- Makovey, J. et al., 2009. Association between serum cholesterol and bone mineral density. *Bone*, 44(2), pp.208–213.
- Manolagas, S.C., O'Brien, C.A. & Almeida, M., 2013. The role of estrogen and androgen receptors in bone health and disease. *Nature reviews. Endocrinology*, 9(12), pp.699–712.
- Manson, J.E. et al., 2017. Menopausal Hormone Therapy and Long-term All-Cause and Cause-Specific Mortality. *JAMA*, 318(10), p.927.
- Maraldi, C. et al., 2006. Impact of inflammation on the relationship among alcohol consumption, mortality, and cardiac events: The health, aging, and body composition study. *Archives of Internal Medicine*, 166(14), pp.1490–1497.
- Marco Hernández, M. et al., 2008. Variaciones fisiológicas normales del desarrollo puberal: edad del inicio puberal, edad de la menarquia y talla. *Anales de Pediatría*, 69(2), pp.147–153.

- Mark, K.A. et al., 2016. Vitamin D Promotes Protein Homeostasis and Longevity via the Stress Response Pathway Genes *skn-1*, *ire-1*, and *xbp-1*. *Cell Reports*, 17(5), pp.1227–1237.
- Martín-González, C. et al., 2017. Lipid profile and bone mineral density in heavy alcoholics. *Clinical Nutrition*, S0261-5614(17), pp.31368–7.
- Martínez Pérez, J.A. et al., 2011. Assessing osteoporosis risk factors in Spanish menopausal women. *Gynecological endocrinology: the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*, 27(10), pp.807–13.
- Mastroianno, S. et al., 2017. Role of the APOE polymorphism in carotid and lower limb revascularization: A prospective study from Southern Italy O. Chiba-Falek, ed. *PLoS ONE*, 12(3), p.e0171055.
- McKellar, G.E. et al., 2009. Role for TNF in atherosclerosis? Lessons from autoimmune disease. *Nature Reviews Cardiology*, 6(6), pp.410–417.
- Messiah, S.E. et al., 2018. Longitudinal Impact of a Park-Based Afterschool Healthy Weight Program on Modifiable Cardiovascular Disease Risk Factors in Youth. *Journal of Community Health*, 43(1), pp.103–116.
- van Meurs, J.B.J. et al., 2005. 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), pp.141–150.
- Mezquita-Raya, P. et al., 2005. The contribution of serum osteoprotegerin to bone mass and vertebral fractures in postmenopausal women. *Osteoporosis International*, 16(11), pp.1368–1374.
- Michaëlsson, K. et al., 2013. Long term calcium intake and rates of all cause and cardiovascular mortality: community based prospective longitudinal cohort study. *BMJ (Clinical research ed.)*,

346, p.f228.

- Miller, P.D. et al., 2005. How useful are measures of BMD and bone turnover? *Current Medical Research and Opinion*, 21(4), pp.545–553.
- Miller, V.M. et al., 2016. Pharmacogenomics of estrogens on changes in carotid artery intima-medial thickness and coronary arterial calcification: Kronos Early Estrogen Prevention Study. *Physiological Genomics*, 48(1), pp.33–41.
- Misra, D. et al., 2017. Intermittent Nitrate Use and Risk of Hip Fracture. *The American journal of medicine*, 130(2), p.229.
- Miura, M. & Satoh, Y., 2017. New methods for the evaluation of bone quality. Bone Quality Marker. *Clinical calcium*, 27(8), pp.1153–1160.
- Mohamed, M.T. et al., 2017. The anti-osteoporotic and anti-atherogenic effects of alendronate and simvastatin in ovariectomized rats fed high fat diet: A comparative study of combination therapy versus monotherapy. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 89, pp.1115–1124.
- Mohr, M. et al., 2015. Effects of soccer vs swim training on bone formation in sedentary middle-aged women. *European Journal of Applied Physiology*, 115(12), pp.2671–2679.
- Mundy, G. et al., 1999. Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. *Science*, 286(5446), pp.1946–1949.
- Nabhan, A.F.I., 2006. A randomized clinical trial of the effects of isosorbide mononitrate on bone formation and resorption in post-menopausal women: A pilot study. *Human Reproduction*, 21(5), pp.1320–1324.
- Nahar-Gohad, P. et al., 2015. Rat Aortic Smooth Muscle Cells Cultured on Hydroxyapatite Differentiate into Osteoblast-Like Cells via BMP-2–SMAD-5 Pathway. *Calcified Tissue International*, 96(4),

pp.359–369.

