



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**POSGRADO DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
MÉDICAS ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

**CAMPO DEL CONOCIMIENTO:
EPIDEMIOLOGÍA CLÍNICA**

T E S I S

**REVISIÓN SISTEMÁTICA COCHRANE: CALCIO Y VITAMINA D
PARA INCREMENTAR LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA EN
MUJERES PRE-MENOPÁUSICAS.**

**MODALIDAD DE GRADUACIÓN:
PRODUCCIÓN CIENTÍFICA**

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
DOCTORA EN CIENCIAS DE LA SALUD**

**P R E S E N T A:
LUCIA MÉNDEZ SÁNCHEZ**

**T U T O R A:
DRA. PATRICIA E. CLARK HOSPITAL INFANTIL
DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ**

**Ciudad de México, México
Diciembre 2017.**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	7
RESUMEN:.....	8
INTRODUCCIÓN.....	10
RESÚMEN DE PROYECTOS	11
❖ Comparación de diferentes dosis de Vitamina D en el recambio y estado óseo de infantes pre-término ingresados a la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales: Ensayo Clínico Aleatorizado.	11
Resumen:	11
❖ Desempeño diagnóstico de la Densitometría Dual de rayos X (DXA) y el Ultrasonido Cuantitativo (QUS) versus la Biopsia ósea metabólica, en la evaluación del estado óseo en pacientes pediátricos receptores de trasplante renal.....	15
Resumen	15
❖ Revisión sistemática Cochrane: Calcio y vitamina D para aumentar la densidad mineral ósea en mujeres pre menopáusicas.	18
MARCO TEÓRICO	41
Micro-arquitectura ósea, un sistema siempre dinámico.	42
Proceso de acreción ósea	43
Implicaciones de la vitamina D en el recambio óseo.....	46
Pico de masa ósea	49
Factores asociados al desarrollo de osteoporosis y alteraciones óseas.....	50
Métodos de evaluación del estado óseo.....	55
<i>Tabla 4. Biomarcadores óseos séricos y su relación con los niveles de vitamina D.</i>	58
Diferencias DXA y QUS.	64
Correlación DXA y QUS reportada en la literatura.....	65
PUBLICACIONES RELACIONADAS CON EL TEMA.....	66
❖ Comparación de diferentes dosis de Vitamina D en el recambio y estado óseo de infantes pre-término ingresados a la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales: Ensayo Clínico Aleatorizado.	66
❖ Desempeño diagnóstico de la Densitometría Dual de rayos X (DXA) y el Ultrasonido Cuantitativo (QUS) versus la Biopsia ósea metabólica, en la evaluación del estado óseo en pacientes pediátricos receptores de trasplante renal.....	70
❖ Revisión sistemática Cochrane: Calcio y vitamina D para aumentar la densidad mineral ósea en mujeres premenopáusicas (Protocolo).....	73
PUBLICACIONES NO RELACIONADAS CON EL TEMA Y OTRAS	
COLABORACIONES.....	74
ESTANCIAS Y CURSOS DE INVESTIGACIÓN	74
ACTIVIDADES DE DIFUSIÓN CIENTÍFICA.	75
FORMACIÓN DE RECURSOS HUMANOS.	75
BÚSQUEDA DE FONDOS.	76
CONCLUSIONES.....	77
REFLEXIONES SOBRE EL DOCTORADO	78
RECURSOS.	80
IMPLICACIONES ÉTICAS.	80
ANEXOS.....	81

Anexo I: Protocolo “Comparación de diferentes dosis de Vitamina D en el recambio y estado óseo de infantes pre-término ingresados a la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales: Ensayo Clínico Aleatorizado”.	81
Anexo II: Protocolo “Desempeño diagnóstico de la Densitometría Dual de rayos X (DXA) y el Ultrasonido Cuantitativo (QUS) versus la Biopsia ósea metabólica, en la evaluación del estado óseo en pacientes pediátricos receptores de trasplante renal [con número de acuerdo AA12-(CS/SCA/S0172/15)]”.	82
Anexo III: Revisión Sistemática Cochrane titulado: Calcium and vitamin D for increasing bone mineral density in premenopausal women.	83
Anexo IV: Vitamin D, not Iron, Is the Main Nutrient Deficiency in Pre-school and School-aged Children in Mexico City: A Cross-Sectional Study.	84
Anexo V: Deficiencia de vitamina D en la edad pediátrica. Una oportunidad de prevención.	85
Anexo VI: Brochure: importancia de la prevención de la deficiencia de vitamina d por medio de la suplementación a población vulnerable.	86
Anexo VII: Post-Renal Transplantation Bone Health in Children Evaluated by Means of Quantitative Ultrasound and Densitometry.	87
Anexo VIII: Comparison of International Reference Values for Bone Speed of Sound in Pediatric Populations: Meta-analysis. Journal of clinical densitometry : the official journal of the International Society for Clinical Densitometry.	88
Anexo IX: Biologic therapies and bone loss in rheumatoid arthritis.	89
Anexo X: Glutamina como coadyuvante en la recuperación de la fuerza muscular: revisión sistemática de la literatura.	90
Anexo XI: Obstrucción de la vía aérea por higroma quístico en un recién nacido (Airway obstruction due to cystic hygroma in a newborn).	91
Anexo XII: Hemorragia intracraneal secundaria a trauma obstétrico en recién nacidos.	92
Anexo XIII: Escleroterapia en malformaciones linfáticas infantiles: Revisión sistemática de la literatura.	93
Anexo XIV: Referencias bibliográficas.	94
Andersen R2008. Andersen R, Molgaard C, Skovgaard LT, Brot C, Cashman KD, Jakobsen J, Lamberg-Allasdt C, Ovesen L.. Eff ect of vitamin D supplementation on bone and vitamin D status among Pakistani immigrants in Denmark: a randomised double-blinded placebo-controlled intervention study. Br J Nutr 2008;100:197–207. [DOI: 10.1017/S000711450789430X]	94
Barger-Lux 2005 ^a . Barger-Lux MJ, Davies KM, Heaney RP. Calcium supplementation does not augment bone gain in young women consuming diets moderately low in calcium. Journal of Nutrition 2005;135(10):2362-6.	94
Islam 2010 ^a . Islam MZ, Shamim AA, Viljakainen HT, Akhtaruzzaman M, Jehan AH, Khan HU, et al. Effect of vitamin D, calcium and multiple micronutrient supplementation on vitamin D and bone status in Bangladeshi premenopausal garment factory workers with hypovitaminosis D: a double-blinded, randomised, placebo-controlled 1-year intervention. British Journal of Nutrition 2010;104(2):241-7.	94
Rourke 1998. Rourke K, Bowering J, Turkki P, Buckenmeyer P, Keller B,Sforzo G. Effeef of calcium supplementation on bone mineral density in female athletes. Nutrition Research 1998;18(5):775-83.	94

Shapses SA 2001, et al. Bone turnover and density in obese premenopausal women during moderate weight loss and calcium supplementation. <i>Journal of Bone & Mineral Research</i> 2001;16(7):1329-36. [Other: ; Other: <i>Journal of Bone and Mineral Research</i>]	94
Winters-Stone 2004 ^a . Winters-Stone KM, Snow CM. One year of oral calcium supplementation maintains cortical bone density in young adult female distance runners. <i>International Journal of Sport Nutrition & Exercise Metabolism</i> 2004;14(1):7-17.	94
Woo 2007. [Empty]	94
Referencias Adicionales	94
Bischoff-Ferrari 2009. Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Staehelin HB, Orav JE, Stuck AE, Theiler R, et al. Fall prevention with supplemental and active forms of vitamin D: a meta-analysis of randomised controlled trials. <i>BMJ</i> 2009;339:1-11. [DOI: 10.1136/bmj.b3692]	94
Borgström 2013. Borgström F, Lekander I, Ivergård M, Ström O, Svedbom A, Alekna V. The International Costs and Utilities Related to Osteoporotic Fractures Study (ICUROS)--quality of life during the first 4 months after fracture. <i>Osteoporosis International</i> 2013;24(3):811-23.	94
Cates 2008. Visual Rx [Computer program]. Cates C. Version 3. www.nntonline.net, 2008.	94
Deeks 2011. Deeks JJ, Higgins JPT, Altman DG. Chapter 9: Analysing data and undertaking meta-analyses. In: Higgins JP, Green S, editor(s). <i>Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions</i> Version 5.1.0 (updated March 2011). The Cochrane Collaboration, 2011. Available from handbook.cochrane.org.	95
Dunfield 2007. Dunfield L, Mierzwinski-Urban M, Hodgson A, Banks R. Diagnostic performance and cost effectiveness of technologies to measure bone mineral density in postmenopausal women. [Technology report number 94] Ottawa: Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health 2007.	95
Felsenberg 2005. Felsenberg D, Boonen S. The bone quality framework: determinants of bone strength and their interrelationships, and implications for osteoporosis management. <i>Clinical Therapeutics</i> 2005;27(1):1-11.	95
Ghogomu 2014. Ghogomu EA, Maxwell LJ, Buchbinder R, Rader T, Pardo Pardo J, Johnston RV, et al. Updated method guidelines for Cochrane musculoskeletal group systematic reviews and meta-analyses. <i>Journal of Rheumatology</i> 2014 Feb;41(2):194-205.	95
GRADEpro GDT 2016. GRADEpro GDT [Computer program]. Version accessed 4 November 2016. Hamilton (ON): GRADE Working Group, McMaster University, 2014.	95
Gupta 2010. Gupta R, Sharma U, Gupta N, Kalaivani M, Singh U, Guleria R. Effect of cholecalciferol and calcium supplementation on muscle strength and energy metabolism in vitamin D deficient Asian Indians: a randomised, controlled trial. <i>Clinical Endocrinology</i> 2010;73(4):445-51.	95
Hansen 1991. Hansen MA, Overgaard K, Riis BJ, Christiansen C. Role of peak bone mass and bone loss in postmenopausal osteoporosis: 12-year study. <i>BMJ</i> 1991;303:961-4.	95
Higgins 2011. Higgins JPT, Altman DG, Sterne JAC. Chapter 8: Assessing risk of bias in included studies. In: Higgins JP, Green S, editor(s). <i>Cochrane Handbook for</i>	

- Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0 (updated March 2011). The Cochrane Collaboration, 2011. Available from handbook.cochrane.org. 95
- Higgins 2011b.** Higgins JPT, Deeks JJ, Altman DG. Chapter 16: Special topics in statistics. In: Higgins JP, Green S, editor(s). Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0 (updated March 2011). The Cochrane Collaboration, 2011 Available from handbook.cochrane.org. 95
- Hochberg 1999.** Hochberg MC, Ross PD, Black D, Cummings SR, Genant HK, Nevitt MC, et al. Larger increases in bone mineral density during alendronate therapy are associated with a lower risk of new vertebral fractures in women with postmenopausal osteoporosis. Fracture Intervention Trial Research Group. Arthritis and Rheumatism Jun 1999;42(6):1246-54. 95
- IOM 2011.** Institute of Medicine. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Washington (DC): National Academies Press, 2011. [Other: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK56070/>]. 95
- Johnell 2004.** Johnell O, Kanis JA. An estimate of the worldwide prevalence, mortality and disability associated with hip fracture. Osteoporosis International 2004;15(11):897-902. 95
- Kanis 2007.** Kanis JA, on behalf of the World Health Organization Scientific Group (2007). Assessment of osteoporosis at primary health-care level. Technical Report. World Health Organization Collaborating Centre for Metabolic Bone Diseases, University of Sheffield, UK 2007;337. 96
- Lewiecki 2016.** Lewiecki EM, Binkley N, Morgan SL, Shuhart CR, Camargos BM, Carey JJ, et al. Best practices for dual-energy X-ray absorptiometry measurement and reporting: International Society for Clinical Densitometry Guidance. Journal of Clinical Densitometry 2016;19(2):127-40. [PubMed: 27020004] 96
- Malihi 2016.** Malihi Z, Wu Z, Stewart AW, Lawes CM, Scragg R. Hypercalcemia, hypercalciuria, and kidney stones in long-term studies of vitamin D supplementation: a systematic review and meta-analysis. American Journal of Clinical Nutrition 2016;104(4):1034-51. 96
- Moyer 2013.** Moyer VA, on behalf of the U.S. Preventive Services Task Force. Vitamin D and calcium supplementation to prevent fractures in adults: U.S. Preventive Services Task Force recommendation statement. Annals of Internal Medicine 2013 May;158(9):691-6. 96
- Murad 2011.** Murad MH, Elamin KB, Abu-Elnour NO, Elamin MB, Alkatib AA, Fatourechi MM, et al. Clinical review: the effect of vitamin D on falls: a systematic review and meta-analysis. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 2011;96(10):2997-3006. 96
- NIH 1993.** National Institutes of Health. Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. American Journal of Medicine 1993;94:646-50. 96
- Papaioannou 2010.** Papaioannou A, Morin S, Cheung A, Atkinson S, Brown JP, Feldman S, et al. 2010 clinical practice guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis in Canada: summary. Canadian Medical Association Journal 2010;182(17):1829-30. 96
- Plot Digitizer 2016.** Plot Digitizer [Plot Digitizer] [Computer program]. Free Software Foundation. Version Accessed 14 November 2016. Not available: Free

Software Foundation, Created: June 3, 2001; Modified: October 24, 2015. [Other: plotdigitizer.sourceforge.net]..... 96

Review Manager 2014. Review Manager (RevMan) [Computer program]. Version 5.3. Copenhagen: Nordic Cochrane Centre, The Cochrane Collaboration, 2014. 96

Rizzoli 2002. Rizzoli R. Two-year results of once-weekly administration of alendronate 70 mg for the treatment of postmenopausal osteoporosis. *Journal of Bone and Mineral Research* 2002;17(11):1988-96. 96

Schünemann 2011. Schünemann HJ, Oxman AD, Vist GE, Higgins JPT, Deeks JJ, Glasziou P, et al. Chapter 12: Presenting results and ‘Summary of findings’ tables. In: Higgins JP, Green S, editor(s). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* Version 5.1.0 (updated March 2011). The Cochrane Collaboration, 2011. Available from handbook.cochrane.org. 96

Shea 2005. Shea BJ, Adachi JD, Cranney A, Griffith L, Guyatt G, Hamel C, et al. Calcium supplementation on bone loss in postmenopausal women. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2005, Issue 4. Art. No.: CD004526. DOI: 10.1002/14651858.CD004526.pub2. 96

Sterne 2011. Sterne JAC, Egger M, Moher D. Chapter 10: Addressing reporting biases. In: Higgins JP, Green S, editor(s). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* Version 5.1.0 (updated March 2011). The Cochrane Collaboration, 2011. Available from handbook.cochrane.org. 97

USPSTF 2016. United States Preventive Services Task Force. Final Research Plan for Vitamin D, Calcium, or Combined Supplementation for the Primary Prevention of Fractures in Adults: Preventive Medication. www.uspreventiveservicestaskforce.org/Page/Document/final-research-plan/vitamin-d-calcium-or-combined-supplementation-for-the-primary-prevention-of-fractures-in-adults-preventive-medication (accessed 18 April 2017). 97

Winzenberg 2006. Winzenberg TM, Shaw KA, Fryer J, Jones G. Calcium supplementation for improving bone mineral density in children. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2006, Issue 2. Art. No.: CD005119. DOI: 10.1002/14651858.CD005119.pub2. 97

Winzenberg 2008. Winzenberg T, Jones G. Chapter 16: Calcium and other nutrients during growth. In: Editors (Wiley-Blackwell, UK) 2013., editor(s). *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*. 8th edition edition. American Society for Bone and Mineral Research, 2008:82-86. 97

Winzenberg 2010. Winzenberg TM, Powell S, Shaw KA, Jones G. Vitamin D supplementation for improving bone mineral density in children. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2010, Issue 10. Art. No.: CD006944. DOI: 10.1002/14651858.CD006944.pub2. 97

Zhu 2010. Zhu K, Austin N, Devine A, Bruce D, Prince RL. A randomised controlled trial of the effects of vitamin D on muscle strength and mobility in older women with vitamin D insufficiency. *Journal of the American Geriatrics Society* 2010;58(11):2063-8. 97

REFERENCIAS TESIS..... 98

ABREVIATURAS	
OMG	Organización mundial de la salud

DXA	Densitometría dual de rayos x
DXA-C	Densitometría dual de rayos x medición en cadera (cuello de fémur).
SOS	Velocidad del sonido
QUS	Ultrasonido cuantitativo
QUS-t	Ultrasonido cuantitativo evaluado en el extremo distal del radio.
QUS-r	Ultrasonido cuantitativo evaluado en el tercio medio de la tibia.
IMC	Índice de masa corporal
DS	Desviación Estándar
PMO	Pico de masa ósea
BUA	Banda ancha del sonido
T-score	T point of the estimation of calculated osteoporosis risk estimation
Z-score	Ideal value Z of the mineral densitometry.
UCIN	Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales
HIMFG	Hospital Infantil de México Federico Gómez

AGRADECIMIENTOS

Mi profundo agradecimiento a mi casa de estudios la Universidad Nacional Autónoma de México, que por trece años me ha brindado cobijo y conocimiento. Sin olvidar al Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Médicas, Odontológicas y de la Salud. A el Dr. Edgar Zenteno, Lic. Alba Ochoa Cabrera, Lic. Aleithia Manzanarez Villegas, Lic. Aida Martínez Zúñiga, Lic. Mariela Alquicira Velázquez, por su siempre apoyo y entrega para sacar adelante al programa y a todos los alumnos que lo integramos.

A CONACyT mi gratitud por siempre darme sustento y apoyo durante el estudio de mis posgrados.

Al Hospital Infantil de México Federico Gómez por ser una institución que impulsa el conocimiento día a día.

Todo mi respeto a los miembros de mi comité tutorial quien me acompañaron y formaron durante estos cuatro años, mi gratitud para el Dr. Mario E. Flores Aldana y al Dr. Juan O. Talavera.

A mi actual comité evaluador de examen doctoral mi admiración, respeto y cariño pues me han aportado enseñanzas en estos seis años de posgrado que he tenido el honor de cursar: Dra. María Luisa Peralta, Dra. Guadalupe García de la Torre y Dra. Eloísa Colín.

Y finalmente mil gracias a mi tutora, Dra. Patricia E. Clark, por ser pilar de la investigación en nuestro país, no solo para con mi persona, sino para todo el alumnado que tenemos el honor de recibir sus consejos, impulso y apoyo, porque siempre se dio un tiempo para guiarnos académica y profesionalmente, pues con visión siempre resolutiva encontramos la forma de hallar la factibilidad en los proyectos que realizamos, plantear nuevas alianzas e incluso crear líneas de investigación paralelas que permitieron al día de hoy poder adquirir todas las aptitudes necesarias para formarme como Doctora en Ciencias de la Salud, a ella mi eterno cariño.

RESUMEN:

Se elige la opción de titulación por producción académica ya que dos de los proyectos de investigación propuestos y registrados, no llegaron a término por problemas no relacionados con la autora de la tesis como se verá continuación. El tercer proyecto, la revisión Cochrane de la cual ya se ha publicado el protocolo, se sigue trabajando y se publicaran los resultados en breve. Con el objetivo de terminar el doctorado en tiempo y forma se presentan los protocolos de dichas propuestas, el protocolo Cochrane, avances y las publicaciones relacionadas con el tema, además de la producción científica derivada de los 4 años del doctorado.

Los tres protocolos escritos durante el doctorado son:

- I. Comparación de diferentes dosis de Vitamina D en el recambio y estado óseo de infantes pre-término ingresados a la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales: Ensayo Clínico Aleatorizado.
- II. Desempeño diagnóstico de la Densitometría Dual de rayos X (DXA) y el Ultrasonido Cuantitativo (QUS) versus la Biopsia ósea metabólica, en la evaluación del estado óseo en pacientes pediátricos receptores de trasplante renal [con número de acuerdo AA12-(CS/SCA/S0172/15)].
- III. Revisión sistemática Cochrane: Calcio y vitamina D para incrementar la densidad mineral ósea en mujeres pre menopáusicas (Calcium and vitamin D for increasing bone mineral density in premenopausal women).

Resultados:

Como resultado de estos tres proyectos y como parte de mi formación en el Doctorado, se publicaron 11 artículos nacionales e internacionales con un factor de impacto que va de los 1.3 a 6.1 puntos.

Conclusiones:

La presentación de ésta tesis resume el alcance de los puntos clave esperados en el perfil de egreso del estudiante de doctorado según el plan de estudio y normas operativas del programa: Conocimientos, habilidades y actitudes para resolver problemas profesionales; Realizar investigación original de forma independiente y/o coordinada con grupos de investigación

multidisciplinaria con colegas profesionales de la salud; Habilidades para analizar de manera estratégica y crítica la literatura científica.

Adicionalmente de forma directa e indirecta durante este periodo he contribuido a la formación de recursos humanos de alto nivel y a la difusión de la investigación científica.

Se resume en esta tesis la experiencia de este periodo de formación que refleja el día a día del investigador.

INTRODUCCIÓN

La presente tesis conjunta tres protocolos y la producción científica derivada de ellos, todos enfocados al sistema musculo esquelético con particular énfasis en la biología de hueso y la acción de nutrientes como la vitamina D y calcio sobre el mismo. Para fines de titulación se ha elegido por la opción de *tesis doctoral con producción científica*.

De forma particular en los dos primeros protocolos la factibilidad de terminar en tiempo y forma se vio comprometida por circunstancias que brevemente se narran a continuación:

- I. “*Comparación de diferentes dosis de Vitamina D en el recambio y estado óseo de infantes pre-término ingresados a la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales: Ensayo Clínico Aleatorizado*”. A pesar de ser un protocolo relevante para los neonatos, este proyecto no pudo ser llevado a cabo por la dificultad en la exportación y disponibilidad de la vitamina D en spray. Este protocolo , fue registrado ante el programa y actualmente se encuentra registrado ante comités de investigación, ética y bioética hospitalaria.
- II. “Desempeño diagnóstico de la Densitometría Dual de rayos X (DXA) y el Ultrasonido Cuantitativo (QUS) versus la biopsia ósea metabólica, en la evaluación del estado óseo en pacientes pediátricos receptores de trasplante renal” [con número de acuerdo AA12-(CS/SCA/S0172/15)]. Se suspende la inclusión de pacientes debido a que en el análisis de las muestras no fue posible corroborar los hallazgos de la hipótesis además de problemas técnicos del análisis. Se decide terminar con este trabajo y se publican datos basales del estudio.

Por lo anterior se registra un tercer proyecto, estrechamente vinculado los dos anteriores y que por su naturaleza ha sido desarrollado de forma paralela en el periodo del doctorado :

- III. “*Suplementación de Calcio y vitamina D en el incremento la densidad mineral ósea en mujeres pre menopáusicas. Revisión sistemática Cochrane.*

El entrenamiento y realización de este proyecto es parte de una colaboración internacional e interinstitucional de la UNAM con el con Institute of Population Health de la Universidad de Ottawa, Canada .

A continuación se narra de forma breve el contenido de los proyectos que le dieron precedente a la presente tesis.

RESÚMEN DE PROYECTOS

❖ Comparación de diferentes dosis de Vitamina D en el recambio y estado óseo de infantes pre-término ingresados a la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales: Ensayo Clínico Aleatorizado.

Resumen:

La población neonatal pretérmino presenta un riesgo etiológico de no alcanzar un desarrollo adecuado, derivado de su inmadurez y falta de acumulación mineral ósea intrauterina, ya que el tercer trimestre del embarazo es la fase más importante para esta acumulación nutricional. Este riesgo aumenta si el neonato presenta bajo peso al nacer o requiere de cuidado médico intensivo; de ser el caso, derivado de ciertas condiciones premorbidas existe predisposición a sufrir alteraciones del metabolismo óseo que resultan a su vez en afecciones a su desarrollo. Independientemente de la causa, en neonatos pretérmino sanos son reportadas cerca de un 2% de fracturas derivadas del deterioro óseo y se desconoce cuál es la prevalencia en pretérminos ingresados a la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN). Un coadyuvante en el tratamiento de pacientes que tienen alteraciones en el hueso, son la administración de dosis altas de vitamina D₃ (calciferol) a dosis de 400 Unidades internacionales (UI) diarias, aceptándose megadosis sólo para pacientes con raquitismo (padecimiento que deriva de la deficiencia de vitamina D) con dosis que van desde las 1000 UI a las 10,000 UI. Existen diversos estudios que evalúan la suplementación con vitamina D. Sin embargo, no existe consenso de cuál es la dosis óptima con efecto positivo en el metabolismo óseo.