Nassar, K. et al., 2016. Van Buchem's Disease. *Joint Bone Spine*, 83(6), pp.737–738.

Navarro Casado, L. et al., 2008. Utilidad clínica de los marcadores bioquímicos de remodelado óseo en la mujer posmenopáusica reciente: estudio longitudinal a 2 años. *Medicina Clínica*, 131(9), pp.333–338.

Nayak, S., Roberts, M.S. & Greenspan, S.L., 2009. Factors Associated with Osteoporosis Screening and Recommendations for Osteoporosis Screening in Older Adults. *Journal of General Internal Medicine*, 24(5), pp.585–591.

North, B.J. & Sinclair, D.A., 2012. The Intersection Between Aging and Cardiovascular Disease. *Circulation Research*, 110(8), pp.1097–1108.

Ohmori, R. et al., 2017. Plasma osteopontin levels are associated with the presence and extent of coronary artery disease. *Atherosclerosis*, 170(2), pp.333–337.

Okano, H. et al., 1998. The Long-Term Effect of Menopause on Postmenopausal Bone Loss in Japanese Women: Results from a Prospective Study. *Journal of Bone and Mineral Research*, 13(2), pp.303–309.

Oliver, W.R. et al., 2001. A selective peroxisome proliferator-activated receptor delta agonist promotes reverse cholesterol transport. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(9), pp.5306–11.

Olmos, J.M. et al., 2011. Relación del telopéptido carboxiterminal del colágeno tipo I sérico con la densidad mineral ósea y el consumo de fármacos en mujeres posmenopáusicas. Datos preliminares del estudio FRODOS. *Medicina Clínica*, 136(6), pp.269–270.

Olszynski, W.P. et al., 2013. Multisite quantitative ultrasound for the

- prediction of fractures over 5 years of follow-up: the Canadian Multicentre Osteoporosis Study. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 28(9), pp.2027-34.
- Orozco, P., 2004. Atherogenic lipid profile and elevated lipoprotein (a) are associated with lower bone mineral density in early postmenopausal overweight women. *European journal of epidemiology*, 19(12), pp.1105-12.
- Ortega, F.B., Lavie, C.J. & Blair, S.N., 2016. Obesity and Cardiovascular Disease. *Circulation Research*, 118(11), pp.1752-1770.
- Oryan, A. et al., 2014. Bone morphogenetic proteins: A powerful osteoinductive compound with non-negligible side effects and limitations. *BioFactors*, 40(5), pp.459-481.
- Paloian, N.J., Leaf, E.M. & Giachelli, C.M., 2016. Osteopontin protects against high phosphate-induced nephrocalcinosis and vascular calcification. *Kidney International*, 89(5), pp.1027-1036.
- Panach, L. et al., 2014. Replication study of three functional polymorphisms associated with bone mineral density in a cohort of Spanish women. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 32(6), pp.691-698.
- Panach, L. et al., 2015. Serum Circulating MicroRNAs as Biomarkers of Osteoporotic Fracture. *Calcified Tissue International*, 97(5), pp.495-505.
- Papadakis, G. et al., 2017. Is cardiovascular risk in women with PCOS a real risk? Current insights. *Minerva endocrinologica*, 42(4), pp.340-355.
- Parhami, F. et al., 1999. Atherogenic Diet and Minimally Oxidized Low Density Lipoprotein Inhibit Osteogenic and Promote Adipogenic Differentiation of Marrow Stromal Cells. *Journal of Bone and Mineral Research*, 14(12), pp.2067-2078.

- Parhami, F. et al., 2002. Role of the Cholesterol Biosynthetic Pathway in Osteoblastic Differentiation of Marrow Stromal Cells. *Journal of Bone and Mineral Research*, 17(11), pp.1997–2003.
- Parmar, H. et al., 2006. Petrified ears in a patient with Keutel syndrome: temporal bone CT findings. *Pediatric Radiology*, 36(3), pp.241–243.
- Pasco, J.A. et al., 2002. Statin Use, Bone Mineral Density, and Fracture Risk. *Archives of Internal Medicine*, 162(5), p.537.
- Pastor-Barriuso, R., 2012. *Bioestadística*, Madrid: Escuela Nacional de Sanidad y Centro Nacional de Epidemiología. Instituto de Salud Carlos III.
- Pei, L. et al., 2004. Fat's loss is bone's gain. *The Journal of clinical investigation*, 113(6), pp.805–6.
- Pelton, K. et al., 2012. Hypercholesterolemia Promotes an Osteoporotic Phenotype. *The American Journal of Pathology*, 181(3), pp.928–936.
- Peña, J.M. et al., 2015. Statin Therapy and Risk of Fracture. *JAMA Internal Medicine*, 175(2), p.171.
- Perelshtein Brezinov, O. et al., 2016. Gender-Related Cardiovascular Risk in Healthy Middle-Aged Adults. *The American Journal of Cardiology*, 118(11), pp.1669–1673.
- Peter, I. et al., 2011. Associations of APOE Gene Polymorphisms with Bone Mineral Density and Fracture Risk: A Meta-Analysis. *Osteoporosis international: a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 22(4), pp.1199–1209.
- Pietschmann, P. et al., 2009. Osteoporosis: An age-related and gender-specific disease - A mini-review. *Gerontology*, 55(1), pp.3–12.
- Pinals, R. & Jabbs, J., 1972. Type-IV hyperlipoproteinaemia and

- transient osteoporosis. *The Lancet*, 300(7783), p.929.
- Pitkin, R.M., 1985. Calcium metabolism in pregnancy and the perinatal period: a review. *American journal of obstetrics and gynecology*, 151(1), pp.99–109.
- Price, P.A. et al., 1982. Excessive mineralization with growth plate closure in rats on chronic warfarin treatment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 79(24), pp.7734–7738.
- Radovanovic, C.A.T. et al., 2014. Arterial hypertension and other risk factors associated with cardiovascular diseases among adults. *Revista latino-americana de enfermagem*, 22(4), pp.547–53.
- Rattazzi, M. et al., 2016. Atorvastatin Reduces Circulating Osteoprogenitor Cells and T-Cell RANKL Expression in Osteoporotic Women: Implications for the Bone-Vascular Axis. *Cardiovascular Therapeutics*, 34(1), pp.13–20.
- Reed, R.M. et al., 2010. Elevated HDL cholesterol levels are associated with osteoporosis in lung transplant candidates with chronic obstructive pulmonary disease. *Respiratory Medicine*, 104(12), pp.1943–1950.
- Reid, I.R., 2008. Relationships between fat and bone. *Osteoporosis International*, 19(5), pp.595–606.
- Rejnmark, L. et al., 2002. Statins decrease bone turnover in postmenopausal women: a cross-sectional study. *European Journal of Clinical Investigation*, 32(8), pp.581–589.
- Rexhepi, S. et al., 2015. Association of Body Weight and Body Mass Index with Bone Mineral Density in Women and Men from Kosovo. *Materia Socio-Medica*, 27(4), pp.259–262.
- Rey, J.M., Ph, D. & Walter, G., 1997. The discovery and development of HMG-CoA reductase inhibitors. *Journal of lipid research*, 33(May), pp.595–602.