Hasta ahora, la población que conjunta la prematuridad con múltiples factores de comorbilidad asociados a su estancia en la UCIN no cuentan con una terapia de suplementación que apoye y proteja al metabolismo y estructura ósea a corto y largo plazo, mucho menos han sido probadas dosis de vitamina D superiores a las contenidas en la fórmula o alimentación parenteral de rutina (40 UI/día); como tratamiento o contemplando una administración oral en presentación de aerosol (absorción en mucosa bucal), ello como un método preventivo a desordenes óseos o en el peor de los casos presencia de fracturas.

Objetivo: Determinar la efectividad de dos diferentes dosis de vitamina D (vía oral en aerosol de 400 UI/día y 1000 UI /día durante tres meses) en el metabolismo óseo de neonatos pretérmino ingresados a la UCIN del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Métodos:

Diseño del estudio. Ensayo clínico aleatorizado triple ciego. Donde se evaluarán a pacientes ingresados a la UCIN que cumplan con criterios de inclusión (edad gestacional <37 semanas, bajo peso al nacer $>1.0\text{k} \leq 1.5\text{k}$), firma de consentimiento informado por los padres o tutor, tomando como criterios de exclusión el padecer neoplasias, enfermedades o malformaciones congénitas, anomalías cromosómicas o enfermedades del sistema circulatorio. Las variables clínicas y de tratamiento se obtendrán del expediente clínico y por cuestionario de factores maternos y gestacionales asociados a deficiencia de vitamina D aplicado a la madre del paciente.

Se aplicarán dosis de 400 UI o 1000 UI diarias de concentrado grado farmacológico de vitamina D₃ Biocare ® D.Day en aerosol con absorción en mucosa bucal. Los frascos se codificarán y cegarán por personal capacitado independiente a la investigación y se asignará un frasco por paciente, conteniendo en éste las dosis de su tratamiento completo. Con el programa “[Research Randomizer Form v4.0](#)” se aleatorizará a los pacientes hacia la opción terapéutica que le corresponda. La administración se realizará por residentes de la UCIN y de acuerdo a la Guía de buenas prácticas clínicas. Se tomará muestra sanguínea (un total de 4 muestras de 3ml; por todo el periodo de suplementación que incluye estado basal y cada mes durante tres meses), con lo que se analizarán concentraciones de 25-OH-D, calcio, fosfatasa alcalina, fósforo, paratohormona (PTH por sus siglas en inglés) al igual que deoxipiridinolina en muestras de 3 ml de orina [en el estado basal y cada mes] (Figura 20).

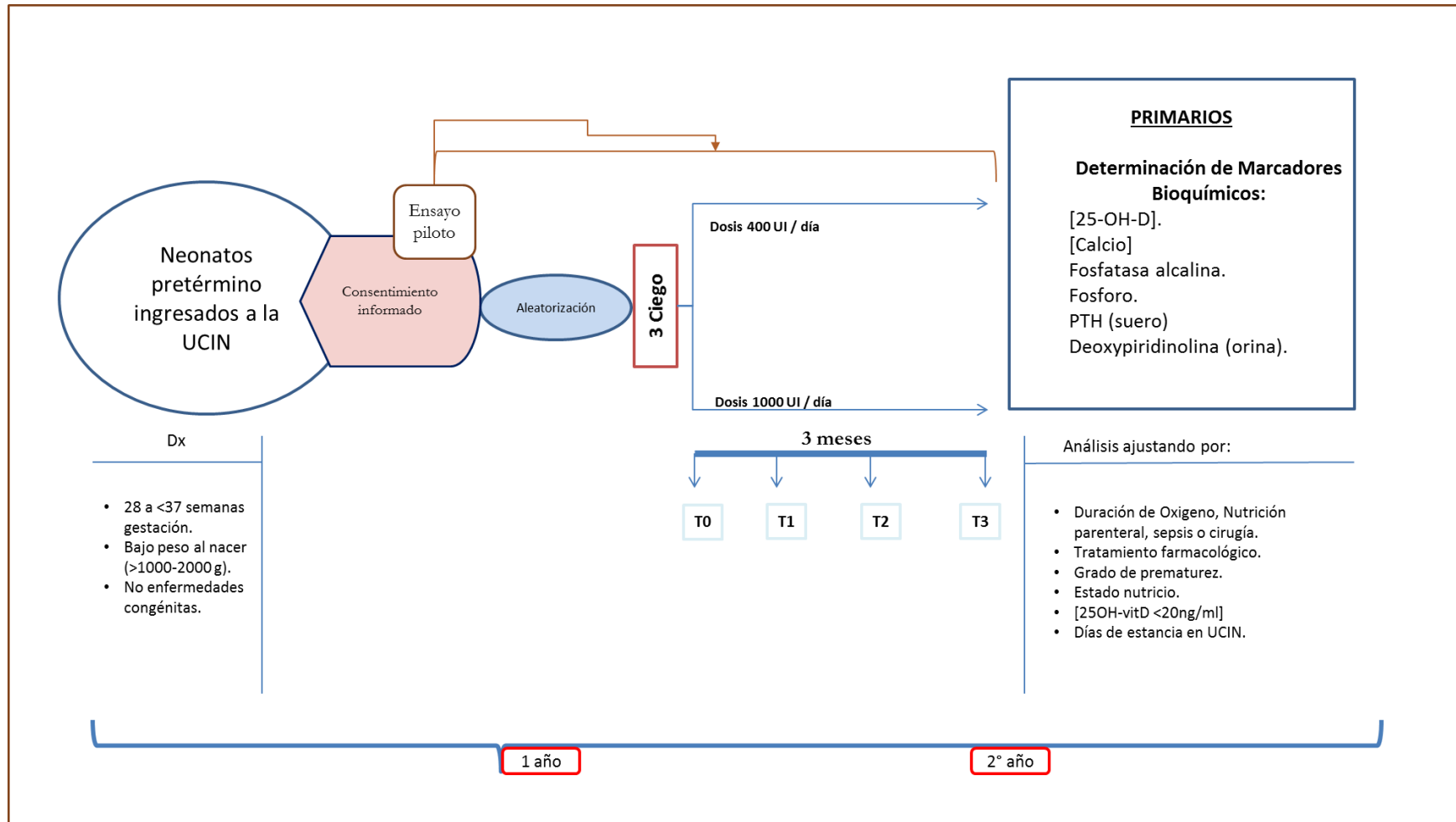


Figura 20. Diagrama del Ensayo Clínico Aleatorizado: triple ciego. “Efectividad de dos diferentes dosis de suplementación con vitamina D en las concentraciones séricas de 25-OH-D en niños pretérmino ingresados UCIN

El número de pacientes requerido para demostrar un efecto positivo de suficiencia en los niveles séricos de 25-OH-D, se calculó usando la fórmula de diferencia de proporciones, basados en el estudio de la *Dra. Sina Gallo 2013*, con un alpha de 0.05 y un poder estadístico del 80%. Se requiere de la inclusión de 75 pacientes por brazo de tratamiento, es decir 150 pacientes para la realización del presente ensayo clínico (asumiendo una mortalidad del 11.52% y 20% adicional por las pérdidas metodológicas que implica éste diseño.

Se realizará estadística descriptiva de cada variable y se establecerá relación entre las diferentes concentraciones desde el estado (correlación de Pearson). Se determinaran riesgos relativos atribuidos a la dosificación ajustando por factores clínicos asociados a su estancia en la UCIN por medio de una regresión lineal. De ser pertinente se realizarán curvas de supervivencia y establecerá un modelo multivariado con los biomarcadores del estado óseo, a partir de las diferentes dosis de vitamina D y el estado de salud del paciente.

Durante la realización del ensayo se realizará monitoreo de posibles reacciones adversas atribuidas a la aplicación del tratamiento, rastreando su presencia reportada en el expediente clínico y en seguimiento a la NOM-220-SSA1-2002.

Palabras clave: *Vitamina D, Neonatos, Unidad de cuidados intensivos neonatales, DXA total, QUS.*

Este proyecto no pudo llevarse a cabo por problemas en el desabasto en la presentación de la molécula y problemas de importación del producto. Al verse comprometida la factibilidad de terminar en tiempo y forma, este proyecto se abandona, el protocolo en extenso puede revisarse en el **Anexo 1**.

❖ **Desempeño diagnóstico de la Densitometría Dual de rayos X (DXA) y el Ultrasonido Cuantitativo (QUS) versus la Biopsia ósea metabólica, en la evaluación del estado óseo en pacientes pediátricos receptores de trasplante renal**

Resumen

La enfermedad renal crónica impacta en el sistema mineral óseo, inclusive aun después de un trasplante renal exitoso. La evaluación y el diagnóstico definitivo de osteodistrofia renal (ODR) requiere de su análisis mediante una biopsia ósea metabólica, considerada la técnica estándar de oro, la cual permite establecer un diagnóstico específico, normar conductas terapéuticas y obtener información pronóstica del paciente. Sin embargo, implica procedimientos de anestesia general (en pediatría) y experiencia de cirujanos especialistas, lo que dificulta su aplicación en la población blanco específica.

Existen métodos no invasivos para la evaluación de la arquitectura ósea, entre estos destacan la densitometría dual de rayos X (DXA) y el ultrasonido cuantitativo (QUS). Pese a que su empleo en la práctica clínica se encuentra en aumento, aún se desconoce el desempeño diagnóstico de ambos instrumentos en comparación con la biopsia ósea metabólica.

Objetivo:

Estimación de la precisión diagnóstica del estado óseo de los métodos no invasivos DXA y QUS versus la biopsia ósea metabólica, en pacientes pediátricos a tres meses de trasplante renal exitoso.

Métodos:

Diseño del estudio. Prueba diagnóstica (Figura 21).

Población de estudio: Pacientes pediátricos (5 a 17 años), sometidos a un primer trasplante renal exitoso (tres meses después, con diagnóstico de función renal), en el Hospital Infantil de México Federico Gómez.

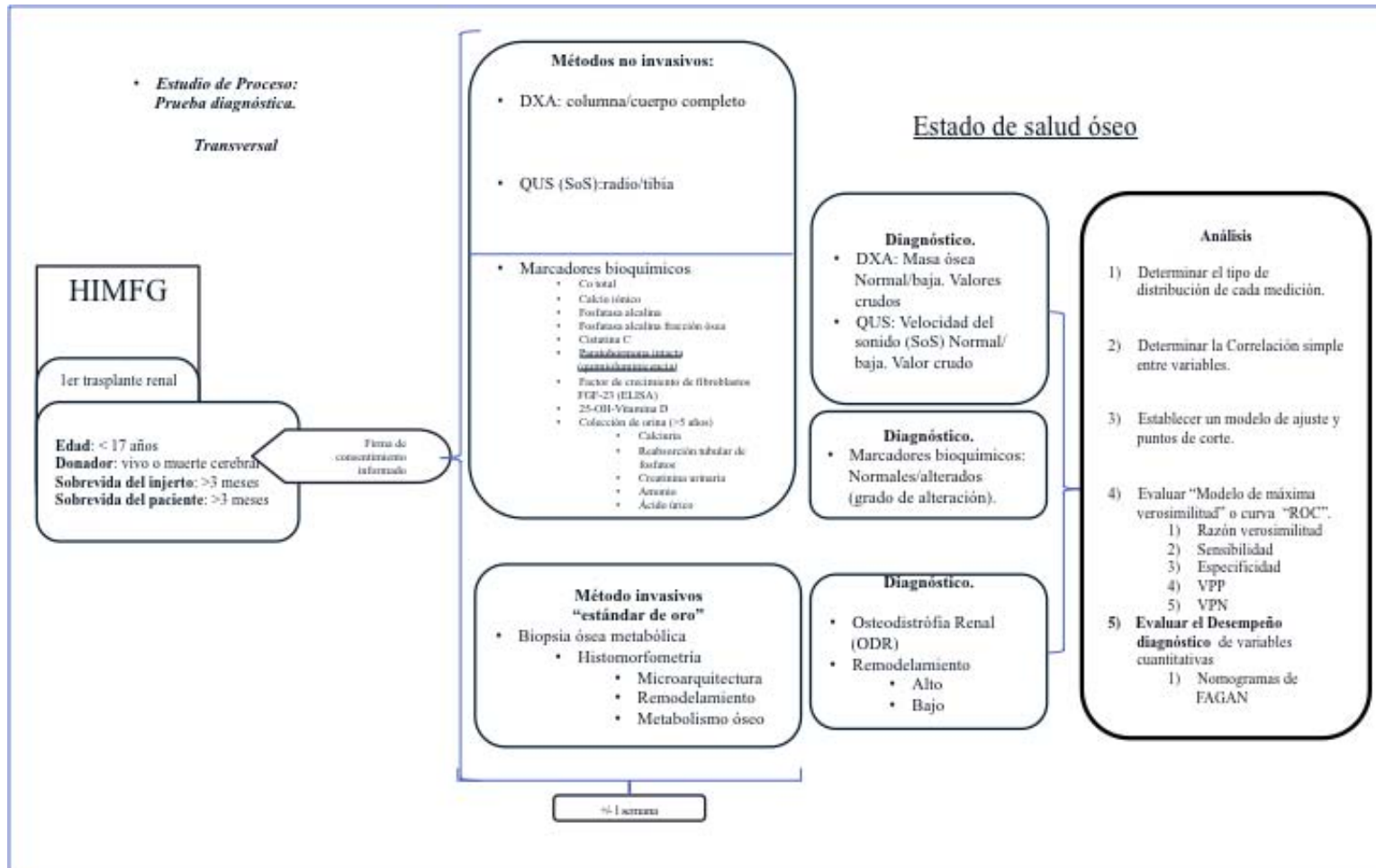


Figura 21. Estrategia de estudio. Esquema general del procedimiento a seguir durante la ejecución del estudio, desde el reclutamiento de los pacientes hasta el análisis de los resultados.

Plan de análisis estadístico: Se realizara estadística descriptiva, dependiendo del tipo de distribución de las variables cuantitativas se determinarán las medidas de tendencia central y de dispersión para variables con distribución normal y libre distribución. Análisis bivariado: Análisis de correlación de Pearson para todos los métodos no invasivos versus biopsia ósea metabólica. A las variables cuantitativas se les realizará curvas ROC para establecer los puntos de corte de mayor razón de verosimilitud y posteriormente calcular la sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos; así como las razones de verosimilitud, utilizando en IC 95%. Con el fin de evaluar la utilidad clínica se graficarán los nomogramas de Fagan. El análisis multivariado se realizará con regresión logística para evaluar relación entre ODR (alto y bajo remodelado). Se considerará una $p < 0.05$ como estadísticamente significativa.

Palabras clave: *Prueba diagnóstica, DXA, QUS, Biopsia ósea metabólica, Alto/bajo remodelamiento, Pediatría, Trasplante renal.*

Al respecto de este proyecto, la inclusión de más pacientes fue suspendida, debido a problemas en el análisis de las muestras, lo que significo un atraso en la entrega de resultados al paciente y por tanto un beneficio directo en su terapia, comprometiendo la ética de nuestro proyecto. Motivo por el cual la factibilidad de terminar en tiempo se vio comprometida. De este proyecto deriva la publicación de un artículo original [A.L. González-Jorge, et all 2016], en el que se evalúa la salud ósea de 35 pacientes pediátricos (13.9 ± 3.9 años de edad) con la técnica de DXA (columna y cuerpo total) y QUS (radio); estableciendo la correlación entre diagnósticos clínicos y correlación estadística entre estos instrumentos (publicación en extenso disponible en Anexo X).



❖ **Revisión sistemática Cochrane: Calcio y vitamina D para aumentar la densidad mineral ósea en mujeres pre menopáusicas.**

[Calcium and vitamin D for increasing bone mineral density in premenopausal women]

Méndez-Sánchez L, Clark P, López-Casimiro K, Winzenberg TM, Tugwell P, Correa P, Costello RB.

Resumen de resultados pre-eliminares.

Antecedentes

La osteoporosis (OP) es una condición en la que los huesos se vuelven frágiles debido a la baja densidad mineral ósea (DMO) y el deterioro en su micro arquitectura, trayendo como principal consecuencia a largo plazo la aparición de fracturas por fragilidad principalmente en cadera, columna y muñeca ([NIH 1993](#)), como resultado de fuerzas mecánicas que normalmente no darían lugar a una fractura, las cuales conllevan a un exceso de mortalidad, morbilidad y deterioro de la calidad de vida.

Se estima que la OP afecta a más de 200 millones de personas en el mundo y 75 millones de ellas se encuentran en países en desarrollo (por ejemplo Japón, USA y Europa) ([Kanis 2007](#)). En el año 2000 se registraron 9 millones de nuevas fracturas por fragilidad, incluyendo 1.6 millones de ellas en cadera, 1.7 millones en muñeca y 4 millones en columna ([Johnell 2004](#)). Por lo cual resulta una preocupación importante de salud pública en todo el mundo ([Borgström 2013](#); [Papaioannou 2010](#)).

Actualmente se están sumando esfuerzos en la prevención de OP a lo largo de la vida, para mejorar el pico de masa ósea en la infancia y la edad adulta temprana con la finalidad de reducir la pérdida ósea relacionada con la edad durante la vida adulta ([Hansen 1991](#)).

Existen factores de estilo de vida que pueden ayudar a la prevención de esta enfermedad como lo son el ejercicio y la dieta saludable, en este último se incluye nutrientes clave para el hueso como el calcio y la vitamina D ([IOM 2011](#)). Ambos pueden obtenerse a través de la dieta y suplementos alimenticios que comúnmente se prescriben cuando se diagnostica osteoporosis por lo general en mujeres posmenopáusicas o para su prevención ([Shea 2005](#)).

En población pediátrica con niveles séricos normales de vitamina D, se carece de evidencia que sustente su efecto clínico de la suplementación con calcio sobre las áreas: cuello de fémur o columna lumbar, pero si se detecto efecto en contenido mineral óseo total (CMO) y DMO de miembros superiores ([Winzenberg 2006](#)) este efecto se replica en CMO, DMO de cadera, BMD de fémur pero si tiene efecto en DMO de columna lumbar tras la suplementación con vitamina D en esta población ([Winzenberg 2010](#)).

La evidencia resulta polémica al referir efectividad en mujeres premenopáusicas sanas ([Murad 2011](#)) argumentando que es preferible la combinación de calcio y vitamina D para poder observar un efecto clínico relevante. Aunado a las recomendaciones de precaución por la presencia de eventos adversos asociados a daño cardiovascular (400 UI de vitamina D y más de 1000 mg de calcio) ([Moyer 2013](#)). Adicionalmente su asociación con hipercalcemia e hipercalciuria tras la suplementación con vitamina D ([Malihi 2016](#)). Sin embargo, a la par se ha publicado evidencia a favor del efecto de la vitamina D (700 UI) en la prevención de riesgo de caídas e incremento de fuerza muscular ([Bischoff-Ferrari 2009](#); [Gupta 2010](#); [Zhu 2010](#) y [Bischoff-Ferrari 2009](#)) en población mayor de 65 años.

Este trabajo de Revisión sistemática y meta-análisis se enfocó en buscar y presentar la evidencia publicada hasta el momento sobre el efecto de los suplementos de calcio y / o vitamina D en la densidad mineral ósea de mujeres pre-menopáusicas sanas.

Objetivos

El objetivo principal fue evaluar el beneficio/daño y eficacia de la suplementación con calcio y vitamina D (solo o en combinación), para aumentar la densidad ósea en mujeres premenopáusicas sanas.

Metodología

Esta revisión sistemática y meta-análisis fue realizado acorde a las guías y manuales de procedimientos del grupo musculo esquelético Cochane Canadá ([Ghogomu 2014](#)).

Tipos de estudios: Se incluyeron ECA que reportados en texto completo sin restricción de lenguaje. Ensayos enfocados en comparar la eficacia de la suplementación con calcio y/o vitamina D vs placebo, por un período de tratamiento igual o mayor a tres meses.

Tipos de participantes: Se incluyeron ECA en mujeres premenopáusicas sanas de 18 a 45 años, con o sin diagnóstico de deficiencia de vitamina D. Los resultados debían incluir la densidad mineral ósea (DMO), el contenido mineral óseo (BMC) y de ser pertinente reporte de eventos adversos. Definiéndose sanas como la condición conocida no de padecer osteoporosis, osteopenia o alguna enfermedad crónica, condición cardiovascular o autoinmune, enfermedad inflamatoria (por ejemplo: artritis reumatoide, fibromialgia, esclerosis múltiple, lupus eritematoso sistémico, diabetes mellitus o asma).

Se excluyeron estudios enfocados a mujeres embarazadas o lactando, estudios con pacientes predispuestos a desarrollar OP secundaria por una condición médica como el uso de corticoides esteroideos. Se incluyeron estudios con población masculina solo en el caso de que los datos estuvieran analizados por sexo.

Tipos de intervenciones: Se incluyeron ensayos con las siguientes tres comparaciones:

1. Calcio vs. placebo
2. Vitamina D vs. placebo
3. Calcio + vitamina D vs. placebo

Se excluyeron ensayos con un tratamiento menor a tres meses. Del mismo modo se excluyeron ECA con co-intervenciones con terapias anti-osteoporosis así como bifosfonatos, terapias con hormonas de remplazo, hormona paratiroidea, moduladores selectivos del receptor estrogénico y ranelato de estronio.

Tipo de medidas de resultado evaluadas

⊕ Medidas principales

1. DMO cadera total
2. DMO columna lumbar
3. Calidad de vida
4. Fracturas vertebrales
5. Fracturas no vertebrales
6. Abandono por eventos adversos
7. Eventos adversos serios (por ejemplo hospitalización, evento que resulte en discapacidad o muerte)

⊕ Medidas secundarias

1. Recolección de todos los reportes de eventos adversos

Metodos de búsqueda e identificación de estudios

Métodos de búsqueda

Se diseñaron estrategias de búsqueda (Apendice III) y realizaron en las siguientes bibliotecas electrónicas:

- ⊕ CENTRAL, Cochrane Library vía Wiley incluyendo CENTRAL
- ⊕ Bases de datos de revisiones de efectos (DARE)
- ⊕ MEDLINE vía Ovid (1946 hasta la actualidad)
- ⊕ Embase - Ovid (1947 hasta la fecha).
- ⊕ Clinical trials en clinicaltrials.gov y el portal de la organización mundial de la salud (OMS) (www.who.int/ictrp/en/).

Recolección y análisis de datos

Dos revisores (LM-S y PC) seleccionaron de forma independiente los títulos y resúmenes de todos los estudios potencialmente relevantes. Se realizó proceso de selección adicional en el listado de referencias bibliográficas incluidas en los estudios seleccionados. Los datos de la selección final se codificaron y registraron a detalle su procedencia para completar su descripción en el diagrama de flujo PRISMA (Figura a continuación). Se realizó el mismo proceso segado para la extracción de la plataforma de datos con los estudios incluidos y excluidos. Utilizamos un software específico ([Plot Digitizer 2016](#)) para extraer datos de gráficos o figuras (estos datos también se extrajeron por duplicado). Uno de los revisores (LM-S) ingreso los datos al programa Review Manager ([Review Manager 2014](#)).

Evaluación del riesgo de sesgo en los estudios incluidos

Dos revisores (LM-S y PC) evaluaron de forma independiente el riesgo de sesgo para cada estudio utilizando los criterios descritos en el Manual Cochrane de Revisiones Sistemáticas de Intervenciones ([Higgins 2011](#)). Los desacuerdos se resolvieron mediante discusión o involucrando a un tercer autor (PT o L-CK). Se evaluó el riesgo de sesgo según los siguientes dominios ([Assessment of risk of bias in included studies](#)):

1. Generación de secuencia aleatoria (sesgo de selección).
2. Ocultamiento de la asignación (sesgo de selección).
3. Cegamiento de participantes y personal (sesgo de desempeño).
4. Cegamiento de la evaluación de resultados (sesgo de detección).
5. Datos de resultados incompletos (sesgo de desgaste).
6. Informe selectivo de los resultados (sesgo de notificación).

Calificando cada fuente potencial de sesgo como riesgo alto, bajo o poco claro, y proporcionado en la tabla "Riesgo de sesgo".

El resumen de hallazgos, medición del efecto, unidades de análisis evaluadas, manejo de datos ausentes ("missing data"), evaluación de la heterogeneidad ([Deeks 2011](#)), reporte de sesgos, síntesis de datos (de acuerdo al capítulo 12 del manual Cochrane [Schünemann 2011](#)), así como sub-análisis por dosis, intervención y tiempo de suplementación) se hicieron acorde al manual de métodos del grupo musculo esquelético Cochrane protocolo publicado previamente (Anexo III).

El resumen de hallazgos y su análisis se desarrollo de acuerdo al manual Cochrane capitulo 11 y 12 ([Higgins 2011](#); [Schünemann 2011](#)), así como el uso del programa [GRADEpro GDT 2016](#) y se prsentan los resultados siguiendo la sección de medición del efecto de tratamiento (["Summary of Findings" Measures of treatment effect](#)).

RESULTADOS

Se evaluaron un total de 6313 títulos de los cuales se pre-seleccionaron 109 resúmenes, solo 45 publicaciones fueron seleccionadas para su evaluación en extenso (éste incluyo una búsqueda manual en revisiones sistemáticas relacionadas así como una selección dentro de la bibliografía citada en los estudios incluidos); finalmente se presenta un total de 7 estudios incluidos mismos que cumplen los criterios de inclusión predefinidos en el protocolo publicado (Anexo III).

Los 7 ensayos incluidos evalúan a 1030 participantes, los cuales incluyen a cuatro estudios en población abierta, uno enfocado a mujeres dentro de un programa de pérdida moderada de peso y dos estudios más en mujeres atletas.

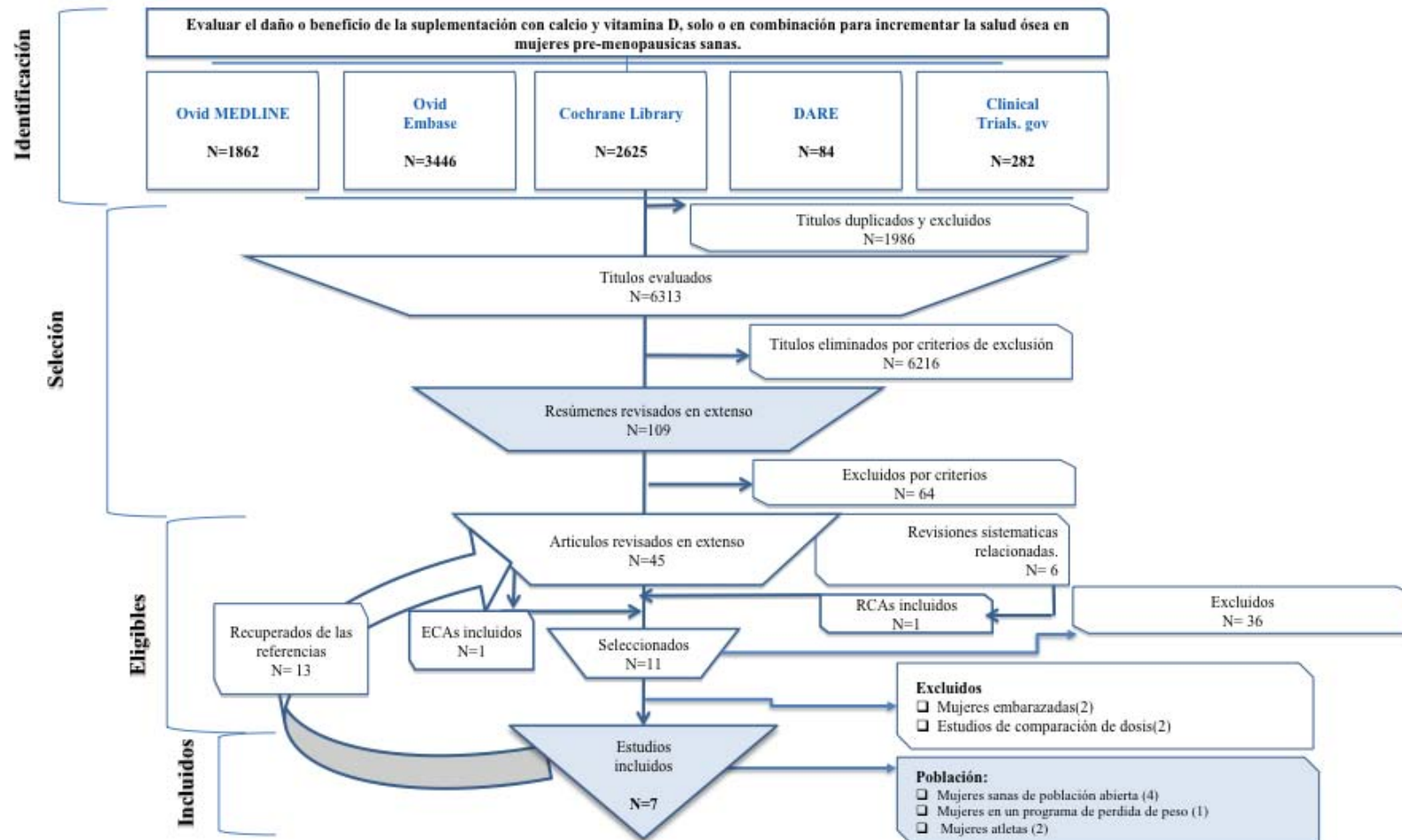


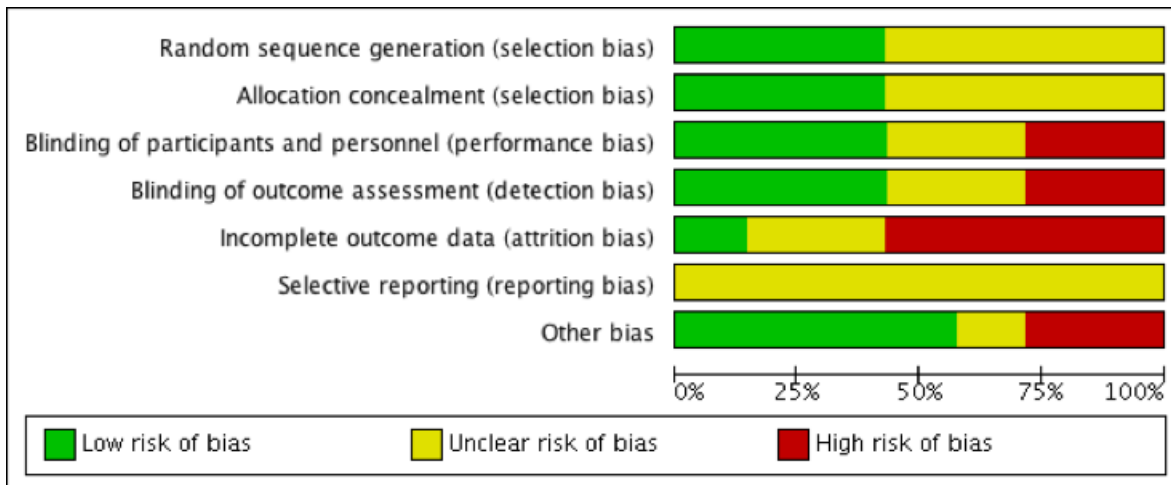
Diagrama de flujo donde se aprecia el proceso de selección en sus etapas de identificación en las principales bibliotecas electrónicas (Ovid Medline, Ovid Embase, Cochrane Library, DARE y clinical trials); selección, elegibilidad y finalmente su clasificación como estudios incluidos.

A continuación se especifican las dosis evaluadas por las siete investigaciones enlistadas por autor, intervención y dosis:

- Barger-Lux 2005: Calcio 500 mg (3 capsulas)
- Islam 2010: Vitamina D 10µg vs Vitamina D + Calcio 10 µg/600mg
- Andersen 2008: Vitamina D 10µg/20 µg
- Rouke 1998: Calcio 1000 mg
- Shapses 2001: Calcio 1000mg
- Winter-Stone 2004: Calcio 1000 mg
- Woo 2007: Calcio + Vitamina D 1000mg/5 µg

Riesgo de sesgos en los estudios incluidos.

Se evaluó el nivel de acuerdo de dos investigadores en la evaluación de la calidad metodológica de los estudios. Los desacuerdos se resolvieron y discutieron con el grupo de investigación.



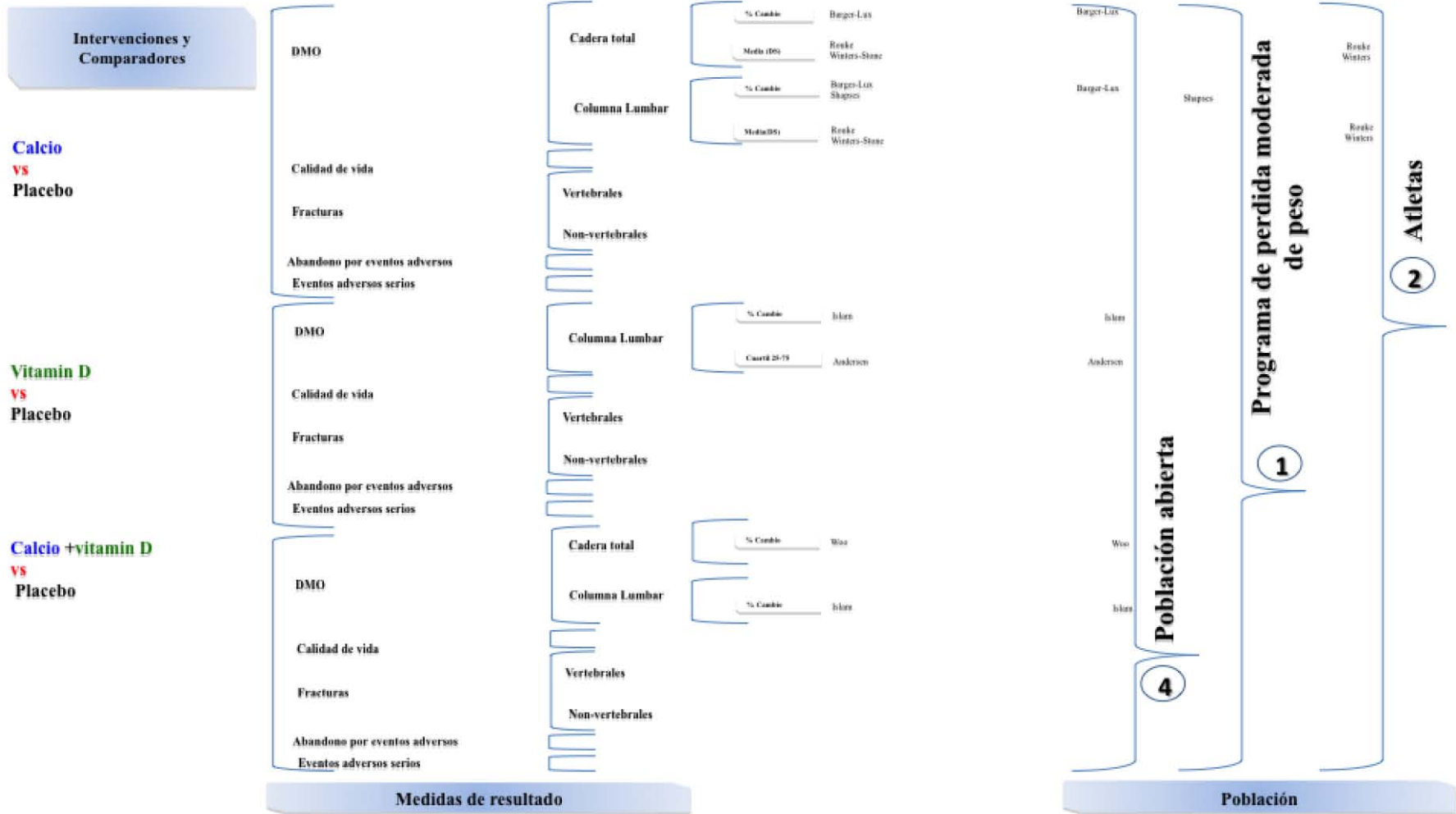
Gráfica de riesgo de sesgo: Los autores emiten su juicio acerca de la calidad metodológica de los estudios la cual se expresa en términos de porcentaje por cada dominio evaluado.

	Random sequence generation (selection bias)	Allocation concealment (selection bias)	Blinding of participants and personnel (performance bias)	Blinding of outcome assessment (detection bias)	Incomplete outcome data (attrition bias)	Selective reporting (reporting bias)	Other bias
Andersen R2008	+	+	+	+	-	?	+
Berger-Lux 2005a	?	+	+	+	-	?	-
Itani 2010a	+	+	+	+	?	?	+
Pearke 1998	?	?	?	?	-	?	-
Shapses SA 2001	?	?	-	-	-	?	?
Ontario-Sene 2004a	?	?	?	?	-	?	+
Deo 2007	+	?	-	-	?	?	+

Resumen de riesgo de sesgo: Los autores emiten su juicio de calidad metodológica por cada dominio y publicación en particular.

Diagrama de comparaciones.

Una vez realizada la selección, extracción y análisis de la calidad metodológica de los estudios incluidos, es relevante cualificar la pertinencia de ingresar los datos obtenidos a un meta-análisis. Para lo cual se presenta a continuación en diagrama de flujo las tres comparaciones propuestas (calcio vs placebo; vitamina D vs placebo y calcio + vitamina D vs placebo); con las principales medidas de resultado propuestas y que se encontraron reportadas en los estudios seleccionados; así como las evaluaciones y unidades en las que fueron expresadas; adicionalmente mostramos la principal característica de referencia reportada por los autores.



I. Calcio vs Placebo

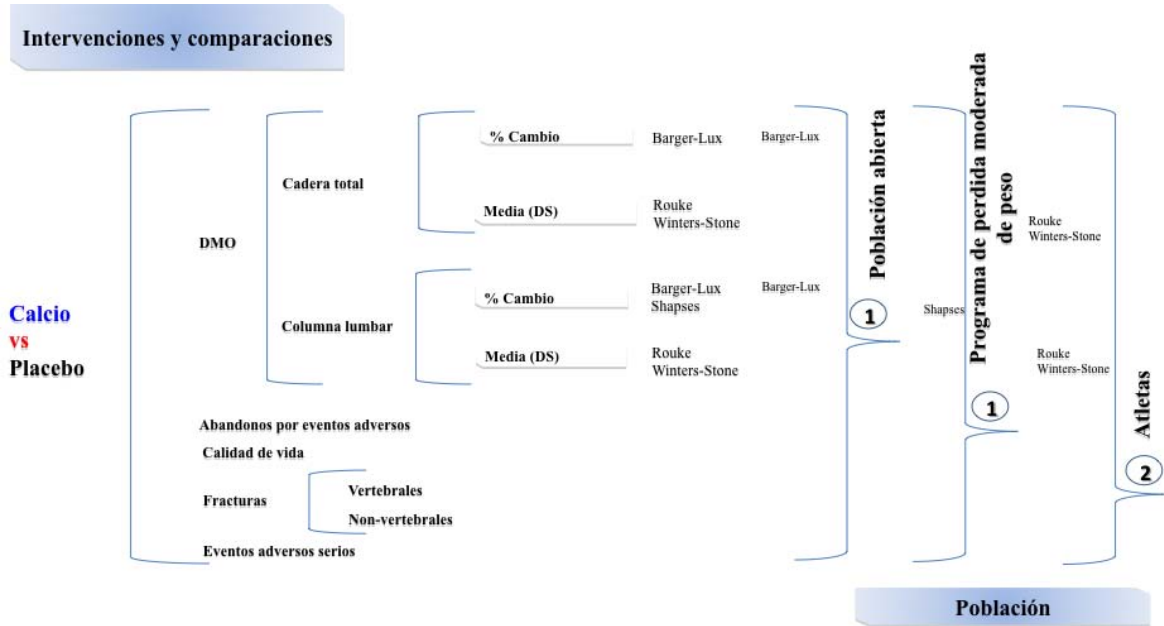
A continuación se detallan los resultados obtenidos para cada uno de los desenlaces planteados previamente:

1. DMO en cadera total con diferentes unidades de análisis Media y DS (MDS -0.38, IC 95% -1.14 a 0.38; participantes= 174; estudios = 3; $I^2 = 77\%$), resultados expresados en porcentaje de cambio (MDS -0.99, IC 95% -1.37 a -0.61; participantes= 121; estudios = 1; $I^2 = 0\%$) y en Media DS (MDS 0.01, IC 95% -0.53 a 0.55; participantes= 53; estudios = 2; $I^2 = 0\%$).
2. DMO en columna lumbar con diferentes unidades de análisis (MDS -0.08, IC 95% -0.65 a 0.50; participantes = 202; estudios = 4; $I^2 = 68\%$), específicamente para porcentaje de cambio (MDS -0.02, IC 95% -1.24 a 1.21; participantes = 149; estudios = 2; $I^2 = 88\%$) y MDS (MDS -0.06, IC 95%-0.60 a 0.48; participantes = 53; estudios = 2; $I^2 = 0\%$).

Los siguientes datos no fue factible su análisis al no estar reportados en ninguno de los estudios seleccionados: 3. Calidad de vida; 4. Fracturas vertebrales; 5. Fracturas no vertebrales; 6. Abandono por eventos adversos y 7. Eventos adversos serios (por ejemplo., hospitalización u otro evento que resulta en discapacidad o muerte).

En específico para “Abandono por eventos adversos”, realizamos el análisis contemplando solo las proporciones por abandono (RR 0.78, IC 95% 0.52 a 1.16; participantes = 261; estudios = 4; $I^2 = 0\%$).

❖ Comparación: Calcio vs placebo.

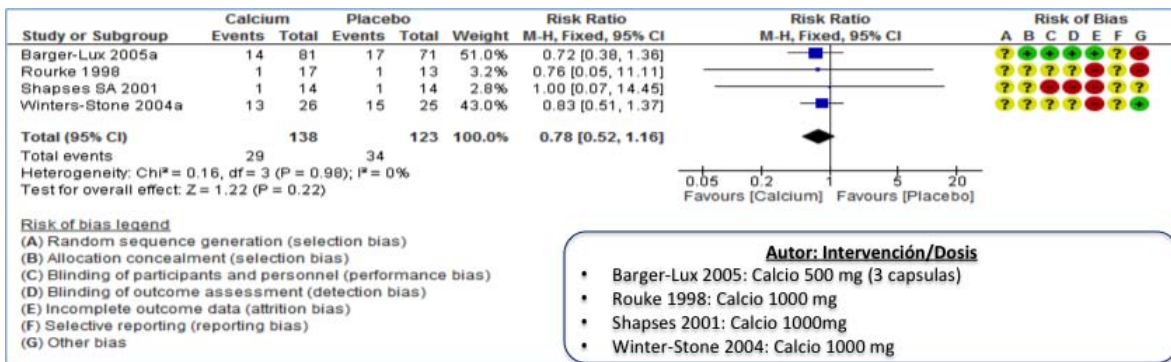


❖ Calcio vs placebo: DMO cadera total.

Los datos reportados por Barger-Lux 2005 se encontraban expresados en porcentaje de cambio, por lo que realizamos el cálculo de su equivalencia a media con desviación estandar empleando el programa Review Manager. Con lo que ingresamos los datos al grupo de análisis por Media y DS. Lo anterior no significo ningun cambio estadístico o clinicamente significativo para el análisis.

❖ Abandonos

Barger-Lux 2005 y Shapses SA 2001 no reportan eventos de abandon en sus estudios, se ingresó una unidad a cada grupo a manera de ejemplificar en el análisis. Lo anterior no significo ningun cambio estadistico o clinicamente significativo para el análisis.



II. Vitamina D vs placebo

A continuación se detallan los resultados obtenidos para cada uno de los desenlaces planteados previamente:

1. DMO en cadera total con diferentes unidades de análisis Media y DS (MDS 0.17, IC 95% -0.20 a 0.54)(MDS 0.17, IC 95% -0.20 a 0.54)
2. DMO en columna lumbar con diferentes unidades de análisis (MDS 0.17, 95% IC -0.20 a 0.54; participantes = 114; estudios = 2; $I^2 = 0\%$)

Los siguientes datos no fue factible su análisis al no estar reportados en ninguno de los estudios seleccionados: 3. Calidad de vida; 4. Fracturas vertebrales; 5. Fracturas no vertebrales; 6. Abandono por eventos adversos y 7. Eventos adversos serios (por ejemplo., hospitalización u otro evento que resulte en discapacidad o muerte).

En específico para “Abandono por eventos adversos”, realizamos el análisis contemplando solo las proporciones por abandono (RR 1.48, CI 95% 0.87 a 2.52; participantes = 159; estudios = 2; $I^2 = 0\%$).

❖ Resumen de hallazgos principales

Vitamin D compared to placebo for increasing bone mineral density in premenopausal women.

Bibliography: MÃndez SÃnchez L, Chico G, Winzenberg TM, Tugwell P, Clark P. Calcium and vitamin D for increasing bone mineral density in premenopausal women.. Cochrane Database of Systematic Reviews [Year], Issue [Issue].

Outcomes	N: of participants (studies) Follow-up	Quality of the evidence (GRADE)	Relative effect (95% CI)	Anticipated absolute effects	
				Risk with placebo	Risk difference with Vitamin D
BMD Total Hip	(0 studies)	-	-	not pooled	not pooled
BMD Lumbar spine	114 (2 RCTs)	⊕○○○ VERY LOW a,b,c,d,e	-	-	SMD 0.17 higher (0.2 lower to 0.54 higher)
Quality of life	(0 studies)	-	-	not pooled	not pooled
Vertebral fracture	(0 studies)	-	not pooled	not pooled	not pooled
Non vertebral fracture	(0 studies)	-	not pooled	not pooled	not pooled
Withdrawals due to adverse events	159 (2 RCTs)	⊕⊕○○ LOW d,e,f,g	RR 1.48 (0.87 to 2.52)	213 per 1.000	102 more per 1.000 (28 fewer to 323 more)
Serious adverse events	(0 studies)	-	not pooled	not pooled	not pooled

***The risk in the intervention group** (and its 95% confidence interval) is based on the assumed risk in the comparison group and the **relative effect** of the intervention (and its 95% CI).