- Reyes-Garcia, R. et al., 2012. Relationship between serum levels of osteocalcin and atherosclerotic disease in type 2 diabetes. *Diabetes & metabolism*, 38(1), pp.76–81.
- Reyes-García, R. et al., 2016. Dickkopf1 (DKK1), metabolismo óseo y enfermedad aterosclerótica en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. *Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral*, 8(1), pp.24–29.
- Al Rifai, M. et al., 2017. The relationship between smoking intensity and subclinical cardiovascular injury: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Atherosclerosis*, 258, pp.119–130.
- Riggs, B.L. et al., 2008. A Population-Based Assessment of Rates of Bone Loss at Multiple Skeletal Sites: Evidence for Substantial Trabecular Bone Loss in Young Adult Women and Men. *Journal of Bone and Mineral Research*, 23(2), pp.205–214.
- Rizzoli, R. et al., 2014. The role of dietary protein and vitamin D in maintaining musculoskeletal health in postmenopausal women: A consensus statement from the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis and Osteoarthritis (ESCEO). *Maturitas*, 79(1), pp.122–132.
- Rodan, G. a & Fleisch, H. a, 1996. Perspectives Bisphosphonates : Mechanisms of Action. *J. Clin. Invest.*, 97(16), pp.2692–2696.
- Roelfsema, F., Yang, R.J. & Veldhuis, J.D., 2018. Differential Effects of Estradiol and Progesterone on Cardiovascular Risk Factors in Postmenopausal Women. *Journal of the Endocrine Society*, 2(7), pp.794–805.
- Rosique-Esteban, N. et al., 2017. Leisure-time physical activity, sedentary behaviors, sleep, and cardiometabolic risk factors at baseline in the PREDIMED-PLUS intervention trial: A cross-sectional analysis. *PloS one*, 12(3), p.e0172253.
- Rubin, M.R. & Silverberg, S.J., 2004. Vascular Calcification and Osteoporosis—The Nature of the Nexus. *The Journal of Clinical*

- Endocrinology & Metabolism*, 89(9), pp.4243–4245.
- Saarelainen, J. et al., 2011. Body fat distribution is associated with lumbar spine bone density independently of body weight in postmenopausal women. *Maturitas*, 69(1), pp.86–90.
- Sabour, H. et al., 2014. Is Lipid Profile Associated with Bone Mineral Density and Bone Formation in Subjects with Spinal Cord Injury? *Journal of Osteoporosis*, 2014, pp.1–6.
- Samelson, E.J. et al., 2008. Increased Plasma Osteoprotegerin Concentrations Are Associated with Indices of Bone Strength of the Hip. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 93(5), pp.1789–1795.
- Samelson, E.J. et al., 2004. Long-term effects of serum cholesterol on bone mineral density in women and men: the Framingham Osteoporosis Study. *Bone*, 34(3), pp.557–561.
- Sánchez, C.F. & Peiró, C., 2017. Disfunción endotelial asociada al envejecimiento vascular humano. *Clínica e Investigación en Arteriosclerosis*, 23(3), pp.23–27.
- Sanfélix-Genovés, J. et al., 2010. The population-based prevalence of osteoporotic vertebral fracture and densitometric osteoporosis in postmenopausal women over 50 in Valencia, Spain (the FRAVO study). *Bone*, 47(3), pp.610–6.
- Sarjeant, K. & Stephens, J.M., 2012. Adipogenesis. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 4(9), p.a008417.
- Sarwar, N. et al., 2012. Interleukin-6 receptor pathways in coronary heart disease: a collaborative meta-analysis of 82 studies. *Lancet (London, England)*, 379(9822), pp.1205–13.
- Satoh, M. et al., 2007. Inhibition of Apoptosis-Regulated Signaling Kinase-1 and Prevention of Congestive Heart Failure by Estrogen. *Circulation*, 115(25), pp.3197–3204.
- Scheidt-Nave, C. et al., 2001. Serum Interleukin 6 Is a Major Predictor