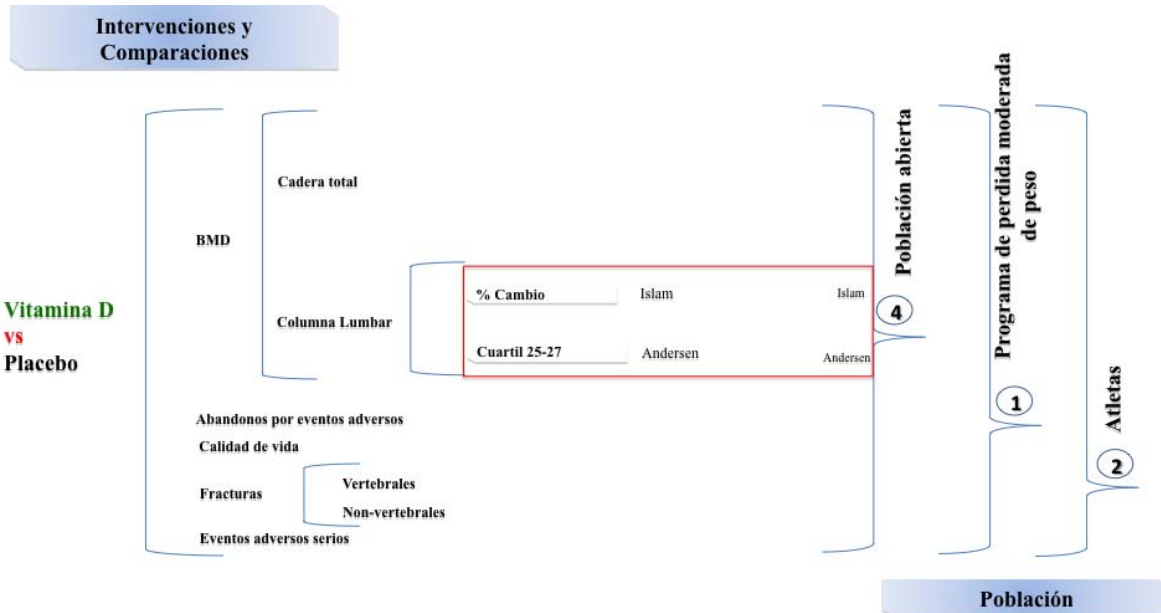
CI: Confidence interval; MD: Mean difference; SMD: Standardised mean difference; OR: Odds ratio; RR: Risk ratio

GRADE Working Group grades of evidence
High quality: We are very confident that the true effect lies close to that of the estimate of the effect
Moderate quality: We are moderately confident in the effect estimate: The true effect is likely to be close to the estimate of the effect, but there is a possibility that it is substantially different
Low quality: Our confidence in the effect estimate is limited: The true effect may be substantially different from the estimate of the effect
Very low quality: We have very little confidence in the effect estimate: The true effect is likely to be substantially different from the estimate of effect

a. The reasons for "Serious" risk of bias classification is one study show "High risk" of bias (whose only observation was "In tables of results are 27 withdrawals, not specified the reason".
 b. The heterogeneity values is I2=0%; but the studies included in this comparison have different units of measure in MSD and Percent of change.
 c. The BMD is a common surrogate measure of fragility fractures risk, but corresponding patient-important outcomes.
 d. A total of 289 patients were included in the two studies, resulting in a loss of 0.69% due to pregnancy (N = 2). However, there is a 24.91% (N = 72) loss with no clear reasons.
 e. The IC 95% includes the positive and negative effect of calcium supplementation.
 f. Islam and cols 2010; The reasons for withdrawals in calcium group: Lost Job=6; disliked tablets=2; Moved=2; in placebo group: Lost Job=8; disliked tablets=2; Moved=3.
 g. Andersen and cols 2008; reported withdrawals N=27 women, for reasons not specified.

References

Comparaciones



III. Calcio + vitamina D vs Placebo

A continuación se detallan los resultados obtenidos para cada uno de los desenlaces planteados previamente:

1. DMO en cadera total con diferentes unidades de análisis Media y DS (MDS -0.03, IC 95% -0.06 a 0.00; participantes = 408; estudios = 1; $I^2 = 0\%$)
2. DMO en columna lumbar (MDS 0.01, IC95% -0.01 a 0.03; participantes = 76; estudios = 1; $I^2 = 0\%$)

Los siguientes datos no fue factible su análisis al no estar reportados en ninguno de los estudios seleccionados: 3. Calidad de vida; 4. Fracturas vertebrales; 5. Fracturas no vertebrales; 6. Abandono por eventos adversos y 7. Eventos adversos serios (por ejemplo., hospitalización u otro evento que resulta en discapacidad o muerte).

En específico para “Abandono por eventos adversos”, realizamos el análisis contemplando solo las proporciones por abandono (RR 0.92, CI 95% 0.55 a 1.54; participantes = 541; estudios = 2; $I^2 = 72$)

❖ Resumen de hallazgos principales

Calcium & vitamin D compared to placebo for increasing bone mineral density in premenopausal women.					
Bibliography: MÃnchez SÃnchez L, Chico G, Wrzenberg TM, Tugwell P, Clark P. Calcium and vitamin D for increasing bone mineral density in premenopausal women.. Cochrane Database of Systematic Reviews [Year], Issue [Issue].					
Outcomes	Nr of participants (studies) Follow-up	Quality of the evidence (GRADE)	Relative effect (95% CI)	Anticipated absolute effects	
				Risk with placebo	Risk difference with Calcium & vitamin D
BMD Total Hip	(0 RCTs)	-	-	not pooled	not pooled
BMD Lumbar spine	(0 RCTs)	-	-	not pooled	not pooled
Quality of life	(0 RCTs)	-	-	not pooled	not pooled
Vertebral fracture	(0 RCTs)	-	not pooled	not pooled	not pooled
Non vertebral fracture	(0 RCTs)	-	not pooled	not pooled	not pooled
Withdrawals due to adverse events	541 (2 RCTs)	⊕⊕⊕⊕ MODERATE a,b,c,d	RR 0.92 (0.55 to 1.54)	100 per 1.000	8 fewer per 1.000 (45 fewer to 54 more)
Serious adverse events	(0 studies)	-	not pooled	not pooled	not pooled

***The risk in the intervention group** (and its 95% confidence interval) is based on the assumed risk in the comparison group and the **relative effect** of the intervention (and its 95% CI).

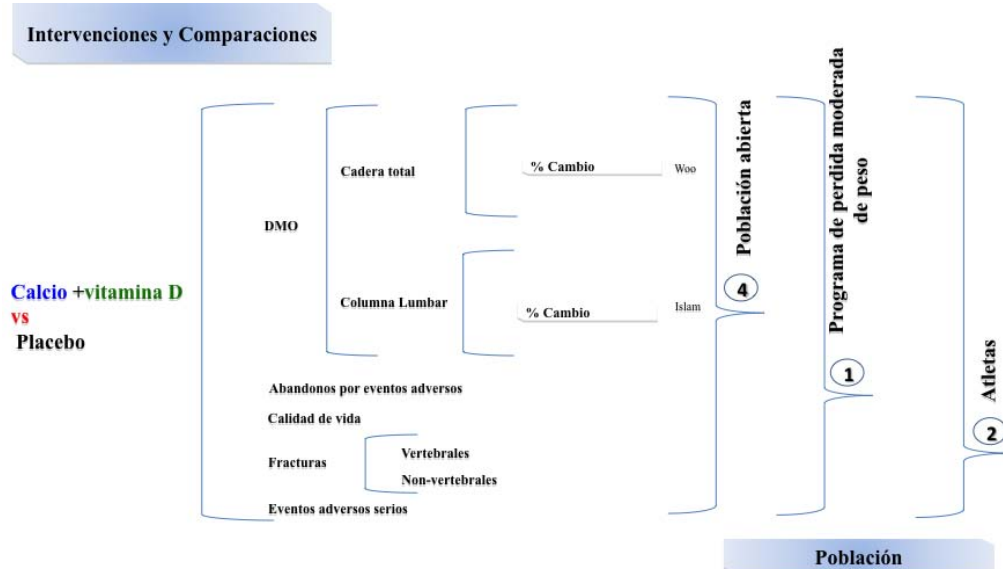
CI: Confidence interval; MD: Mean difference; OR: Odds ratio; RR: Risk ratio

GRADE Working Group grades of evidence
High quality: We are very confident that the true effect lies close to that of the estimate of the effect
Moderate quality: We are moderately confident in the effect estimate: The true effect is likely to be close to the estimate of the effect, but there is a possibility that it is substantially different
Low quality: Our confidence in the effect estimate is limited: The true effect may be substantially different from the estimate of the effect
Very low quality: We have very little confidence in the effect estimate: The true effect is likely to be substantially different from the estimate of effect

a. The reasons unrelated to the study are balanced in both groups, the general reasons are: Lost job, disliked tablet, moved, no special reason, became pregnant). *A total of thirty seven subjects (18.5%) dropped out for reasons unrelated to the study" . Calcium & vitamin D: Lost job=4; disliked tablets=2; Placebo group:Lost job=8; disliked tablets=2; Moved=3.
 b. The withdrawals reason in both groups are the same , they reported: "disliked tablets" (calcium & vitamin D= 2; placebo=2).
 c. One RCT show "unclear" risk of bias for problems allocation Sequence and concealment, blinding of personnel, participants, and assessors, and selective outcome reporting)
 d. Woo and cols 2007; reported withdrawals an total of 33 women for: Busy=9; Moved=10; Pregnancy=11; Milk related=1; illness=2.Succumbing to SARS=1. Not specified the number by group.

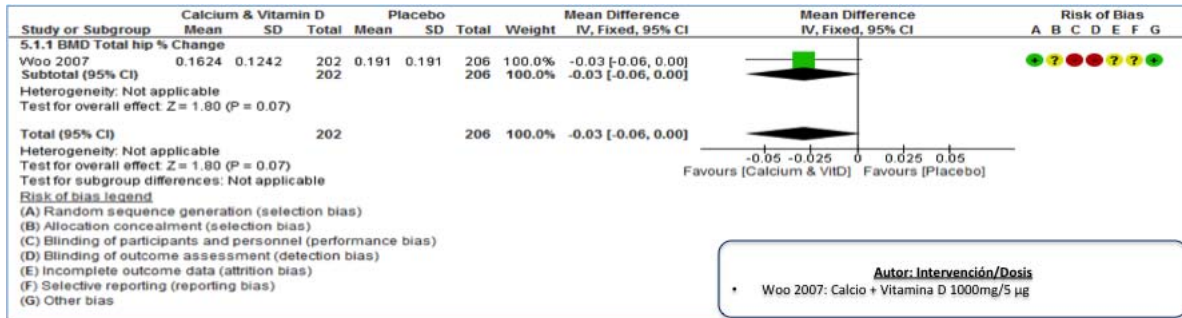
References

Comparaciones

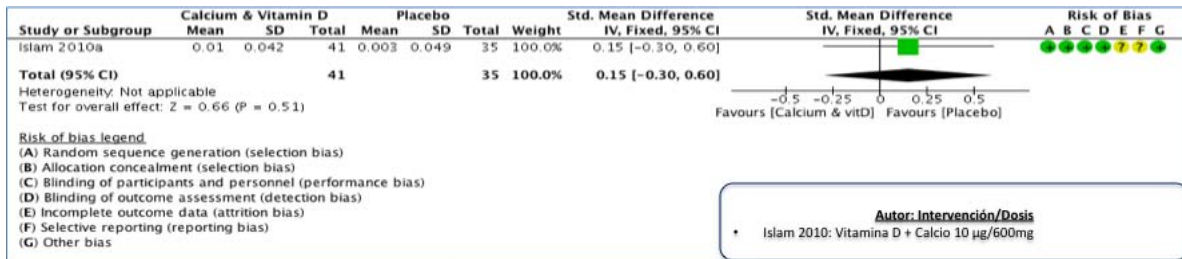


❖ Calcio + vitamin D vs placebo DMO: Cadera total

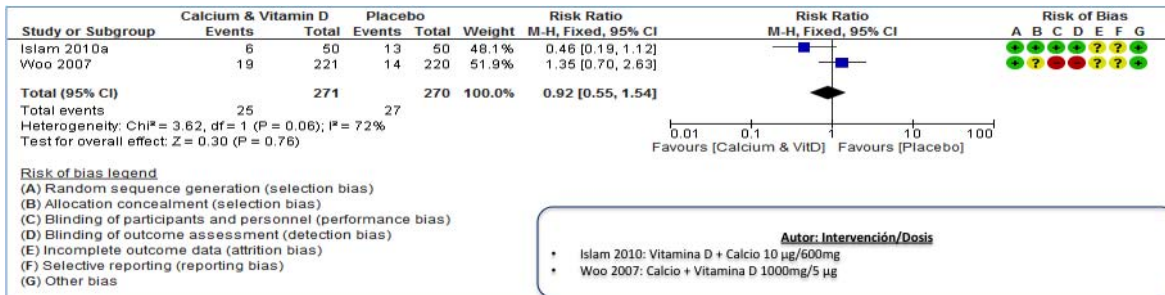
Los datos se encontraban reportados en format grafico, por lo que empleando el programa ProDigitizer se obtuvieron sus valores cuantitativos puntuales.



❖ Calcio + vitamin D vs placebo DMO: Columna total



❖ Abandonos



Resumen preliminar de los principales resultados

En esta revisión, se examina la eficacia del calcio y/o vitamina D (solos o en combinación) *versus* placebo para aumentar la densidad mineral ósea en mujeres pre menopáusicas sanas. La literatura hasta el momento muestra que no hay suficiente evidencia que sustente el uso de calcio para incrementar la DMO en esta población y con ello prevenir el riesgo de fractura. Sin embargo, los análisis de subgrupos sugieren que esto puede ser explicado por la ausencia de comparaciones que integren de forma conjunta la suplementación con calcio y vitamina D.

Adicionalmente existen potenciales explicaciones a la falta de efectividad de cualquiera de las intervenciones que aquí evaluamos. Una de ellas podría atribuirse a la diferencia en la dosis de suplementos y la capacidad de absorción dependiente del tipo de calcio.

Otros posibles modificadores del efecto del suplemento de calcio y / o vitamina D incluyen el tipo de molécula y el cumplimiento. Desafortunadamente, los estudios de subgrupos por tipo de molécula son difíciles de separar y los potenciales efectos de absorción hacen necesario interpretar los resultados del análisis con precaución. Esto podría reflejar diferencias clínicas y metodológicas entre los estudios en las diferentes moléculas de suplementación

Si bien es difícil extrapolar los resultados de la densidad ósea a la reducción del riesgo de fractura, particularmente la densidad mineral ósea en mujeres pre menopáusicas sanas es considerado un desenlace intermedio. Por lo que nuestro estudio tiene la limitante de que al evaluar la diferencia de medias estandarizada no refleja de forma directa dicha reducción del riesgo, pero es imperativo mencionar que ninguno de los estudios aquí analizados presentan de forma intencional la detección de este resultado clínico

El número de estudios identificados en esta revisión fue pequeño (siete) y sólo cinco de ellos aportaron datos al meta-análisis. La interpretación para cada análisis depende del tipo de resultado numérico (porcentaje de cambio o media con desviación estándar).

En el desarrollo de los meta-análisis cuando fue posible realizarlos, la heterogeneidad reportada no muestran rangos estadísticamente significativos que sugieran que los efectos de los estudios no pudieran ser comparables.

Conclusiones preliminares

Los resultados publicados hasta el momento de este trabajo, no apoyan el uso de suplementos de calcio en mujeres premenopáusicas sanas como una intervención de salud pública.

De forma preliminar no hubo efecto de la suplementación de calcio vs placebo (4 estudios); vitamina D vs placebo (2 estudios con unidades y áreas no comparables entre si) y Calcio + vitamina D vs placebo (2 estudios con unidades y áreas no comparables entre si).

Las razones de abandono reportadas en los estudios fueron cambio de domicilio, desagrado por el sabor de las pastillas, embarazo, pérdida de interés, entre otros.

MARCO TEÓRICO

Los tres protocolos presentados en esta tesis se han enfocado al estudio del sistema musculo esquelético con particular énfasis en la biología de hueso y la acción de nutrientes como la vitamina D y calcio sobre el mismo.

Existe una creciente necesidad por entender los procesos biológicos del hueso desde un enfoque dinámico, reflejo de su naturaleza. Es relevante su análisis inclusive desde el estudio de la compleja relación que lleva el proceso metabólico óseo y su manifestación clínica traducida en diversas patologías con impacto directo e indirecto en la calidad de vida humana. Continuando con la importancia de la evaluación de la capacidad diagnóstica de muchas de las técnicas ya conocidas y otras de nueva propuesta que empleamos en la actualidad para poder confirmar el estatus de salud-enfermedad. Sin dejar de lado el conjunto de conocimientos al área de la clínica aplicada para comprobar su relevancia clínica de múltiples opciones a tratamiento preventivo y terapéutico.

Todo lo anterior con miras a poder establecer medidas de pronóstico clínico tanto en paciente sanos (o al menos sin la patología manifiesta), como en individuos clínicamente predispuestos a desarrollar este tipo de alteraciones en la micro y macroarquitectura ósea. Sin olvidar que una cadena de conocimiento como la antes mencionada no significa nada a la ciencia sin un abordaje con miras a su aplicación en los principales servicios sanitarios de atención nacional e internacional (Figura 18).



Figura 18. Proceso cíclico de desarrollo científico que atañe al estudio de la Biología clínica de hueso.

Micro-arquitectura ósea, un sistema siempre dinámico.

Existen tres factores que componen al hueso (mineral, osteoide y celular), el principal factor es el componente mineral. El tejido óseo combina células vivas (osteoblastos, osteocitos y osteoclastos) y materiales inertes (sales de calcio y fósforo), además de sustancias orgánicas de la matriz ósea como el colágeno, que le dan al hueso su micro-arquitectura y elasticidad a la masa ósea. Más de un 99% del volumen de la matriz se halla mineralizado en hueso cortical, y en hueso esponjoso. En total los componentes orgánicos alcanzan aproximadamente el 65% del peso óseo. El componente inorgánico de matriz ósea está constituido en un 98% por fosfato de calcio en forma de cristales de hidroxapatita¹ (Figura 1).

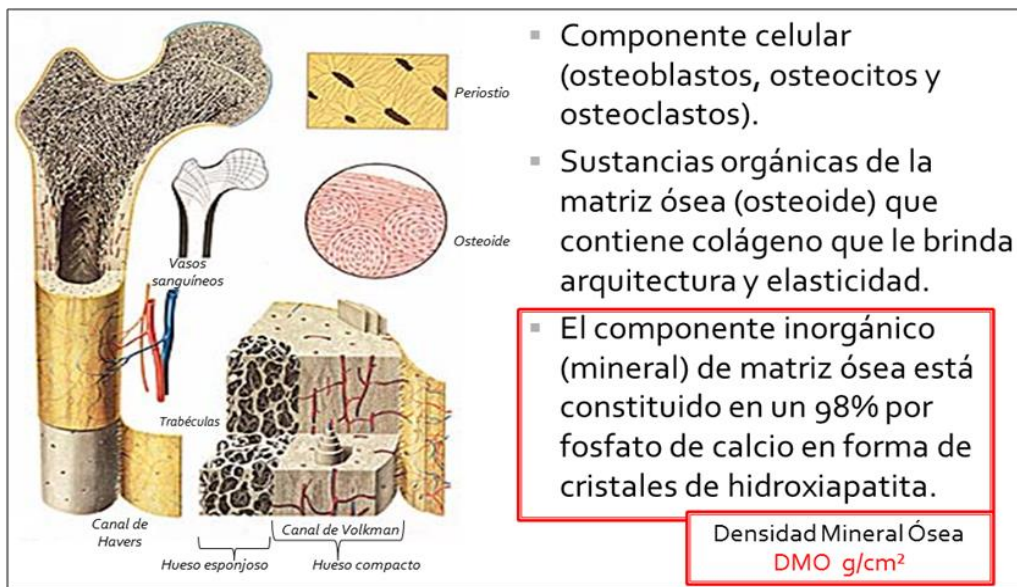


Figura 1. Conformación de la micro-arquitectura del hueso⁷.

El hueso es un complejo órgano en constante remodelación, es decir, un equilibrio en su micro-arquitectura entre reabsorción y formación, inclusive es posible evaluar este fenómeno de forma indirecta a través de la medición bioquímica de marcadores óseos en muestras de sangre y de orina².

Proceso de acreción ósea

La acreción ósea comienza principalmente desde el primer trimestre del embarazo, con la acumulación de nutrientes como calcio (Ca), fósforo (P) y otros minerales³. Dicha ganancia ósea implica un complejo proceso de recambio celular y mineral en el individuo que continúa diferencialmente a lo largo de la vida; siendo siempre en el embarazo y la etapa de lactancia, un balance de calcio a favor del feto y del recién nacido (figura 2); etapas determinantes para su desarrollo⁴, cuyo proceso es mediado por la placenta y producción de vitamina D en el neonato⁵.

La etapa de acreción ósea comienza desde el primer trimestre del embarazo, pero es en el tercer trimestre la etapa de mayor ganancia.

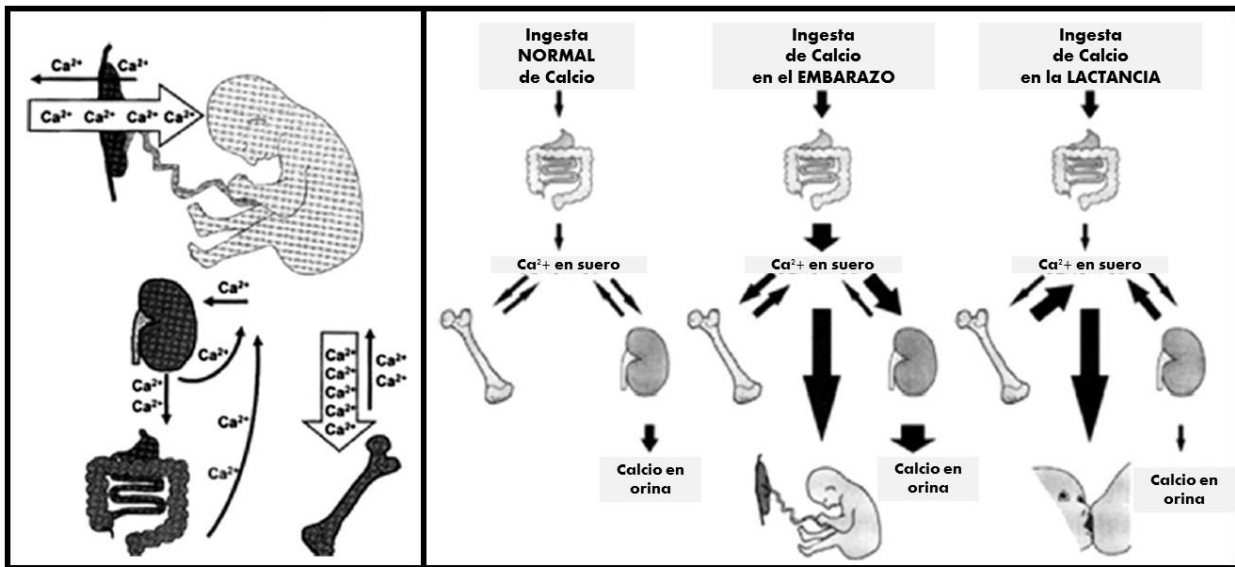


Figura 2. Balance de calcio durante el embarazo y la lactancia, flujo abrumadoramente a favor del feto y del recién nacido. Las fuentes de calcio en la vida fetal son ingresadas a través del transporte activo a la placenta, del cual muy poco calcio es devuelto a la circulación materna. El resto de calcio es excretado en la orina, estando disponible para la reabsorción por el intestino. Este proceso es mediado por la placenta y la producción de vitamina D del feto⁶.

La pérdida de hueso relacionada con la edad, comienza en la cuarta o quinta década de la vida. Esto ocurre como resultado de la descomposición del hueso por osteoclastos y disminución de la formación de hueso por osteoblastos. En la *figura 3* se muestran los cambios de masa ósea relacionados con la edad, demostrando que la infancia es la única etapa de la vida en la que hay ganancia de DMO, llegando al pico en la tercera década de la vida e iniciando la pérdida alrededor de los 40 años. Por esta razón es importante intervenir en los primeros años de vida para que la formación de hueso sea adecuada.⁷

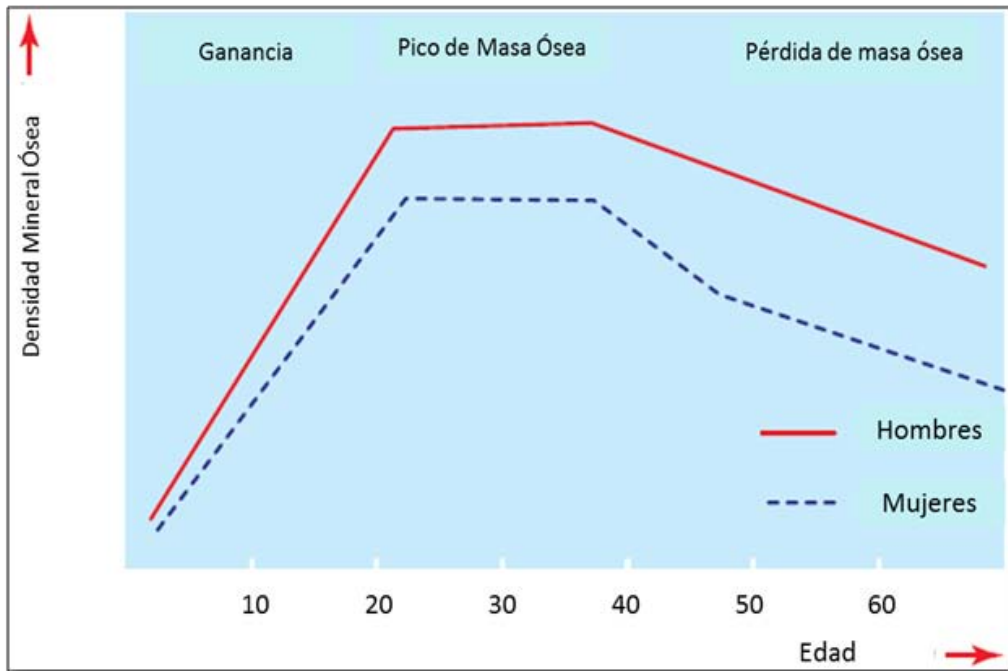


Figura 3. Curva que muestra los cambios de masa ósea relacionada con la edad.

En la *Figura 4* se muestra en un esquema el proceso de actividad metabólica ósea, el cual se produce en la infancia mediante un proceso de calcificación de las células cartilaginosa presentes en los extremos del hueso. Según las concentraciones de calcio y fósforo en el líquido del espacio extraarticular, se deposita mineral en aquellos condrocitos o células cartilaginosa para lograr la mineralización. La función principal del eje endocrino Vitamina D/PTH es mantener las concentraciones de calcio y fósforo en el LEC (Líquido Extracelular) en cifras apropiadas para permitir la mineralización.¹

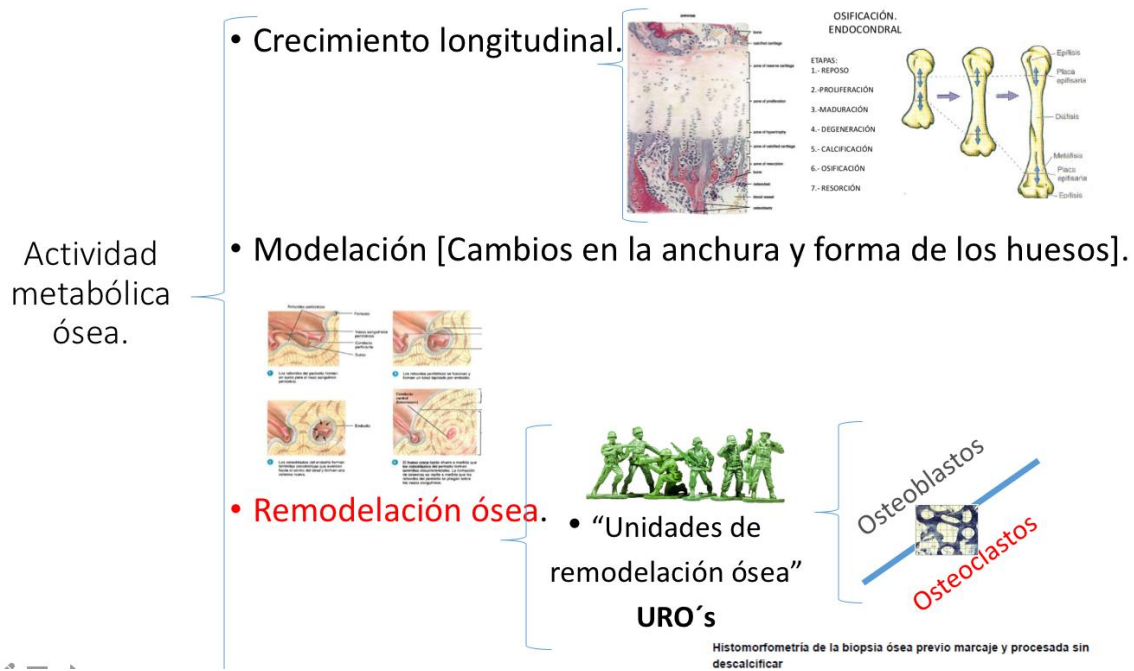


Figura 4. Diagrama que describe la actividad metabólica ósea desde crecimiento, modelación y remodelación

Una de las principales características del esqueleto de los mamíferos, es la capacidad que tiene para renovarse constantemente durante la vida. El remodelado óseo, es un proceso mediante el cual el hueso se renueva para mantener la fuerza ósea y la homeostasis mineral, este proceso se realiza a través de las unidades de remodelado óseo (URO) en las que se incluyen osteoblastos, osteoclastos, osteocitos y otras células accesorias.¹

En la figura 5. Se muestra el proceso de remodelado óseo, en el cual los osteoclastos reabsorben el hueso y enseguida los osteoblastos depositan hueso nuevo en la misma porción general (100 días).¹

Diversos factores intervienen en el remodelado óseo, RANKL (ligando del receptor activador del factor nuclear kappa-B), que pertenece a la superfamilia de los TNF es una proteína transmembrana regulada por RANK, el cual una vez unido a RANKL, estimulan la diferenciación y fusión de células precursoras de osteoclastos.¹

Otro receptor soluble expresado en los osteoblastos es la osteoprotegerina (OPG), miembro de la familia de los TNF. Su principal función es la inhibición de la maduración y de la activación de

los osteoclastos interponiéndose entre RANK y RANKL (Regulación hormonal del balance fosfocálcico).¹

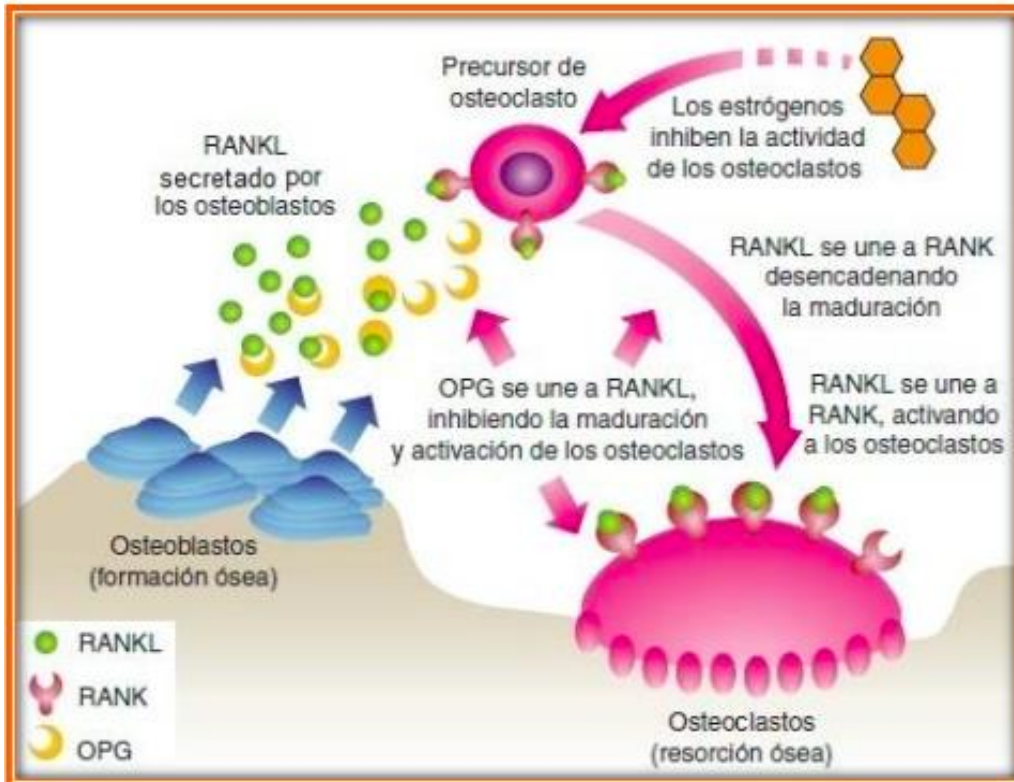


Figura 5. Proceso de remodelado óseo¹.

Implicaciones de la vitamina D en el recambio óseo

El hueso es un órgano complejo en constante remodelación, es decir, un órgano que requiere del equilibrio en su micro-arquitectura entre reabsorción y formación, inclusive es posible evaluar este fenómeno de forma indirecta a través de la medición bioquímica de marcadores óseos en muestras de sangre y de orina, tanto en adultos⁸ como en población pediátrica⁹.

Este complejo balance inicia desde la exposición a la irradiación ultravioleta, el 7-dehidrocolesterol, o provitamina D₃ de la piel, se convierte en previtamina D₃, la cual más tarde se isomeriza a vitamina D₃ más estable, mediante una transformación inducida térmicamente. Tanto la vitamina D₃, formada en la piel u obtenida de la dieta, y la vitamina D₂, derivada de fuentes alimentarias y de multivitamínicos, se hidroxilan en el hígado a 25(OH)D, la principal

forma circulante de la vitamina D. La 25(OH)D, que es biológicamente inerte a concentraciones fisiológicas, se hidroxila en el riñón a 1,25(OH)₂D, la principal forma biológicamente activa de la vitamina D. Los niveles de PHT y fósforo sérico regulan la producción de 1,25(OH)₂D. Cuando las concentraciones de vitamina D son inadecuadas, la 1,25(OH)₂D aumenta la absorción intestinal de calcio y fósforo y, en conjunto con la PTH, moviliza las reservas de calcio y fósforo de los huesos para mantener niveles séricos adecuados de calcio y fósforo para la salud ósea y para las funciones metabólicas y neuromusculares (figura 6)¹⁰. Se ha observado que la deficiencia asintomática de vitamina D eleva la prevalencia de fracturas, ello debido a las alteraciones derivadas de su bajo suministro y su efecto en la absorción de calcio.¹¹

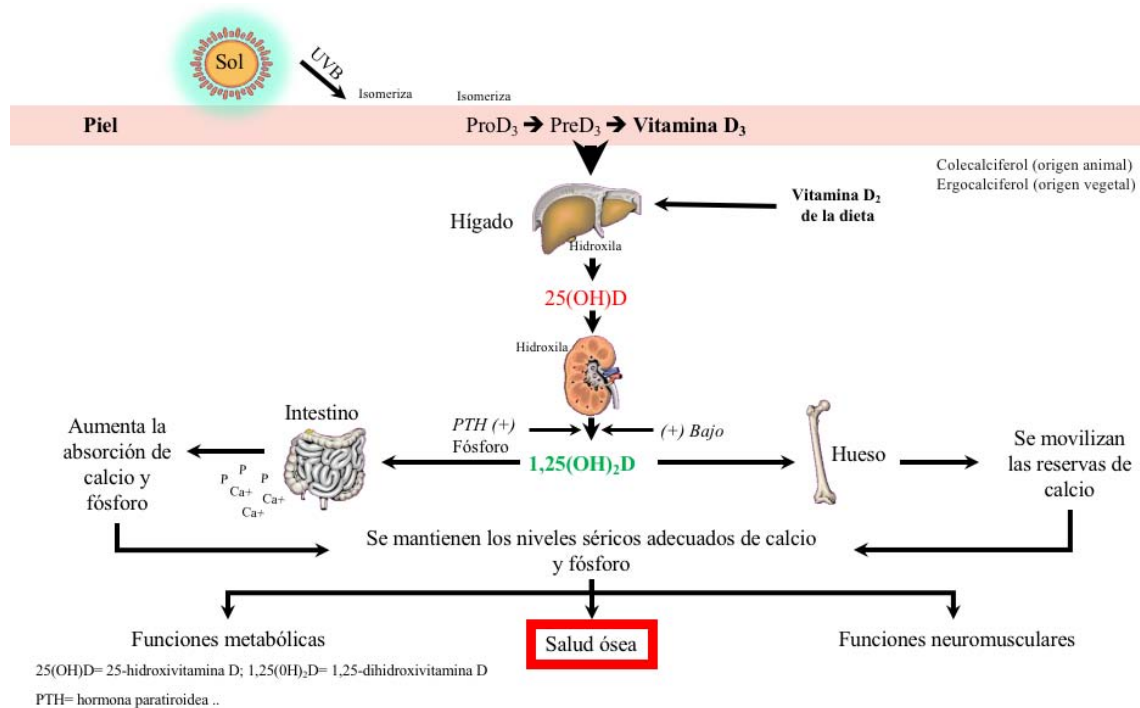


Figura 6. Diagrama que muestra la producción cutánea de vitamina D y su metabolismo. Adaptado de Holick MF *Osteoporosis International* 1998;8 (suppl 2):S24–S29.

Como hemos observado la vitamina D desempeña un papel crítico para mantener la salud de los huesos, ya que es esencial para asegurar que el calcio se absorba adecuadamente en el tracto gastrointestinal. Los niveles inadecuados de vitamina D reducen la absorción intestinal de calcio, lo cual disminuye las concentraciones séricas de calcio y desencadena la liberación compensadora de hormona paratiroidea. Este hiperparatiroidismo secundario origina la movilización de calcio del hueso y causa una reducción en las concentraciones séricas de vitamina D, lo que a su vez genera disminución en la densidad mineral ósea¹². La evidencia actual

sugiere que los niveles inadecuados de vitamina D, que son muy comunes en las mujeres posmenopáusicas, aumentan el riesgo de fracturas (Figura 7).¹³.

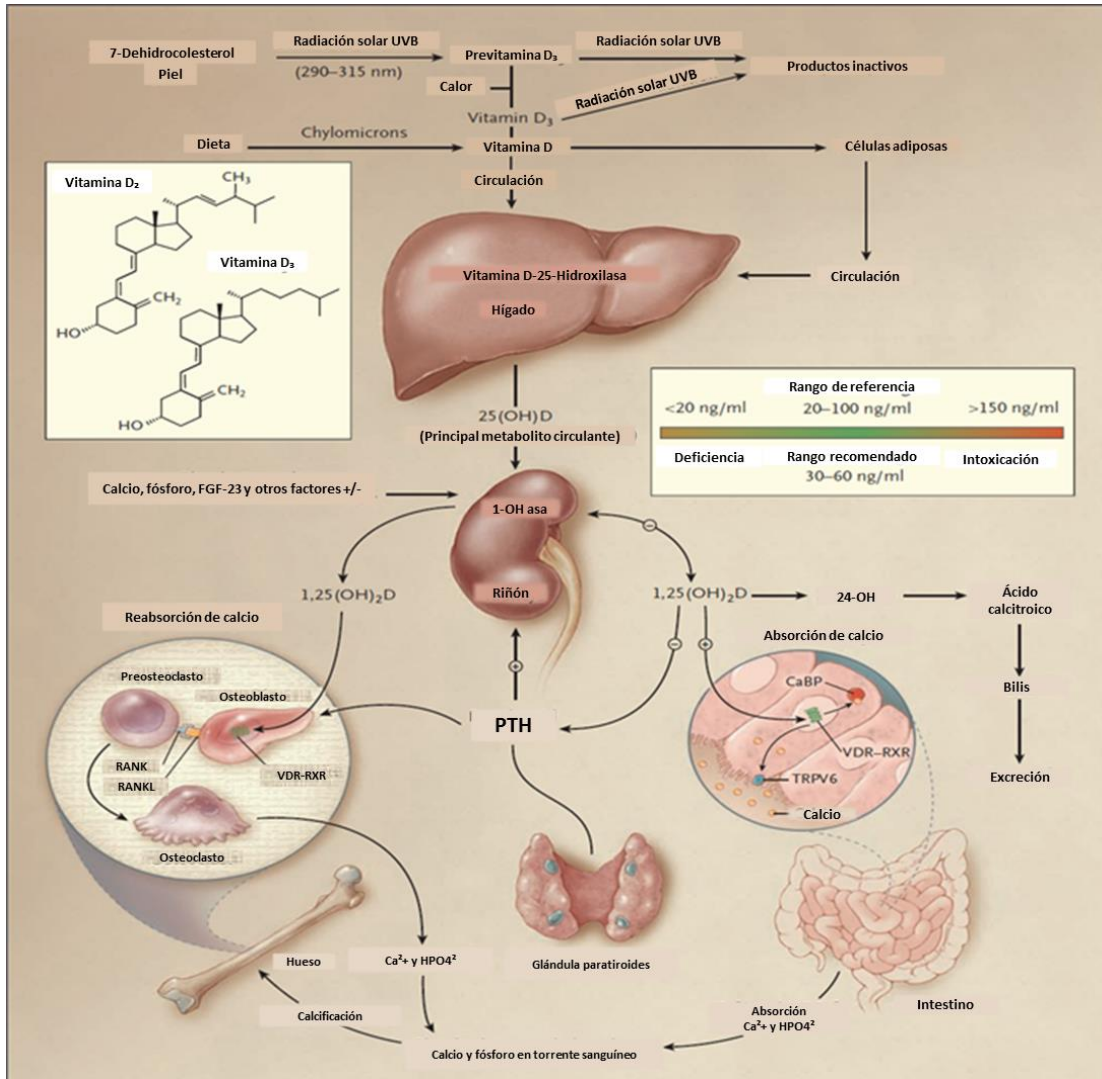


Figura 7. Mecanismo de acción: La vitamina D y el metabolismo óseo. * PTH= hormona paratiroidea.

El mecanismo primario por el cual la vitamina D₃ lleva a cabo este papel, es induciendo a las proteínas involucradas en la absorción intestinal del calcio¹. Sin embargo, cuando hay deficiencia de vitamina D, la absorción del calcio disminuye (de 30%–40% a 10%–15% respectivamente), y las menores concentraciones séricas de calcio aumentan la secreción de la hormona paratiroidea². Asimismo, el incremento en la secreción de la PTH contrarresta los niveles bajos de calcio circulante aumentando la producción de vitamina D, y estas dos hormonas actúan en conjunto para mediar la reabsorción del calcio del riñón³ y la movilización del calcio del hueso⁴ para mantener las necesidades fisiológicas.

Por tanto, la función fisiológica principal de la vitamina D₃ es mantener las concentraciones séricas de calcio circulante suficientes para apoyar una gran variedad de funciones metabólicas (incluyendo una mineralización ósea normal), la transducción de señal y la actividad neuromuscular (Figura 7).

En cuanto a los parámetros de deficiencia y suficiencia acerca de la vitamina D, no existe un punto de corte establecido, es decir existen discrepancias entre los institutos e investigadores en la materia, pero en lo que si consensan es en el punto de suficiencia, que esta en valores mayores o iguales a 30ng/ml (Tabla 1).

Tabla 1. Niveles de suficiencia y deficiencia establecidos por el Instituto de Medicina USA y los establecidos por investigadores en la materia.

**Puntos de corte
concentraciones séricas óptimas de vitamina D**

Holick ME, et al.		Institute of Medicine USA (IOM)		La Sociedad de Endocrinología USA	
Suficiencia	>30 ng/ml	Suficiencia	>20 ng/ml	Suficiencia	>30 ng/ml
Insuficiencia	20-30 ng/ml				
Deficiencia moderada	<8 - 20 ng/ml	Insuficiente	<20 ng/ml	Insuficiencia	20-29 ng/ml
Deficiencia severa	<8 ng/ml				

Holick, MF, Chen TC. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *Am J Clin Nutr* 2008;87(suppl):1080S– 6S.

Institute of Medicine. 2011. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Washington, DC: The National Academies Press.

Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA et al. 2011. Evaluation, treatment and prevention of vitamin D deficiency: An **Endocrine Society clinical practice guideline**. *J Clin Endocrinol Metab* 96: 1911-30

Pico de masa ósea

Al fenómeno de ganancia de masa ósea se le denomina acreción ósea. Se refiere a la máxima cantidad de masa ósea (calcio) que se alcanza al final de la maduración esquelética se le denomina pico de masa ósea (PMO)¹⁴. El 85 % de la acreción ósea se alcanza en la infancia y juventud (figura 8); Siendo los principales modificadores de este crecimiento la edad y el sexo (figura 9)¹⁵, sin embargo, existen otros factores como los genéticos, el estilo de vida entre los

que destacan, la actividad física y la nutrición. Conocer los principales factores relacionados con la acreción ósea en este periodo de la vida puede impactar en alcanzar una adecuada acreción ósea y así garantizar la adquisición de un pico de masa óseo óptimo¹⁶.

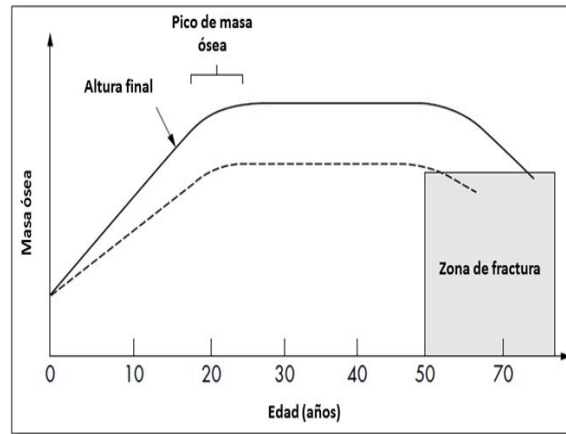


Figura 8. Representación esquemática de los cambios de masa ósea con la edad, medido por DXA. La línea punteada muestra el comportamiento teórico consecuencia de una reducción de la masa ósea máxima.¹⁷

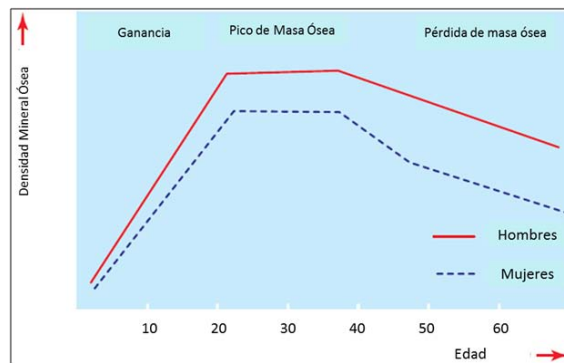


Figura 9. Cambios en la masa ósea relacionados con la edad a lo largo de toda la vida en mujeres y hombres. El Pico de Masa Ósea (85% de la máxima cantidad de masa ósea) se alcanza en las etapas de infancia y juventud¹⁸. Se relaciona la pérdida ósea con la edad (alrededor de los 40 años, de manera distinta entre hombres y mujeres).¹⁰

Factores asociados al desarrollo de osteoporosis y alteraciones óseas.

La osteoporosis es una enfermedad silenciosa caracterizada por un deterioro sistémico de la masa ósea y su micro-arquitectura, en muchos casos con resultados en fracturas por fragilidad¹⁹, siendo reconocida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como una de las principales enfermedades crónicas y por tanto un problema de salud pública, definida como un “trastorno del

esqueleto caracterizado por una disminución de su resistencia, que predispone a un mayor riesgo de fractura (Figura 10)²⁰. Se calcula que hay más de 200 millones de personas que la padecen a nivel mundial²¹. Una de las principales consecuencias es la propensión a fracturas de cadera, tan solo en México se reportó para el periodo 2000-2006 un aumento del 26% en la incidencia de fracturas, cerca de 22,000 casos fueron de cadera, las cuales alteran directamente en el estado de salud del individuo²², y su calidad de vida²³. Ello generó costos directos totales estimados en 97 millones de dólares americanos²⁴.