- of Bone Loss in Women Specific to the First Decade Past Menopause*. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 86(5), pp.2032–2042.
- Schnatz, P.F. et al., 2014. Calcium/vitamin D supplementation, serum 25-hydroxyvitamin D concentrations, and cholesterol profiles in the Women's Health Initiative calcium/vitamin D randomized trial. *Menopause*, 21(8), pp.823–833.
- Scholtysek, C. et al., 2013. PPAR β/δ governs Wnt signaling and bone turnover. *Nature Medicine*, 19(5), pp.608–613.
- Seo, S.K., 2009. Bone mineral density, arterial stiffness and coronary atherosclerosis in healthy postmenopausal women. *Menopause*, 16, pp.937–943.
- Shah, R.S. & Cole, J.W., 2010. Smoking and stroke: the more you smoke the more you stroke. *Expert review of cardiovascular therapy*, 8(7), pp.917–932.
- Shen, Y., Zhang, Y.-H. & Shen, L., 2013. Postmenopausal women with osteoporosis and osteoarthritis show different microstructural characteristics of trabecular bone in proximal tibia using high-resolution magnetic resonance imaging at 3 tesla. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 14(1), p.136.
- Shi, Y. et al., 2018. Fibroblast growth factor 21 ameliorates vascular calcification by inhibiting osteogenic transition in vitamin D3 plus nicotine-treated rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 495(4), pp.2448–2455.
- Shibata, M.-A. et al., 2017. Pathological and molecular analyses of atherosclerotic lesions in ApoE-knockout mice. *Medical Molecular Morphology*, pp.1–15.
- Singh, S., Kumar, D. & Lal, A.K., 2015. Serum Osteocalcin as a Diagnostic Biomarker for Primary Osteoporosis in Women. *Journal Of Clinical and Diagnostic Research*, 9(8), pp.4–7.

- Smedsrød, B. et al., 1990. Circulating C-terminal propeptide of type I procollagen is cleared mainly via the mannose receptor in liver endothelial cells. *The Biochemical journal*, 271(2), pp.345–50.
- Solomon, D.H. et al., 2005. Lipid levels and bone mineral density. *The American Journal of Medicine*, 118(12), p.1414.
- Song, Y. et al., 2016. Follicle-Stimulating Hormone Induces Postmenopausal Dyslipidemia Through Inhibiting Hepatic Cholesterol Metabolism. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 101(1), pp.254–263.
- Sornay-Rendu, E. et al., 2013. In Obese Postmenopausal Women, Bone Microarchitecture and Strength Are Not Commensurate to Greater Body Weight: The Os des Femmes de Lyon (OFELY) Study. *Journal of Bone and Mineral Research*, 28(7), pp.1679–1687.
- Stampfer, M.J. & Colditz, G.A., 1991. Estrogen replacement therapy and coronary heart disease: a quantitative assessment of the epidemiologic evidence. *Prev Med*, 20(1), pp.47–63.
- Stein, G.S. & Lian, J.B., 1993. Molecular Mechanisms Mediating Proliferation/Differentiation Interrelationships During Progressive Development of the Osteoblast Phenotype. *Endocrine Reviews*, 14(4), pp.424–442.
- Sumino, H., 2007. Relationship between brachial arterial endothelial function and lumbar spine bone mineral density in postmenopausal women. *Circ. J.*, 71, pp.1555–1559.
- Sweatt, A. et al., 2003. Matrix Gla protein (MGP) and bone morphogenetic protein-2 in aortic calcified lesions of aging rats. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 1(1), pp.178–185.
- Takeda, S. & Karsenty, G., 2008. Molecular bases of the sympathetic regulation of bone mass. *Bone*, 42(5), pp.837–840.
- Tanko, L., Bagger, Y. & Christiansen, C., 2003. Low bone mineral

- density in the hip as a marker of advanced atherosclerosis in elderly women. *Calcified Tissue International*, 73(1), pp.15–20.
- Tanko, L.B. et al., 2005. Relationship between osteoporosis and cardiovascular disease in postmenopausal women. *J. Bone Miner. Res.*, 20(11), pp.1912–1920.
- Tankó, L.B. et al., 2003. Does serum cholesterol contribute to vertebral bone loss in postmenopausal women? *Bone*, 32(1), pp.8–14.
- Tanna, N. et al., 2017. The relationship between circulating adiponectin, leptin and vaspin with bone mineral density (BMD), arterial calcification and stiffness: a cross-sectional study in postmenopausal women. *Journal of Endocrinological Investigation*, 40(12), pp.1345–1353.
- Taxel, P. et al., 2008. Estradiol rapidly inhibits osteoclastogenesis and RANKL expression in bone marrow cultures in postmenopausal women: a pilot study. *Osteoporosis International*, 19(2), pp.193–199.
- Taylor, A.K. et al., 1994. Biochemical markers of bone turnover for the clinical assessment of bone metabolism. *Rheumatic diseases clinics of North America*, 20(3), pp.589–607.
- Terekci, H. et al., 2008. Plasma Osteoprotegerin Concentrations in Type 2 Diabetic Patients and its Association with Neuropathy. *Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes*, 117(03), pp.119–123.
- Thomas, T. & Burguera, B., 2002. Is Leptin the Link Between Fat and Bone Mass? *Journal of Bone and Mineral Research*, 17(9), pp.1563–1569.
- Tian, M. et al., 2015. Tumor necrosis factor- α and its role as a mediator in myocardial infarction: A brief review. *Chronic diseases and translational medicine*, 1(1), pp.18–26.
- Tintut, Y., Morony, S. & Demer, L.L., 2004. Hyperlipidemia promotes