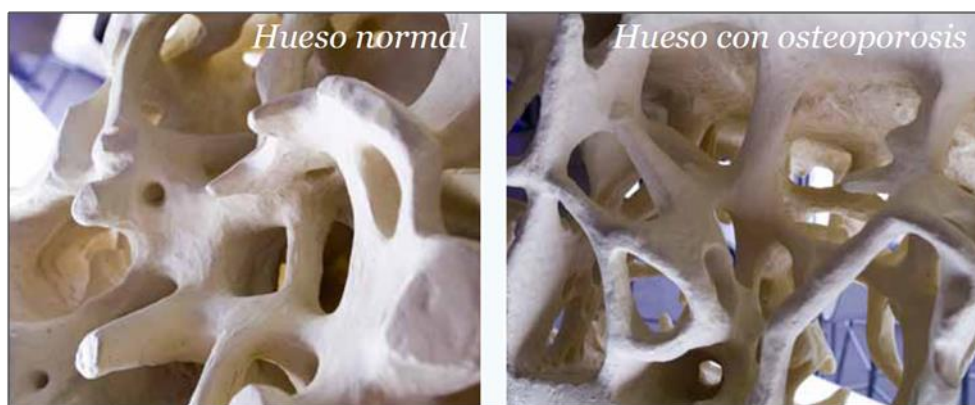


Figura 10. Hueso normal y hueso osteoporótico. En el lado izquierdo se muestran trabéculas de un hueso normal y del lado izquierdo se observan trabéculas disminuidas de un hueso con diagnóstico de osteoporosis².

Se han implementado pautas nacionales e internacionales para enfrentar el reto de la detección temprana de osteoporosis, basados en la presencia de varios factores de riesgo; tales como la edad, el bajo índice de masa corporal, fracturas previas por fragilidad, antecedentes familiares de fracturas, artritis reumatoide, el uso de glucocorticoides, y el tabaquismo activo entre otros, donde una medición de la densidad mineral ósea (DMO) es recomendable para aquellos con menos uno o 2 factores de riesgo menores. Varios intentos se han hecho para desarrollar herramientas de decisión para ayudar a los médicos en la selección de pacientes para la DMO usando una variedad de combinaciones de dichos factores (Tabla 2)²⁵.

Tabla 2. Factores de riesgo asociados al desarrollo de osteoporosis¹⁴.

Factores que identifican a individuos en riesgo a osteoporosis	
<i>Principales factores de riesgo</i>	<i>Factores de riesgo menores</i>
<ul style="list-style-type: none"> • Edad ≥ 65 años. • Fractura por compresión vertebral. • Fractura por fragilidad después de los 40 años. • Antecedentes familiares de fractura osteoporótica (especialmente fractura de cadera materna). • Terapia con glucocorticoides sistémicos >3 meses de duración. • Síndrome de mala absorción. • Hiperparatiroidismo primario. • Propensión a caídas. • Osteopenia aparente reflejada en rayos x. • Hipogonadismo. • Menopausia precoz (antes de los 45 años). 	<ul style="list-style-type: none"> • Artritis reumatoide. • Antecedentes clínicos de hipertiroidismo. • Terapia crónica anticonvulsiva. • Baja ingesta de calcio dietético. • Fumador. • Consumo excesivo de alcohol. • Consumo excesivo de cafeína. • Peso <57kg. • Pérdida de peso $>10\%$ de su peso en los anteriores 25 años. • Terapia de heparina crónica.

Un método para evaluar y predecir el riesgo de fractura atribuido a osteoporosis es la herramienta “FRAX”, el cual integra factores clínicos de riesgo con una densitometría dual de rayos x (DXA) basado en la DMO para predecir un riesgo individual a 10 años de sufrir una fractura de cadera así como la probabilidad a 10-años de tener una fractura osteoporótica mayor en columna vertebral clínica antebrazo, cadera u hombro (Tabla 3)²⁶.

Tabla 3. Factores de riesgo clínico considerados en el FRAX®¹⁵.

Factores de riesgo clínico considerados en el FRAX®	
<i>Factor de riesgo clínico</i>	<i>Descripción</i>
País de residencia	FRAX® disponible a partir de Junio 2009 en: Alemania, Austria, China, Francia, , Italia, Japón, España, Suecia, Suiza, Turquía, Reino Unido, Estados Unidos, Argentina, Bélgica, Finlandia, Hong Kong, Líbano y Nueva Zelanda
Edad	Comprende entre los 40 y 90 años.
Sexo	No se aportan datos.
Raza	Se ofrece solamente para individuos de Estados Unidos, Europeos, Afro-americanos, hispanos y asiáticos.
Peso, talla, índice de masa corporal	Peso en kilogramos (Kg) y la altura en centímetros (cm) para calcular el índice de masa corporal (kg/m ²)
Historial de fractura por fragilidad	Incluye evidencia de radiografías o fracturas por compresión de vertebras.
Historial familiar de osteoporosis	Fractura de cadera materna o paterna.
Fumador recurrente.	No se aportan datos.
Uso de corticoesteroides	Exposición a ≥5mg/día de prednisolona por ≥3 meses (o dosis equivalente de otros glucocorticoides).
Artritis reumatoide	Diagnóstico confirmado por un profesional de la salud.
Osteoporosis secundaria	Diabetes tipo I, osteogénesis imperfecta en adultos, hipotiroidismo no tratado e Hipogonadismo, menopausia precoz, malnutrición crónica ó mala absorción crónica y enfermedades hepáticas.
Consumo de alcohol	Mayor a 3 unidades al día [una unidad equivale a un vaso de cerveza de (285ml), una onza (30ml), o un vaso de vino de tamaño mediano (120ml)].

Ninguna de estas herramientas de decisión está exenta de problemas y, si se aplica a la población general de mujeres posmenopáusicas (>50 años) se ha visto que sobre estima el riesgo, identificar

al menos al 90% de las mujeres >65 años como candidatas para medición de la DMO¹⁵. Por tanto los factores de riesgo clínicos utilizados en FRAX®, asumen que cada uno hace una contribución independiente al riesgo de fractura.

Está muy claro a partir de estudios epidemiológicos, que la edad es un importante factor de riesgo de fractura (figura 11) debido a una disminución en la DMO. Sin embargo también debe haber una edad en la que vale la pena comenzar a utilizar la DMO como herramienta de detección²⁷.

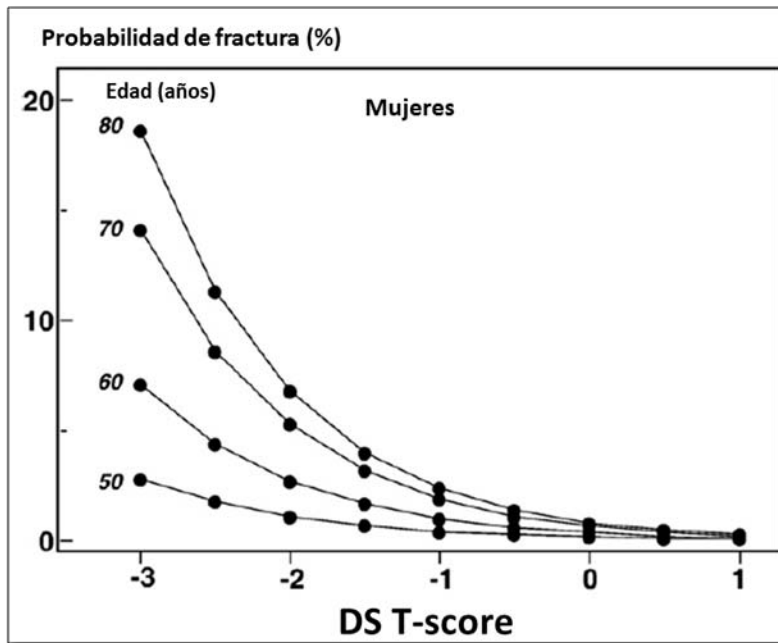


Figura 11. La edad juega un papel decisivo en el riesgo a fractura. Probabilidad a 10 años de fractura en cuello de fémur atribuido a osteoporosis conforme avanza la edad en población sueca¹⁶.

Debido a que la pérdida de hueso se presenta constantemente y es inicialmente asintomática, el diagnóstico de osteoporosis suele ser sólo después de la primera fractura¹⁵. Una vez que ya se tiene el diagnóstico de osteoporosis, lo que resta es el tratamiento para prevenir fracturas. Sin embargo, aun así el individuo esta condicionado a una serie de factores que le predisponen a riesgo de fractura por fragilidad, entre los que destacan: el historial familiar, el uso de glucocorticoides, fracturas previas aunadas a la probabilidad directa aun sin presentar dichos factores de riesgo (Figura 12)¹⁶.

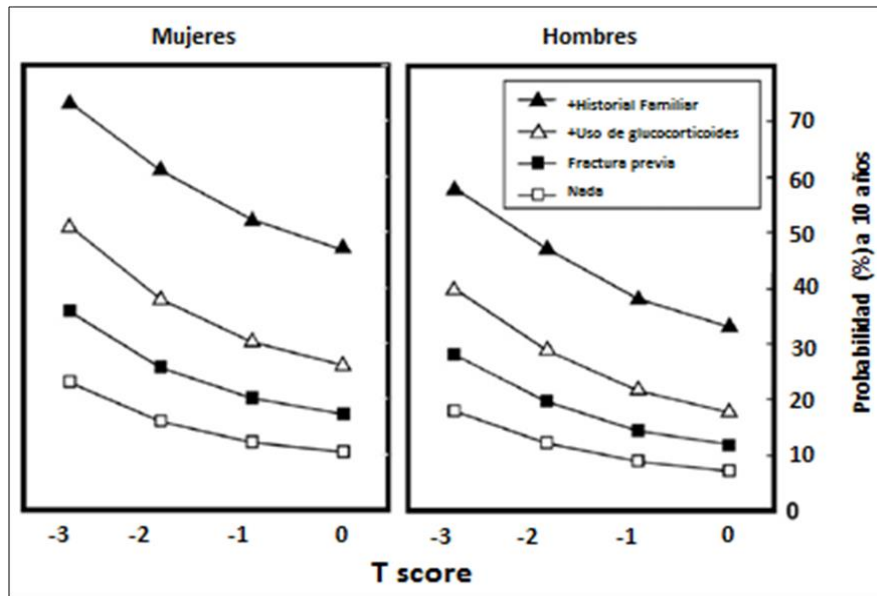


Figura 12. Efecto de tres factores de riesgo clínicos sobre la probabilidad a diez años de una fractura osteoporótica mayor en población de hombres y mujeres caucásicos (65 años)¹⁶.

Por lo anterior surge interés en el monitoreo de la salud ósea mediante la medición de la masa ósea, debido al impacto en todas las etapas de la vida.

Métodos de evaluación del estado óseo.

La evaluación del estado y recambio del hueso en el infante es compleja, el *estándar de oro* para la medición del mineral óseo es la absorción dual de rayos X de baja densidad (DXA por sus siglas en inglés). Este método ha sido probado con suficiencia y aceptado internacionalmente por su baja dosis de radiación, alta exactitud, precisión y alta sensibilidad al diagnóstico para predecir fracturas. Sin embargo, el DXA no es un método que pueda aplicarse a los recién nacidos por problemas de uso de radiación y técnicas de inmovilización total del individuo que para esta población se logra por medio de anestesia completa del individuo, lo que resulta no ético en éste grupo de edad. Una alternativa de evaluación ósea es la medición de la velocidad del sonido (SoS por sus siglas en inglés) por medio del ultrasonido cuantitativo (QUS por sus siglas en inglés) ya que por sus características de seguridad (libre de radiación), facilidad de uso, portabilidad a la cama del paciente, mediciones no invasivas y relativo bajo costo, lo hacen un método atractivo a

explorar. Previamente ha sido evaluado en población pretérmino sana^{28, 29} y en condiciones de masa ósea baja comparada con los referentes que son niños pretérmino sanos³⁰. Cabe mencionar ciertas limitaciones de la ultrasonografía, y ello recae en que estan siendo generados los conocimientos en cuanto a referentes en niños sanos a término y pretérmino.

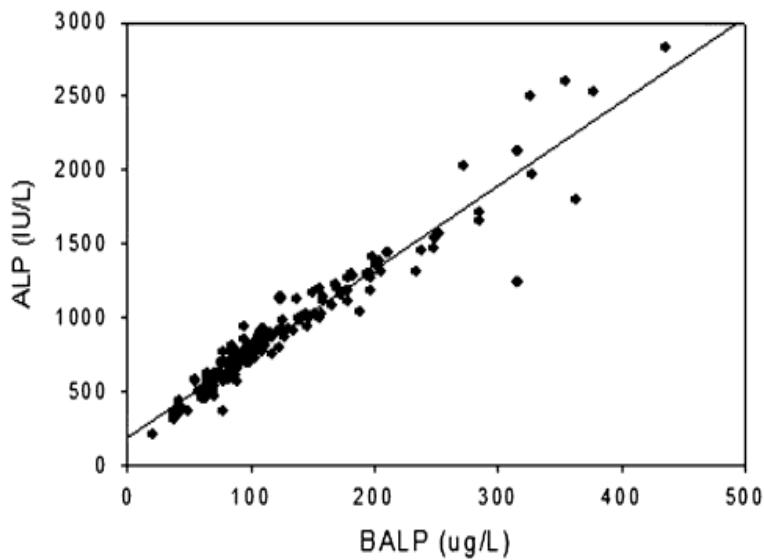


Figura 13. Fosfatasa alcalina como marcador diagnóstico. (A) Asociación positiva entre fosfatasa alcinina alcalina y fosfatasa alcalina ósea [BALP por sus siglas en inglés] n=158 R2=0.93 p<0.001 para 3 y 17 semanas de edad postnatal en 62 infantes pretérmino.

Otras técnicas de evaluación de la maduración esquelética (edad ósea) o grado de osificación, son el uso de indicadores relativamente preciso para medir la edad fisiológica. La zona anatómica más empleada es la mano (mano izquierda por consenso internacional) por las siguientes razones: fácil accesibilidad, escasa radiación y la existencia de un amplio número de huesos en una pequeña zona corporal. Son tres los métodos utilizados : Atlas de Greulich y Pyle³¹ (Comparación radiográfica de mano y muñeca).

El método de Tanner y Whitehouse ³² (evalúa la mano y muñeca: carpo y la sumatoria de estos dos últimos; es un método numérico de osificación al cual se le asignan una puntuación a cada uno de los estadios evolutivos según el sexo, valores que se trasladan a una tabla que nos da la edad ósea. Sin embargo, los métodos anteriores no son aplicables ya que al nacimiento y en el primer año de vida no existe ningún núcleo de osificación y por tanto no son valorables en la radiografía de la mano y estos van apareciendo a lo largo del primer año.

En contraste, el método descrito por Hernandez y colaboradores en 1988³³, se basa en una radiografía lateral del pie y tobillo izquierdos, y valora cinco núcleos de osificación a los que se les da una determinada puntuación siendo la suma de todos ellos la maduración ósea, que se comparara con los estándares de población general³⁴. La mayor desventaja de los anteriores métodos es requerir forzosamente de la toma de radiografías y personal calificado para la aplicación de dichos instrumentos.

En cuanto a la evaluación molecular del balance entre reabsorción y generación ósea, se han planteado diversos biomarcadores que indican el estado específico en el balance entre la reabsorción y generación ósea y la interacción que mantienen con la vitamina D₃, algunos de ellos son: calcio, fosfatos, fosfatasa alcalina por su alta relación con la fosfatasa alcalina específica (figura 13), paratohormona y sus consecuencias clínicas (Tabla 4)³⁵.

Tabla 4. Biomarcadores óseos séricos y su relación con los niveles de vitamina D.

	25(OH)D (ng/mL)	Calcio	Fosfatos	Fosfatasa alcalina	Paratohormona	Clinical
Severe vitamin D deficiency	<5	↓↓	↓↓	↑↑↑	↑↑↑	Raquitismo severo
Vitamin D deficiency	<15	↓→	↓	↑↑	↑↑	Raquitismo
Vitamin D insufficiency	<15-20	→	→	↑→	↑→	Baja DMO
Vitamin D adequacy	>20-100	→	→	→	→	→
Vitamin D intoxication	>150	↑	↑	↓	↓	Hiperostosis

DMO: Densidad mineral ósea. Normal: → Alto: ↑ Bajo: ↓

Como podemos observar, la vitamina D impacta directamente en los fenómenos implicados en la salud ósea y muscular de los individuos, inclusive si éstos son en mujeres en estado de gestación, el impacto se transfiere al producto: La Dra. Clark P. y colaboradores en 2008, observaron que mujeres de 14 a 29 años con deficiencia de vitamina D se encontraba asoció con alteraciones en el desarrollo del producto en un 52%³⁶.

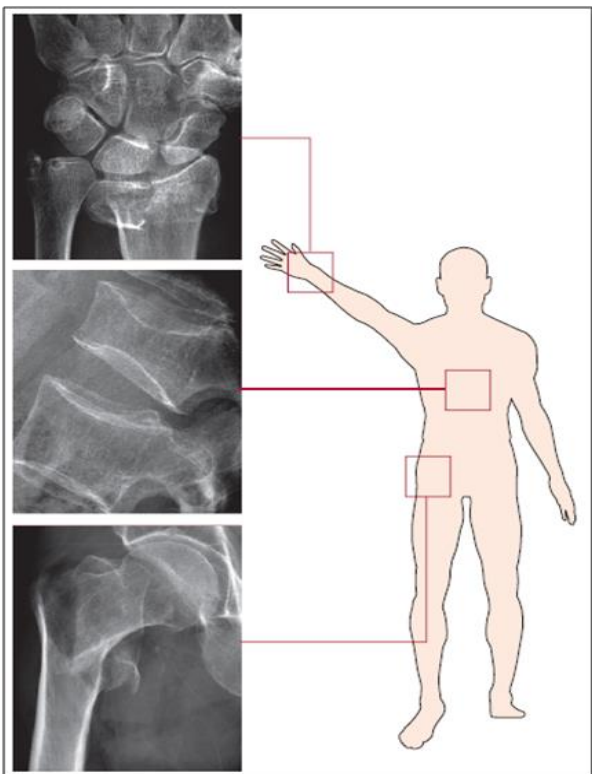


Figura 14. El riesgo de fractura por fragilidad en un paciente con osteoporosis es de 40%, siendo afectadas más comúnmente las áreas como: muñeca, vértebras y cadera; aunque también se observan en trocánter, húmero y costillas¹⁷.

Actualmente ya se tienen valores de referencia de la DMO de población mexicana sana en distintas áreas, en espina lumbar (figura 15^a), cadera (figura 15^b) y totales (figura 15^c) donde se demuestra que las bases de referencia del fabricante subestiman significativamente el número de casos con densidad mineral ósea anormal en la población mestiza mexicana³⁷; lo que resulta de utilidad para denotar nuestra particularidad genética, étnica y alimenticia.

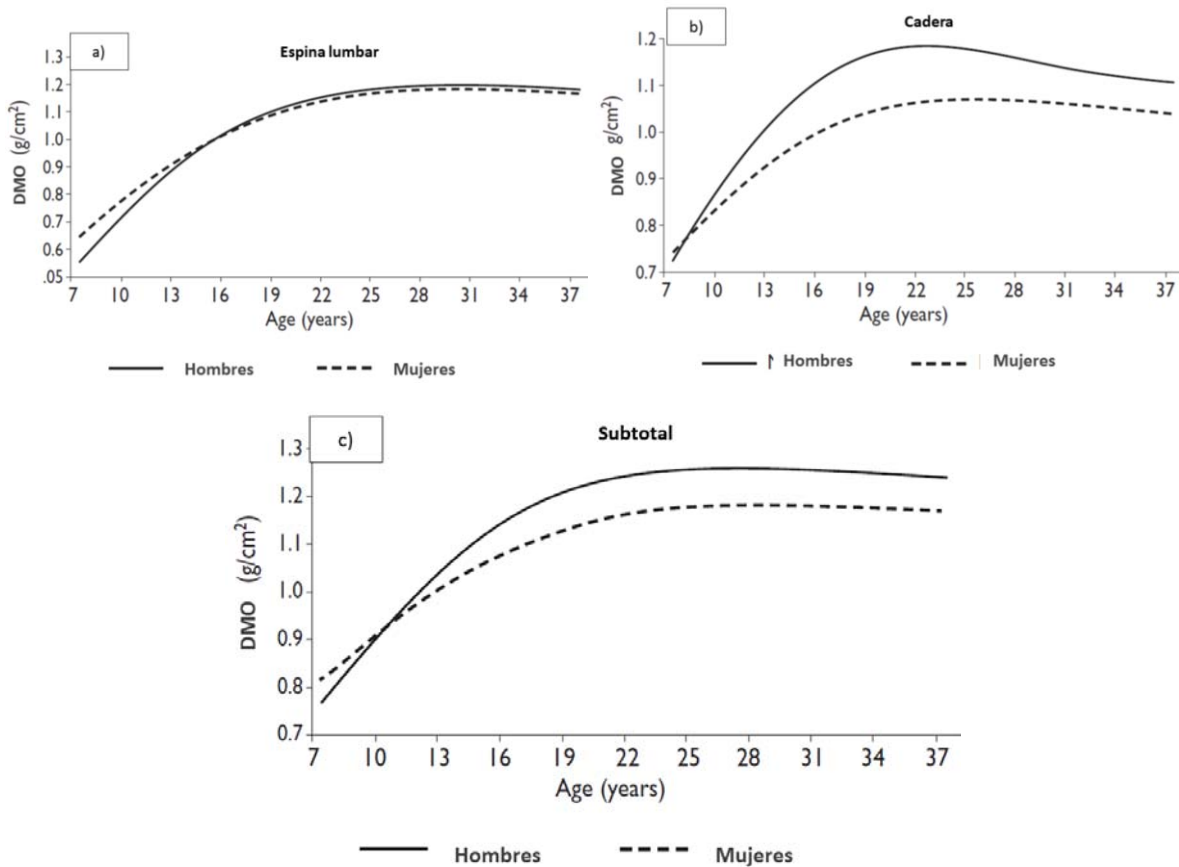


Figura 15. Distribución de la densidad mineral ósea en tres regiones anatómicas de hombres y mujeres mexicanas de 7 a 37 años de edad. (a) espina lumbar, (b) cadera y (c) total¹⁸.

Sin duda, la DXA presenta múltiples beneficios. Sin embargo, en México sólo el 25% de estos instrumentos se encuentran disponibles en instituciones gubernamentales de salud, lo que refleja poca factibilidad para su uso como prueba de tamizaje en población de primer nivel de atención³.

El DXA no está libre de presentar limitaciones y cabe mencionar algunas: Este instrumento mide las áreas mineral del hueso, no es capaz de evaluar la geometría ósea, tampoco distinguir entre el hueso cortical, la cubierta exterior, y el hueso trabecular, la parte interna esponjosa, que son importantes determinantes de la resistencia y de la pérdida ósea³⁸. Existen múltiples métodos alternativos al DXA (Tabla 5), entre ellos los realizados por medio de tomografías computarizadas³⁹, resonancia magnética y un tercer método es el QUS⁴⁰.

Tabla 5. Técnicas para la evaluación de la calidad ósea²¹.

Técnica y área de exploración	Tiempo aproximado de exploración en minutos	Precisión, error (%)	Exposición a radiación mrem
La DXA es una radiografía de baja radiación, que puede detectar porcentajes bastante bajos de pérdida ósea. Se utiliza para medir la densidad ósea de la columna y la cadera, y también puede medir la densidad ósea de todo el esqueleto.	5-10	1-2	1-5
La pDXA (DXA periférica) mide la masa ósea del antebrazo, dedo y talón.	5-15	1-3	1
La SXA (absorbimetría de rayos X de energía simple) mide el talón o la muñeca.	5-15	1-3	1
La QCT (Tomografía Computada Cuantitativa) mide la columna o la cadera. La pQCT (QCT periférica) mide el antebrazo.	10-30	2-4	50
El QUS (Ultrasonido Cuantitativo) utiliza ondas de sonido para medir la densidad en el talón o el dedo	5-10	1-2	0
La DPA (absorciometría de fotón dual) mide la columna, la cadera o la totalidad del cuerpo.	No se encontró registro		
La SPA (absorciometría de fotón simple) mide la muñeca.	No se encontró registro		

Los avances en las técnicas de imagen con tomografía computarizada periférica (TC) de alta resolución con rendimiento volumétrico de la densidad ósea podrían permitir una mejor predicción de los huesos fuerza y por lo tanto el riesgo de fractura, ya que tiene en cuenta índices como intracortical y porosidad del hueso. Sin embargo, es un método de alto costo no recomendable como prueba de tamizaje (figura 16)¹⁹.

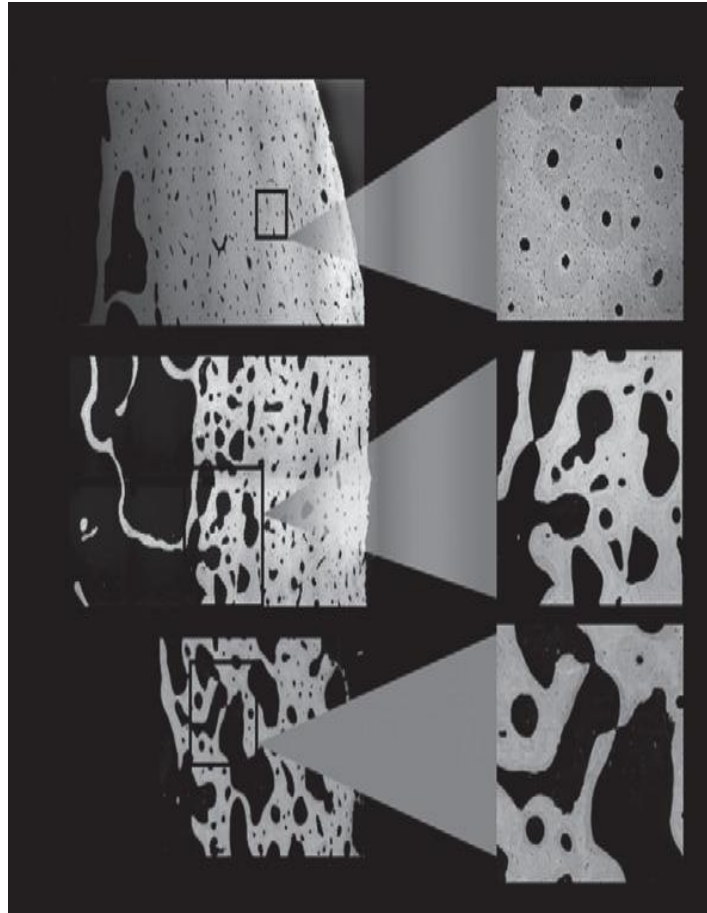


Figura 16. Tomografía computarizada que muestra la porosidad de las muestras post mortem de tres mujeres de diferentes edades (A) Micrografía con muestra de una mujer de 29 años de edad. Los poros son de forma regular y uniformemente distribuido en la corteza. (B) Micrografía con muestra de una mujer 67-años de edad. Los poros son grandes, de forma irregular, y se han unido en la corteza adyacente a la médula para producir restos corticales. (C) Micrografía con muestra de una mujer de 90 años de edad. La mayor parte de la corteza es trabecular y los poros se fundieron. Micrografías son de especímenes anteriores subtrocantéreas¹⁹.

En cuanto al uso del QUS se tiene un creciente interés dadas sus características de portabilidad, técnica no invasiva y relativamente menor costo, aunado a que permite la evaluación de la microestructura de los huesos; es decir, logra la estimación de la masa ósea mediante la emisión de ondas de ultrasonido a través de la atenuación de la banda ancha de ultrasonido (BUA) y la atenuación de la velocidad del sonido (SOS), mostrando la velocidad de transmisión de ondas sonoras a través de los tejidos suaves y el hueso, lo que reflejan no solo al mineral (cristales de hidroxiapatita) sino otros contenidos óseos como lo son la matriz blanda (colágeno) que da al hueso su arquitectura y elasticidad a la masa ósea⁴¹. Sin mencionar su reciente utilidad en la evaluación del riesgo de fracturas en mujeres post-menopáusicas⁴² en varios puntos de medición, como el radio distal, calcáneo, la tibia y falanges (Figura 17).^{43,44}

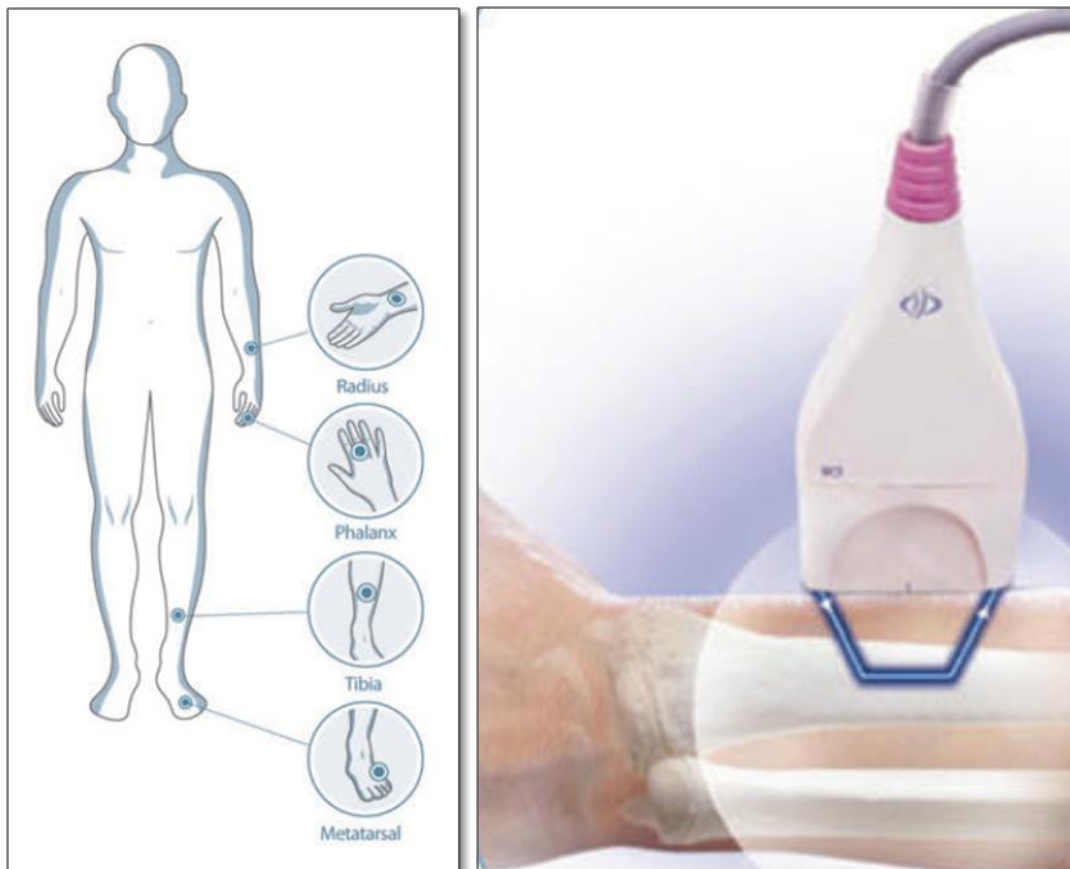


Figura 17. Puntos de medición del ultrasonido cuantitativo para la evaluación ósea: como el radio distal, falanges, tibia y metatarso⁴⁵.

En resumen los ultrasonidos cuantitativos (QUS), miden tres principales formas de transmisión del sonido: La atenuación del sonido (banda ancha del sonido BUA y sus unidades son dB/MHz), la velocidad del sonido (SOS medida en metros por segundo m/s) y que es el de mayor uso en la clínica. Y el índice de rigidez (SI) ó índice de ultrasonido cuantitativo (QUI variable compuesta que combina matemáticamente el BUA y SOS) aunque este generalmente no es empleado en la práctica clínica.

El ultrasonido cuantitativo Sunlight Omnisense (en sus versiones 7000p y 8000p), emplea las bases de datos de referencia recolectadas en cuatro regiones geográficas donde incluyen a sujetos entre las edades de 20 a 90. Actualmente compatibles con los siguientes grupos étnicos (Tabla 6)⁴⁶.

Tabla 6. Poblaciones que cuentan con datos de referencia para el uso del ultrasonido cuantitativo Sunlight Omnisense(modificado de especificaciones del proveedor)⁷⁹. Recientemente se tienen los valores para población mexicana en hombres y mujeres⁴⁷.

Región geográfica	Población
Caucásico	Masculino y Femenino
América del Norte	Masculino y Femenino
América Latina	Mujer
Asia	Masculino y Femenino
México (centro)	Masculino y Femenino ²⁸

El uso del QUS continua siendo controversial, lo anterior, debido al escaso conocimiento sobre los mecanismos físicos del ultrasonido para determinar las características del hueso, a las diferencias que existen entre los distintos aparatos que miden QUS, el uso de distintas variables para medir las características del hueso. Dentro del manejo de distintos aparatos para medir SOS, el empleo del QUS Omnisense destaca por contrastar con los transductores fijos ya que utiliza sondas manuales para medir múltiples sitios periféricos lo que le suma practicidad⁴⁸,

Diferencias DXA y QUS.

La densidad de la masa ósea que se analiza con DXA, mide los cristales de hidroxapatita del hueso con un movimiento transversal y longitudinal (en zig-zag). Esto permite recorrer un área amplia, ya que la atenuación de los rayos X depende de la estructura que atraviesan y de la energía de los fotones, la medición de los factores de transmisión en dos energías diferentes (DUAL) permitiendo determinar la densidad del contenido mineral óseo⁷.

El QUS a diferencia del DXA logra la estimación del superficie ósea y cartílago mediante la emisión de ondas de ultrasonido que a través de la atenuación de la velocidad del sonido y la amplitud de la onda, reflejan no solo al mineral (cristales de hidroxapatita) sino a los otros contenidos del hueso como lo son la matriz blanda (colágeno) y celular que da al hueso, y su arquitectura y elasticidad⁴⁹.

Como se ha mencionado, el DXA y el QUS no son equiparables desde el punto de vista técnico, debido a que utilizan distintos tipos de tecnología para el diagnóstico de la masa ósea. Sin embargo, ambas técnicas al medir la masa ósea, tienen la capacidad de predicción de fracturas, aportando importantes herramientas en la decisión del tratamiento inicial. Se reportan sus diferencias en el siguiente cuadro (Tabla 7).

Tabla 7. Contraste de principales características de DXA y QUS.

Parámetro	DXA	QUS
Radiación	2mRems	0.2mRems
Lugar de Medición	Cualquier parte del esqueleto	Solo huesos periféricos
Precisión	Error del 1%	Error del 3.4%
Porcentaje mínimo de cambio detectado.	2.8%	9.6%
Portabilidad	Nula	Completa
Nivel de atención	Tercer nivel o especialistas	Primer contacto
Precio	400,000 USD	45,000, USD
Precio por medición	40 USD	0 USD
Uso sugerido	Confirmación y Diagnóstico de osteopenia/osteoporosis	Prueba de tamizaje para la identificación de sujetos en riesgo de osteoporosis

Correlación DXA y QUS reportada en la literatura

Al realizar una revisión sistemática de la literatura sobre la correlación entre la ultrasonografía cuantitativa y la densitometría dual de rayos x (Tabla 8), podemos observar que existen estudios de correlación entre DXA y QUS en diferentes poblaciones y estados de salud. Entre las conclusiones que destacan son la utilidad del SOS para diagnosticar estado óseo en mujeres postmenopáusicas con Diabetes Mellitus tipo II. En otra publicación se menciona que no se encuentra correlación entre SOS tibia y anorexia nerviosa vs control (jóvenes sin anorexia nerviosa), pero si para SOS radio con anorexia nerviosa vs control, siendo su poder predictivo de 63.9 (29.9) $p=0.03$ al controlar IMC, edad y raza. Concluyen también que las medidas periféricas no pueden ser utilizadas como un sustituto de la DXA de cadera. Sin embargo, podría ser útil para guiar la derivación de pacientes para el centro especializado donde se cuente con servicio de DXA.

Se sugiere también a QUS en tibia y radio como herramienta útil para preseleccionar las mujeres posmenopáusicas en quienes DXA axial está indicada para confirmar o excluir el diagnóstico de osteoporosis en la columna o la cadera. Y finalmente se entabla una controversia sobre la utilidad de QUS tibia, pues mientras que en otras publicaciones se destaca una fuerte correlación significativa entre DXA y mediciones QUS tibia que sugieren que éste es una técnica que puede ser aplicable en niños y adolescentes.

La correlación mas alta y estadísticamente significativa entre QUS tibia y DXA total en niños y adolescentes (7-23 años) varones $r=0.81$, en mujeres $r=0.77$; respecto a DXA lumbar en varones $r=0.79$ y en mujeres $r=0.72$ (Tabla 6)⁵⁰. En general, estos resultados varían según la etnia^{51, 52, 53, 54, 55}, y estado de salud^{56, 57, 58, 59} (Tabla 9).

Tabla 8. Correlación mas alta reportada entre DXA cadera y QUS tibia y radio³¹.

Reporta	Finalidad Área de medición	Nivel de correlación (Significancia estadística)	
		DXA	QUS tibia
Van Rijn RR. 2000.	Predictor de fracturas de cadera.	R=0.83	R=0.73
	Femúr/1/3del Radio distal	P<0.001	P=0.008

PUBLICACIONES RELACIONADAS CON EL TEMA

- ❖ **Comparación de diferentes dosis de Vitamina D en el recambio y estado óseo de infantes pre-término ingresados a la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales: Ensayo Clínico Aleatorizado.**

Derivadas del proyecto de vitamina D en neonatos se publican 3 artículos asociados con el tema:

1. Toussaint-Martínez de Castro G, Guagnelli MÁ, Clark P, Méndez-Sánchez L, López-González D, Galán-Herrera J-F, et al. Vitamin D, not Iron, Is the Main Nutrient Deficiency in Pre-school and School-aged Children in Mexico City: A Cross-Sectional Study. *Nutrición Hospitalaria*. 2016;33(4):794-800. DOI: <http://dx.doi.org/10.20960/nh.372> [Anexo IV]

La vitamina D, y no el hierro, es la principal deficiencia nutricional en niños preescolares y escolares en la ciudad de México: un estudio transversal

Resumen

Introducción: en 2012 la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) mostró una prevalencia moderada de deficiencia de vitamina D, alrededor del 16%, en una muestra de niños representativa del país. A su vez, la anemia carencial ha disminuido durante los últimos 15 años en México. El objetivo del presente estudio fue determinar los niveles de vitamina D en niños de 3 a 8 años de edad en cuatro diferentes regiones dentro del área metropolitana de la Ciudad de México y compararlos con los niveles de hierro y zinc como referentes del estado nutricional.

Métodos: ciento diecisiete niños sanos de 3 a 8 años de edad que regularmente asisten a cuatro diferentes hospitales en la Ciudad de México fueron invitados a participar. Todos los niños recibieron una evaluación médica y nutricional, y se obtuvieron muestras de sangre.

Resultados: se reclutaron niños en los cuatro hospitales entre abril y agosto del 2008. Más de la mitad (51,3% fueron niños, su edad promedio fue de $5,5 \pm 1,6$

años. La prevalencia de sujetos con niveles deficientes de 25-OH-vitamina D (< 50 nmol/l) fue de 24,77%. Ninguno de los niños tuvo niveles de hemoglobina por debajo del umbral de la anemia y la determinación de zinc reveló que 8,26% de los individuos tenían niveles deficientes (< 65 μ g/dl). Estos datos confirman los hallazgos reportados en el ENSANUT acerca de la reducción sostenida en la prevalencia de anemia en escolares y preescolares, pero también muestran que se eleva la de deficiencia de vitamina D en esta población. De forma similar a otros estudios, encontramos un vínculo entre el estatus socioeconómico y la deficiencia de micronutrientes en tanto que estos son marcadores de mejor estado nutricional y la vitamina D se relaciona notablemente con la calidad de la dieta. Estos hallazgos no se han considerado previamente en nuestra población.

Conclusiones: existen datos que sugieren una disminución progresiva de la anemia en niños mexicanos debido a una fortificación general de los alimentos y el enfoque en población vulnerable, mientras que la deficiencia de vitamina D parece haber incrementado. Se requieren más estudios para obtener más información acerca de los niveles de vitamina D en distintos grupos de edad y definir a los grupos susceptibles para investigar la posibilidad de llevar a cabo medidas de impacto en la población general como enriquecimiento de alimentos, que ha probado ser efectiva en otros nutrimentos.

-
2. López-González D, Méndez-Sánchez L, Guagnelli MÁ, Clark P. Deficiencia de vitamina D en la edad pediátrica. Una oportunidad de prevención. Boletín médico del Hospital Infantil de México. 2015;72(4):225-34. DOI: [10.1016/j.bmhmx.2015.01.011](https://doi.org/10.1016/j.bmhmx.2015.01.011).

Deficiencia de vitamina D en la edad pediátrica. Una oportunidad de prevención

Resumen La prevalencia de deficiencia de vitamina D en la población pediátrica ha incrementado en los últimos años y se considera que continúa subdiagnosticada y subtratada. De acuerdo con datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición

2006, en México se ha estimado una prevalencia del 16% en niños de 2 a 12 años. La vitamina D desempeña un papel fundamental en la formación y homeostasis del hueso, y consecuentemente en el crecimiento. Su deficiencia se asocia con enfermedades como raquitismo y osteomalacia, y se ha relacionado con otros padecimientos, como obesidad, síndrome metabólico, diabetes, cáncer, infecciones de vías respiratorias y problemas del sistema inmune. En la literatura se han descrito grupos específicos de riesgo para deficiencia de vitamina D en los que el suplemento pudiera ofrecer un beneficio. Actualmente aún hay controversia en definir los niveles séricos de suficiencia, así como la dosis de suplemento. En México, la ingesta diaria sugerida de vitamina D es de 5.6 μ g/día (224 UI), que resulta significativamente menor a las recomendaciones en los Estados Unidos y Europa (entre 400 y 1,000 UI). Debido al aumento en la deficiencia de vitamina D en los últimos años y a la falta de consenso con respecto a los niveles de suficiencia de vitamina D (ya que los valores de corte varían de 20 a 30 ng/ml considerados por la asociación de endocrinología), el objetivo de esta revisión fue proporcionar un panorama general del problema en la población pediátrica, así como describir aquellos grupos en riesgo y analizar las recomendaciones vigentes para el suplemento de vitamina D.

La deficiencia de vitamina D se ha considerado rara en México, y la falta de evidencia no ha permitido establecer las recomendaciones de ingesta diaria, de acuerdo con el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Sin embargo, hoy debe reconocerse como un problema de salud, meritorio de atención y acción. Sugerimos que se lleven a cabo estudios prospectivos en nuestro país, donde se establezca la relación entre la deficiencia sérica de vitamina D y la pobre mineralización ósea.^{[1][2]}

3. Patricia Clark, Lucia Méndez-Sánchez, Desireé López-González, Alfredo Reza Albarrán, Solange Heller R, Mario Flores, Luis Miguel Gutiérrez Robles. Brochure: importancia de la prevención de la deficiencia de vitamina d por medio de la

suplementación a población vulnerable. Boletín informativo CCINSHAE. 2014,10; Pag.40-55.

Presentaciones de Trabajos en Congresos Nacionales e Internacionales de estas publicaciones:

Marzo 2014.

Presentación de carteles en el XIV Congreso Mexicano de Osteoporosis y Enfermedades Metabólicas Óseas. México2014. Del 14-17 de Marzo del 2014. Con el trabajo:

- “Efecto de suplementación con vitamina D en pediatría para alcanzar niveles de suficiencia: Revisión sistemática” Autores: Méndez-Sánchez Lucia, López-González Desireé, Clark Patricia.

❖ **Desempeño diagnóstico de la Densitometría Dual de rayos X (DXA) y el Ultrasonido Cuantitativo (QUS) versus la Biopsia ósea metabólica, en la evaluación del estado óseo en pacientes pediátricos receptores de trasplante renal**

Dos artículos fueron derivados de este protocolo .:

1. A.L. González-Jorge, S. Enciso, A. Reyes, A.M. Hernández, L. Ortiz, R. Aldana, F. Velásquez-Forero, R. Ambrosi, P. Clark, L. Méndez, R. Rivas-Ruiz and M. Medeiros: 635-638. Post-Renal Transplantation Bone Health in Children Evaluated by Means of Quantitative Ultrasound and Densitometry. Transplantation proceedings. 2016;48(2):635-8. PMID:27110019. DOI:[10.1016/j.transproceed.2016.02.025](https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2016.02.025).

Trasplante post-renal Salud ósea en niños evaluados por medio de ultrasonido cuantitativo y densitometría

RESUMEN

Los pacientes con enfermedad renal en etapa terminal desarrollan una enfermedad mineral ósea, que no siempre se resuelve después de un trasplante renal exitoso; además, algunos de los inmunosupresores utilizados para prevenir el rechazo del injerto pueden afectar la salud ósea. El objetivo de este estudio fue evaluar la salud ósea de los niños trasplantados con el uso de ultrasonido cuantitativo (QUS) y absorbiometría de rayos X de energía dual (DXA).

Métodos. Se realizó un estudio descriptivo en niños >3 meses después del trasplante renal y con función estable de injerto. Se realizaron evaluaciones de QUS radiales y DXA (columna lumbar y cuerpo total sin cabeza (TBLH) el mismo día.

Resultados. Se incluyeron 35 pacientes. La edad media fue de 13,9 ± 3,9 años. Diez sujetos tuvieron una puntuación total de densidad ósea <2 (28,5%), 4 una puntuación Z de la columna lumbar (L1-L4) de <2 (11,4%) y TBLH <2 y 6 sujetos tenían una puntuación Z de QUS radial de <2 (17,1%), y sólo 2 de ellos tenían

puntuación Z concomitante <2 con el uso de DXA. Hubo una correlación positiva no significativa entre TBLH y las puntuaciones QUS Z radiales (Pearson $r = 0,317$; $P = 0,016$) y una correlación significativa positiva de la columna lumbar DXA y las puntuaciones QUS Z radiales (Pearson $r = 0,452$; $P = 0,014$).

Conclusiones. A pesar de una buena correlación entre TBLH y QUS Z-puntuaciones, hay sujetos que pueden ser considerados normales por QUS y en realidad tienen osteopenia por TBLH DXA y viceversa; esto podría deberse a las diferentes áreas óseas evaluadas.

2. Rivas-Ruiz R, Mendez-Sanchez L, Castelan-Martinez OD, Clark P, Tamayo J, Talavera JO, et al. Comparison of International Reference Values for Bone Speed of Sound in Pediatric Populations: Meta-analysis. *Journal of clinical densitometry : the official journal of the International Society for Clinical Densitometry*. 2016;19(3):316-25. PMID: 26088387. DOI:[10.1016/j.jocd.2015.04.005](https://doi.org/10.1016/j.jocd.2015.04.005).