- osteoclastic potential of bone marrow cells ex vivo. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 24(2), pp.6–10.
- TL, B. et al., 1983. Estrogen use and all-cause mortality: Preliminary results from the lipid research clinics program follow-up study. *JAMA*, 249(7), pp.903–906.
- Tsai, S.-Y. et al., 2017. Risk factors for early cardiovascular mortality in patients with bipolar disorder. *Psychiatry and clinical neurosciences*, 71(10), pp.716–724.
- Tsuda, K., Nishio, I. & Masuyama, Y., 2001. Bone mineral density in women with essential hypertension. *American journal of hypertension*, 14(7 Pt 1), pp.704–707.
- Turner, R.T., 2000. Skeletal Response to Alcohol. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 24(11), pp.1693–1701.
- Ugurlu, U. et al., 2016. Assessment of smoking for low bone mineral density in postmenopausal Turkish women. *Wiener klinische Wochenschrift*, 128(3), pp.114–119.
- Ulhøi, M.P. et al., 2017. Chronic Alcohol Abuse Leads to Low Bone Mass with No General Loss of Bone Structure or Bone Mechanical Strength. *Journal of Forensic Sciences*, 62(1), pp.131–136.
- Väänänen, H.K. et al., 2000. The cell biology of osteoclast function. *Journal of cell science*, 113(3), pp.377–381.
- Valerio, G. et al., 2002. The Lumbar Bone Mineral Density Is Affected by Long-Term Poor Metabolic Control in Adolescents with Type 1 Diabetes mellitus. *Hormone Research in Paediatrics*, 58(6), pp.266–272.
- Varo, J.J. et al., 2003. Distribution and determinants of sedentary lifestyles in the European Union. *International Journal of Epidemiology*, 32(1), pp.138–146.
- Velasco, J. & Riancho, J.A., 2008. La vía Wnt y el hueso. *Revista Española de Enfermedades Metabólicas Óseas*, 17(1), pp.5–9.

- Vitale, M. et al., 2018. Impact of a Mediterranean Dietary Pattern and Its Components on Cardiovascular Risk Factors, Glucose Control, and Body Weight in People with Type 2 Diabetes: A Real-Life Study. *Nutrients*, 10(8), p.1067.
- Vosper, H. et al., 2001. The Peroxisome Proliferator-activated Receptor α Promotes Lipid Accumulation in Human Macrophages. *J. Biol. Chem.*, 276(47), pp.44258–44265.
- Wade, S.W. et al., 2014. Estimating prevalence of osteoporosis: examples from industrialized countries. *Archives of Osteoporosis*, 9(1), p.182.
- Wakabayashi, I., 2018. Inverse association between excessive alcohol drinking and cardiometabolically healthy status in middle-aged men with and without overweight and obesity. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 12(1), pp.31–37.
- Walker, C. & Biasucci, L.M., 2018. Cardiovascular safety of non-steroidal anti-inflammatory drugs revisited. *Postgraduate Medicine*, 130(1), pp.55–71.
- Wang, L. et al., 2016. A model of health education and management for osteoporosis prevention. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 12(6), pp.3797–3805.
- Wang, Y. et al., 2014. Wnt and the Wnt signaling pathway in bone development and disease. *Frontiers in bioscience (Landmark edition)*, 19, pp.379–407.
- Ward, I.M. et al., 2014. Association of Statins and Risk of Fractures in a Military Health System. *Annals of Pharmacotherapy*, 48(11), pp.1406–1414.
- Warnick, G.R. et al., 1990. Estimating low-density lipoprotein cholesterol by the Friedewald equation is adequate for classifying patients on the basis of nationally recommended cutpoints. *Clinical Chemistry*, 36(1), pp.15–19.

- Watts, N.B. et al., 2017. National Osteoporosis Foundation 2008 Clinician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis and the World Health Organization Fracture Risk Assessment Tool (FRAX): What They Mean to the Bone Densitometrist and Bone Technologist. *Journal of Clinical Densitometry*, 11(4), pp.473-477.
- Weaver, C.M. et al., 1997. Quantification of Biochemical Markers of Bone Turnover by Kinetic Measures of Bone Formation and Resorption in Young Healthy Females. *Journal of Bone and Mineral Research*, 12(10), pp.1714-1720.
- Weaver, K.N. et al., 2014. Keutel syndrome: Report of two novel *MGP* mutations and discussion of clinical overlap with arylsulfatase E deficiency and relapsing polychondritis. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 164(4), pp.1062-1068.
- Weijmans, M. et al., 2015. Paternal or maternal history of cardiovascular disease and the risk of cardiovascular disease in offspring. A systematic review and meta-analysis. *International Journal of Cardiology*, 179, pp.409-416.
- Wheater, G. et al., 2013. The clinical utility of bone marker measurements in osteoporosis. *Journal of translational medicine*, 11(1), p.201.
- Whyte, M.P. et al., 2014. Juvenile Paget's Disease With Heterozygous Duplication In *TNFRSF11A* Encoding RANK. *Bone*, 68, pp.153-161.
- Williams, D. & Feely, J., 2002. Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Drug Interactions with HMG-CoA Reductase Inhibitors. *Clinical Pharmacokinetics*, 41(5), pp.343-370.
- Wimalawansa, S.J., 2000. Nitroglycerin Therapy Is as Efficacious as Standard Estrogen Replacement Therapy (Premarin) in Prevention of Oophorectomy-Induced Bone Loss: A Human Pilot Clinical Study. *Journal of Bone and Mineral Research*, 15(11),

pp.2240–2244.

- Wodarz, A. & Nusse, R., 1998. MECHANISMS OF WNT SIGNALING IN DEVELOPMENT. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 14(1), pp.59–88.
- Wong, P.K.K., Christie, J.J. & Wark, J.D., 2007. The effects of smoking on bone health. *Clinical Science*, 113(5), pp.233–241.
- Woo, S.-B. et al., 2006. Systematic Review: Bisphosphonates and Osteonecrosis of the Jaws. *Annals of Internal Medicine*, 144(10), p.753.
- Wu, P.-C. et al., 2014. Bone Turnover and Vascular Calcification M.-T. Liao, ed. *Journal of Nephrology & Therapeutics*, 4(4), p.171.
- Yamaguchi, T. et al., 2002. Plasma Lipids and Osteoporosis in Postmenopausal Women. *Endocrine Journal*, 49(2), pp.211–217.
- Yankelevitz, D.F. et al., 2016. The Association of Secondhand Tobacco Smoke and CT Angiography-Verified Coronary Atherosclerosis. *JACC: Cardiovascular Imaging*, 10(6), pp.652–659.
- Yuval Filmus, 2010. Two Proofs of the Central Limit Theorem. , pp.1–13.
- Zhang, M. et al., 2017. Influence of Mechanical Force on Bone Matrix Proteins in Ovariectomised Mice and Osteoblast-like MC3T3-E1 Cells. *In Vivo*, 31(1), pp.87–95.
- Zhao, R. et al., 2017. The Effectiveness of Combined Exercise Interventions for Preventing Postmenopausal Bone Loss: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Orthopaedic & Sports Physical Therapy*, 3, pp.1–28.
- Zhou, S. et al., 2008. Age-related intrinsic changes in human bone-marrow-derived mesenchymal stem cells and their differentiation to osteoblasts. *Aging Cell*, 7(3), pp.335–343.
- Zhu, D. et al., 2011. The appearance and modulation of osteocyte

marker expression during calcification of vascular smooth muscle cells. *PLoS ONE*, 6(5), p.19595.

Capítulo 10

ANEXOS

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del Proyecto: "ESTUDIO PILOTO SOBRE IMPACTO DE PERSONAL DEL EJERCICIO EN MOTIVACIÓN, EN CONSUMO DE FÁRMACOS, EN MARCADORES DE OSTEOPOROSIS Y DE ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR, Y EN CALIDAD DE VIDA EN MUJERES POSTMENOPÁUSICAS."

Investigador Principal: Dr. Antonio Cano
Servicio de Ginecología

Yo, Yolanda Martínez he sido informado
Cano, investigador del proyecto de investigación arriba mencionado, y declaro que:

- He leído la hoja de Información que se me ha entregado
- He podido hacer preguntas sobre el estudio
- He recibido respuestas satisfactorias a mis preguntas
- He recibido suficiente información sobre el estudio

Comprendo que mi participación es voluntaria
Comprendo que todos mis datos serán tratados confidencialmente
Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- Cuando quiera
- Sin tener que dar explicaciones
- Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

Autorizo a que las muestras obtenidas durante el proyecto de investigación sean utilizadas para fines científicos en otros proyectos de investigación que tengan por objeto el estudio de esta enfermedad y que hayan sido aprobados por el Comité de Ética de Investigación del Hospital Universitario Dr Peset de Valencia Sí No

Quiero que se me pida autorización previa para utilizar mis muestras biológicas en otros proyectos de investigación Sí No

Con esto doy mi conformidad para participar en este estudio,

Anexo I: Consentimiento informado del estudio "CARMEN".

 **GENERALITAT VALENCIANA**
CONSELLERIA DE SANEDAD UNIVERSAL Y SANEDAD PUBLICA

 **DEPARTAMENT CLÍNIC MALVA-ROSA**

Hospital Clínic Universitari

INFORME DEL COMITE ETICO DE INVESTIGACION CLINICA DEL HOSPITAL CLINIC UNIVERSITARI DE VALENCIA

Doña Cristina Gomis Gozalbo, Secretaria del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Clínic Universitari de Valencia

CERTIFICA

Que en este Comité, en su reunión de fecha 30 de marzo de 2017, y según consta en el acta de la misma, se han analizado los aspectos éticos y científicos relacionados al proyecto de investigación que lleva por título:

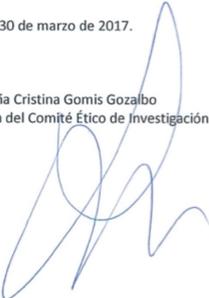
Lipidograma y metabolismo óseo. Estudio clínico y analítico en la cohorte "CARMEN"

Mismo que será llevado a cabo en el Servicio de Ginecología y Obstetricia y cuyo investigador principal es el Dr. Antonio Cano Sanchez , acordando que reúne las características adecuadas referentes a información a los pacientes y cumplimiento de los criterios éticos para la investigación médica y biomédica establecidos en la **Declaración de Helsinki** (Junio 1964, Helsinki, Finlandia) de la Asamblea Médica Mundial, y sus revisiones (Octubre 1975, Tokio, Japón), (Octubre 1983, Venecia, Italia), (Septiembre 1989, Hong Kong), (Octubre 1996, Somerset West, Sudáfrica), (Octubre 2000, Edimburgo), (Octubre 2008 Seúl, Corea) y (Octubre 2013 Fortaleza, Brasil) y en la **Declaración Universal sobre el Genoma Humano y los Derechos del Hombre de la UNESCO** y los acuerdos del **Protocolo Adicional del Consejo de Europa para la protección de los Derechos del Hombre y de la dignidad del ser humano frente a la aplicaciones de la biología y de la medicina** (París 12-1-1998, ratificado el 23-7-1999).

Lo que certifico a efectos oportunos del desarrollo de la Tesis Doctoral de Doña Irene Zolfaroli.

Valencia, 30 de marzo de 2017.

Fdo. : Doña Cristina Gomis Gozalbo
Secretaria del Comité Ético de Investigación Clínica



F-CE-GEva-15 v1.1 (23-Julio-2015) Dictamen proyecto Página 1 | 1

Anexo II: Dictamen favorable del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Clínic Universitario de Valencia.