Comparación de valores internacionales de referencia para la velocidad ósea del sonido en poblaciones pediátricas: Meta-análisis

Resumen

El objetivo de este estudio fue comparar valores de referencia internacionales (VR) para la velocidad tibial y radial del sonido (SOS) evaluados por ultrasonido cuantitativo (QUS) en poblaciones pediátricas. Estos valores fueron comparados por edad y país de origen en una revisión sistemática con meta-análisis de estudios publicados en QUS (Sunlight Omni-sense). Se realizó una búsqueda en bases de datos electrónicas. Nueve estudios con 6963 pacientes fueron incluidos en el meta-análisis. Para las poblaciones de recién nacidos se utilizaron 3 estudios (de Italia, Portugal e Israel). Estos estudios incluyeron sujetos con 27-42 semanas de edad gestacional. Se encontró que la diferencia de medias (Portugal-Israel) era de 23,62 m/s [intervalo de confianza del 95% [IC] 6,29, 40,95]. Además, no se encontraron diferencias entre Italia-Portugal ($p = 0,69$), o Italia-Israel ($p = 0,28$). En poblaciones

pediátricas, comparamos 8 estudios de Canadá, México, Israel, Grecia, Portugal y Turquía. No se encontraron diferencias significativas para SoS RV entre Israel-Turquía, Israel-Grecia o Israel-Canadá ($p > 0,05$). Se encontraron diferencias significativas en México-Israel: $105,29 \text{ m / s}$ (IC del 95%: $_{-140,05}$, $_{-70,54}$) ($p < 0,001$); México - Portugal $_{-115,14} \text{ m / s}$ (IC del 95% $_{-164,86}$, $_{-65,42}$) ($p \leq 0,001$); México - Grecia: $_{-239,14} \text{ m / s}$ (IC del 95% $_{-267,67}$, $_{-210,62}$) ($p < 0,001$); México - Turquía: $_{-115,14} \text{ m / s}$ (IC del 95%: $_{-164,86}$, $_{-65,42}$) ($p < 0,001$); México - Canadá: $_{-113,51} \text{ m / s}$ (IC 95% $_{-140,25}$, $_{-86,77}$) ($p < 0,001$). Este estudio demuestra que existen diferencias en el SoS-RV obtenido por QUS tibial y radial en poblaciones pediátricas entre México y otros países (Israel, Portugal, Grecia, Turquía y Canadá).

❖ Revisión sistemática Cochrane: Calcio y vitamina D para aumentar la densidad mineral ósea en mujeres premenopáusicas (Protocolo).

[Cochrane Systematic Review: Calcium and vitamin D for increasing bone mineral density in premenopausal women.]

La productividad directa y asociada al trabajo de revisiones sistematicas y meta-analisis se ve reflejada en tres publicaciones internacionales y se mencionan a continuación:

1. Méndez-Sánchez Lucía, López Casimiro Karen, Winzenberg Tania M, Tugwell Peter and Clark Patricia. Calcium and vitamin D for increasing bone mineral density in premenopausal women (Protocol). Cochrane Database of Systematic Review. 2017, Issue 5 Art. No.: CD012664. DOI: [10.1002/14651858.CD012664](https://doi.org/10.1002/14651858.CD012664).
2. Zerbini CAF, Clark P, Mendez-Sanchez L, Pereira RMR, Messina OD, Uña CR, et al. Biologic therapies and bone loss in rheumatoid arthritis. Osteoporosis International. 2016;1-18 PMID: 27796445. DOI: [10.1007/s00198-016-3769-2](https://doi.org/10.1007/s00198-016-3769-2).
3. Valencia SEH, Méndez-Sánchez L, Clark P, Altamirano LM, Aranguré JMM. Glutamina como coadyuvante en la recuperación de la fuerza muscular: revisión sistemática de la literatura. Nutrición Hospitalaria. 2015;32(n04):1443-53. PMID:26545503. DOI: [10.3305/nh.2015.32.4.9321](https://doi.org/10.3305/nh.2015.32.4.9321).

PUBLICACIONES NO RELACIONADAS CON EL TEMA Y OTRAS

COLABORACIONES

1. Gregory Torres-Palomino, Gabriela Juárez, Lucía Méndez-Sánchez. Obstrucción de la vía aérea por higroma quístico en un recién nacido (Airway obstruction due to cystic hygroma in a newborn). Boletín Médico del Hospital Infantil de México, Vol.71, Pag.233-237. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmhimx.2014.07.001>
2. Gregory Torres-Palomino, Gabriela Juárez-Domínguez, Manuel Guerrero-Hernández, Lucía Méndez-Sánchez. Hemorragia intracraneal secundaria a trauma obstétrico en recién nacidos. Anales Médicos Centro Médico ABC. 2015;60 (4):273-277.
3. Torres P Gregory, Juárez D. Gabriela, Méndez-Sánchez Lucía. Escleroterapia en malformaciones linfáticas infantiles: Revisión sistemática de la literatura. Anales Médicos Centro Médico ABC 2014Vol.59, Pag.127-132. Revistas Indizadas.

ESTANCIAS Y CURSOS DE INVESTIGACIÓN

- I. Julio – Agosto 2017. WHO/Cochrane/Cornell Summer Institute 2017 en Cornell University, Ithaca USA.
- II. Septiembre- Diciembre del 2016. Segunda parte de capacitación en Medicina basada en evidencia. Centro Cochrane Grupo Musculoesquelético. Colaboración interinstitucional con la universidad de Ottawa Canadá," Institute of population health. Ejecución de la Revisión sistemática y meta-análisis: Calcium and vitamin D for increasing Bone Mineral Density in pre-menopausal women.
- III. Junio a Septiembre del 2014. Fundamentos de Medicina basada en evidencia. Centro Cochrane Grupo Musculoesquelético. Colaboración interinstitucional con la universidad de Ottawa Canadá," Institute of population health.

ACTIVIDADES DE DIFUSIÓN CIENTÍFICA.

- Titular de la asignatura “Epidemiología Clínica y Medicina Basada en Evidencia” dirigida al tercer año de la licenciatura en la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México. Desde 2012 a la fecha.
- Adjunta de la asignatura “Metodología de la investigación” dirigida a alumnos de primer semestre de la Maestría en Ciencias de la Salud, campo: Epidemiología clínica, en UNAM. Desde 2015 a la fecha.
- Titular de las asignaturas: Epidemiología clínica, Practica en salud basada en evidencia y Búsqueda de literatura científica. En el Diplomado de ciencias de la Salud 2016 a la fecha, impartida en Posgrado UNAM.
- Titular de la asignatura “Nutrición clínica basada en evidencia” dentro de Modulo 1 en el Diplomado Nutrición clínica Pediátrica, impartida por el COANutrición 2015, con sede en la Universidad La Salle de México.
- Profesora invitada, impartiendo los temas: Investigación basada en evidencia y Análisis crítico de la literatura, dentro del Curso de Enfermería basada en evidencia 2016, organizado por el Centro Dermatológico “Dr. Ladislao de Pascua”.

FORMACIÓN DE RECURSOS HUMANOS.

Capacitación de 5 alumnas de pregrado de la carrera de Medicina, en Investigación y medicina basada en evidencia (Revisiones sistemáticas y meta-análisis).

- Dos alumnas de 4º y 5º año.

Karen López.

Berenice Hernández.

Diana Zaragoza.

Mariandrea Pérez.

Alicia Chaves Vilchis.

BÚSQUEDA DE FONDOS.

Una parte fundamental en potenciar la factibilidad del quehacer del investigador es sin duda el postular adecuadamente y obtener fondos que patrocinen su trabajo. Como parte de este trabajo se postuló a las siguientes convocatorias donde lamentablemente no se logró la obtención de fondos:

- Se postulo y paso a segunda etapa de FOSISS-CONACyT 2015.
- Se realizó registro en Comité de Investigación y Ética de la Facultad de Medicina UNAM.
- Postulación a PAPIIT-2016.

CONCLUSIONES.

A través de los proyectos y los artículos derivados de esta línea de trabajo, he tratado de reflejar en esta tesis el impacto que estos han tendido en los cuatro campos de investigación del área de las Ciencias de la salud: Ciencias biológicas, Investigación clínica, Ciencias demográficas y Servicios sanitarios; sin perder de vista la formación en el campo de Epidemiología clínica, entendiendo a la epidemiología clínica como la “*Disciplina dedicada al estudio de personas con una condición clínica particular, a las que se les brinda atención directa, y de las que se pretende obtener evidencias necesarias para la toma de decisiones en su atención*”⁶⁰. Nuestros proyectos han sido enfocados a poblaciones con una condición clínica o enfermedad particular, tratando de incidir en la mejor forma de hacer un diagnóstico, establecer un tratamiento, , establecer criterios de prevención de la enfermedad utilizando siempre , el rigor del método científico en la investigación medica en salud.. (Figura 22).

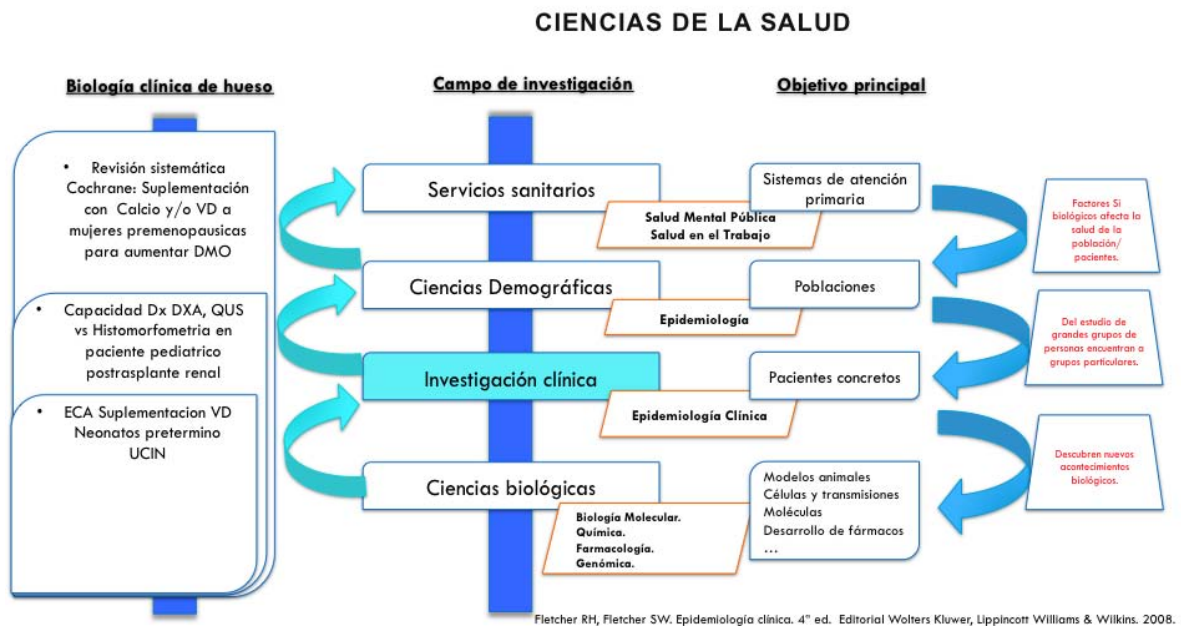


Figura 22. Esquema de Ciencias de la salud y al menos cuatro campos de investigación que la componen, en cuyos objetivos principales destaca la concordancia con los tres proyectos propuestos durante el doctorado.

REFLEXIONES SOBRE EL DOCTORADO

De forma personal quisiera dejar plasmado a través de estas reflexiones la experiencia en el quehacer diario a la cual nos enfrentamos los estudiantes de posgrado en nuestro país; de las habilidades que tenemos que desarrollar a lo largo de este periodo, cuando detectamos problemas que no se relacionan con el desarrollo metodológico de alto nivel del protocolo, sino con la factibilidad en el desarrollo de la investigación por otros problemas. ¿cómo los resolvemos? ¿que alternativas nos permiten seguir con nuestro proceso de formación? ¿qué planes alternos tendremos que seguir para llevar a buen término la obtención de grado académico?.

En este contexto y de forma puntual, me gustaría comentar como fue en lo particular mi formación académica y adquisición de habilidades a lo largo del posgrado, mismos que coinciden con los puntos clave esperados en el perfil de egreso del estudiante de doctorado según el plan de estudio y normas operativas del programa⁶¹, los cuales al menos en mi caso, se cumplen cabalmente:

Sin duda el apoyo de diversas redes y colaboraciones fue crucial en mi formación para permitirme sacar adelante proyectos paralelos. Es entonces que el presente trabajo implica una colaboración inter-institucional y fortalecimiento del personal de investigación con las siguientes instituciones a quienes reconocemos y dedicamos este trabajo (Figura 23):

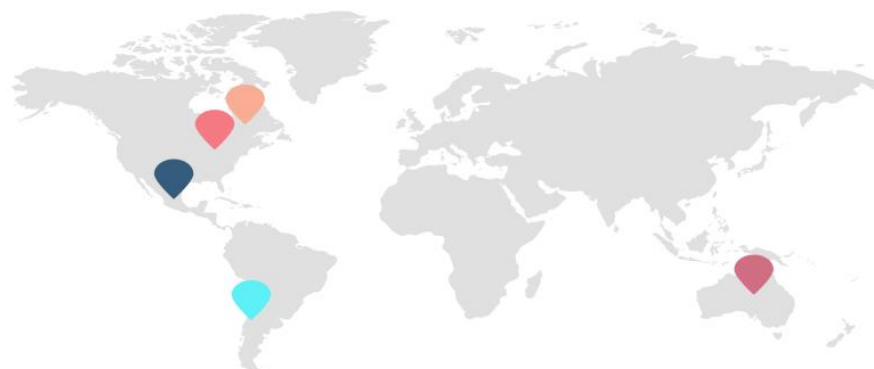


Figura 23. Colaboraciones nacionales e internacionales: México, Canadá, USA, Australia y Chile.

- Unidad de Posgrado en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Cochrane Canadá Musculoskeletal group and Department of Medicine, Faculty of Medicine, University of Ottawa, Ottawa, Canada. Dr. Peter Tugwell, Dr. Lara Maxwell and Lic. Jordi Pardo.
- Menzies Institute for Medical Research and Faculty of Health, University of Tasmania, Hobart, Australia. Tania M Winzenberg.
- Unidad de Epidemiología Clínica del Hospital Infantil de México Federico Gómez. Dra. Patricia E. Clark.
- Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales del Hospital Infantil de México Federico Gómez. Dra. Dina Villanueva.
- Unidad de investigación en Nefrología pediátrica del Hospital Infantil de México Federico Gómez. Dra. Mara Medeiros.

A todos ellos mi enorme gratitud por impulsar las relaciones interinstitucionales, nacionales e internacionales, pero sobre todo gracias por impulsar a las carreras de los jóvenes investigadores.

Y es entonces que pude comprobar y desarrollar en experiencia propia la visión amplia sobre la visión estrecha de persistir con la idea de un proyecto que por causas ajenas a la planeación inicial resulta en un proyecto no factible. Sin duda el saber reconocer y abortar a tiempo un proyecto que presenta un problema de esta índole, es una estrategia determinante para desarrollar el perfil del egresado que se encuentra descrito en nuestro programa y permite a través de estos ejemplos visualizar no únicamente el éxito de terminar un proyecto de investigación a tiempo sino resolver los problemas y establecer planes alternos para terminar en tiempo y forma con la obtención del grado. La experiencia sin duda fue positiva y finalmente refleja el día a día del investigador.

RECURSOS.

Los recursos empleados para la realización del presente trabajo, capacitación nacional e internacional así como la presentación internacional de los resultados obtenidos, fueron otorgados por el programa de becas nacionales de alto rendimiento del Consejo Nacional para la Ciencia y la Tecnología, el Programa de Posgrado en Ciencias de la Salud UNAM y la Unidad de Epidemiología Clínica del Hospital Infantil de México Federico Gómez, México.

IMPLICACIONES ÉTICAS.

La recolección de datos, estas mediciones fueron aprobadas por los respectivos comités éticos de cada institución, En todos los pacientes y población evaluada se obtuvo su consentimiento informado y asentimiento informado (de ser pertinente), manteniéndose en absoluta confidencialidad el manejo y resguardo de sus datos personales, es a los pacientes a quienes destacamos un especial agradecimiento por su valioso aporte al desarrollo científico de nuestro país.



**EFFECTIVIDAD DE DOS DIFERENTES DOSIS
DE VITAMINA D EN EL METABOLISMO ÓSEO
DE RECIÉN NACIDOS PRETÉRMINO
INGRESADOS A UNA UNIDAD DE CUIDADOS
INTENSIVOS NEONATALES: *ENSAYO
CLÍNICO ALEATORIZADO TRIPLE CIEGO.***

P R E S E N T A:

Alumna:

MCS. LUCIA MÉNDEZ SÁNCHEZ

Investigador Principal:

DRA. PATRÍCIA E. CLARK PERALTA
Jefa de la Unidad de Epidemiología Clínica

Investigador Suplente:

DRA. DINA VILLANUEVA GARCÍA
Jefa de Servicio de la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales

Hospital Infantil de México Federico Gómez.

2014.

ÍNDICE GENERAL	PÁGINA
RESÚMEN:	5
INTRODUCCIÓN.	8
IMPLICACIONES DE LA VITAMINA D EN EL RECAMBIO ÓSEO.	9
MÉTODOS DE EVALUACIÓN DEL ESTADO Y RECAMBIO ÓSEO: DXA, QUS Y BIOMARCADORES.	12
EL RECIÉN NACIDO PRETÉRMINO.	14
POBLACIÓN CON MAYOR ACTIVIDAD METABÓLICA ÓSEAS EN MÉXICO.	16
ENFERMEDAD ÓSEA DEL PREMATURO Y SUPLEMENTACIÓN CON VITAMINA D.	17
POTENCIAL TOXICIDAD DE LA VITAMINA D	19
EL RECIÉN NACIDO PREMATURO INGRESADO A UNA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS NEONATALES.	19
EVIDENCIA DE SUPLEMENTACIÓN CON VITAMINA D Y EFECTO EN EL METABOLISMO ÓSEO DE <i>INFANTES PRETÉRMINO Y NEONATOS SANOS</i> : REVISIÓN SISTEMÁTICA DE LA LITERATURA.	21
SUPLEMENTACIÓN NUTRIMENTAL CON VITAMINA D: SUSTANCIA PURA O EN COMBINACIÓN.	28
JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	30
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.	31
OBJETIVOS.	31
Objetivos primarios.	32
Objetivos secundarios.	32
Hipótesis o expectativas empíricas.	32
METODOLOGÍA.	32
Diseño del estudio.	32
Selección de la población.	32
• <i>Inclusión.</i>	32
• <i>Exclusión.</i>	33
• <i>Eliminación.</i>	33
Cálculo de tamaño de muestra.	33
Selección y operacionalización de las variables.	33
Administración y cegamiento.	35
• <i>Cegamiento.</i>	35
• <i>Administración.</i>	36

Técnicas e instrumentos	37
• Administración de la vitamina D.	38
• Toma de muestra.	38
• Obtención de la información clínica y familiar.	39
• Manejo y análisis de los datos.	39
CONSIDERACIONES ÉTICAS DE LA INVESTIGACIÓN.	40
Beneficio directo para el paciente y los padres de familia.	41
Beneficios indirectos	41
Recursos Humanos y materiales.	41
• Investigador principal.	41
• Investigador colaborador.	41
• Investigador coordinador.	41
• Personal que administre la maniobra.	41
• Promotor investigador.	41
Presupuesto.	43
Programa de trabajo y cronograma de actividades.	43
Limitaciones del estudio.	43
BENEFICIOS CIENTÍFICOS ESPERADOS.	44
ANEXOS	
ANEXO I. Flujograma revisión sistemática.	45
ANEXO II. Productos suplementados con vitamina D como sustancia pura o en combinación de venta en México al 2013.	46
ANEXO III. Carta de consentimiento informado para participación de padres y sus hijos.	52
ANEXO IV. Hoja de recolección de datos basales, mensuales y calendarización de suplementación con vitamina D (Frasco cegado).	56
ANEXO V. Carta compromiso de confidencialidad como colaborador de proyecto desempeñando funciones como Revisor(a) de expedientes clínicos/ Cegamiento de la maniobra.	62
ANEXO VI. Carta de revocación del consentimiento informado.	63
ANEXO VII. Especificaciones del suplemento de vitamina D (Colecalciferol) marca registrada Biocare® en el idioma de origen (inglés).	64
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	65
<i>Índice de figuras.</i>	
Figura I. Balance de calcio durante el embarazo y la lactancia, flujo abrumadoramente a favor del feto y del recién nacido. Las fuentes de calcio en la vida fetal son ingresadas a través del transporte activo a la placenta, del cual muy poco calcio es devuelto a la circulación materna.	8

<i>El resto de calcio es excretado en la orina, estando disponible para la reabsorción por el intestino. Este proceso es mediado por la placenta y la producción de vitamina D del feto</i>	
Figura 2. <i>Metabolismo óseo e importancia de la Vitamina D su recambio y balance como determinantes de salud ósea.</i>	9
Figura 3. <i>Mecanismo de acción: La vitamina D y el metabolismo óseo. * PTH= hormona paratiroidea.</i>	11
Figura 4. <i>Fosfatasa alcalina como marcador diagnóstico. (A) Asociación positiva entre fosfatasa alcalina y fosfatasa alcalina ósea [BALP por sus siglas en inglés] n=158 R2=0.93 p<0.001 para 3 y 17 semanas de edad postnatal en 62 infantes pretérmino.</i>	13
Figura 5. <i>Diagrama del Ensayo Clínico Aleatorizado: triple ciego. “Efectividad de dos diferentes dosis de suplementación con vitamina D en las concentraciones séricas de 25-OH-D en niños pretérmino ingresados UCIN”</i>	34
Figura 6. <i>Cegamiento y asignación de la maniobra para cada paciente, el personal de residencia que aplica la maniobra y el investigador que analiza los datos.</i>	35
Figura 7. <i>Forma de administración del concentrado de vitamina D vía aerosol, en un disparo se dosifican 0.2 ml de la fórmula que contiene la dosis específica de 400 o 1000 UI de Colecalciferol (imagen modificada para éste estudio).</i>	36
<i>Índice de tablas.</i>	<i>Página</i>
Tabla 1. <i>Niveles de suficiencia y deficiencia establecidos por el Instituto de Medicina USA y los establecidos por investigadores en la materia.</i>	12
Tabla 2. <i>Biomarcadores óseos séricos y su relación con los niveles de vitamina D.</i>	14
Tabla 3. <i>Factores de riesgo que predisponen a la población neonatal pretérmino hasta 40% de riesgo a desarrollar alteraciones metabólicas óseas.</i>	15
Tabla 4. <i>Población mexicana estratificada por edades de mayor recambio óseo (0-19 años) y menor recambio óseo asociado a mayor riesgo de enfermedades metabólicas óseas (>60 años), datos INEGI a diciembre del 2013.</i>	17
Tabla 5. <i>Raquitismo tratado por deficiencia de vitamina D: suplementación con VD y calcio, monitoreo y terapia.</i>	18
Tabla 6. <i>Tabla de evidencia de suplementación con vitamina D y efecto en el metabolismo óseo de <u>infantes pretérmino</u>: revisión sistemática de la literatura.</i>	23
Tabla 7. <i>Tabla de evidencia de suplementación con vitamina D y efecto en el metabolismo óseo de <u>neonatos</u>: revisión sistemática de la literatura.</i>	24

Tabla 8. <i>Biomarcadores y técnica de laboratorio empleada para su reporte.</i>	38
---	----

Resumen:

La población neonatal pretérmino presenta un riesgo etiologico de no alcanzar un desarrollo adecuado, derivado de su inmadurez y falta de acumulación mineral ósea intrauterina, ya que el tercer trimestre del embarazo es la fase mas importante para esta acumulación nutrimental. Este riesgo aumenta si el neonato presenta bajo peso al nacer o requiere de cuidado médico intensivo; de ser el caso, derivado de ciertas condiciones premorbidas existe predisposición a sufrir alteraciones del metabolismo óseo que resultan a su vez en afecciones a su desarrollo. Independientemente de la causa, en neonatos pretérmino sanos son reportadas cerca de un 2% de fracturas derivadas del deterioro óseo y se desconoce cual es la prevalencia en pretérminos ingresados a la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN). Un coadyuvante en el tratamiento de pacientes que tienen alteraciones en el hueso, son la administración de dosis altas de vitamina D₃ (calciferol) a dosis de 400 Unidades internacionales (UI) diarias, aceptándose megadosis sólo para pacientes con raquitismo (padecimiento que deriva de la deficiencia de vitamina D) con dosis que van desde las 1000 UI a las 10,000 UI. Existen diversos estudios que evalúan la suplementación con vitamina D. Sin embargo, no existe consenso de cual es la dosis óptima con efecto positivo en el metabolismo óseo.

Hasta ahora, la población que conjunta la prematuridad con múltiples factores de comorbilidad asociados a su estancia en la UCIN no cuentan con una terapia de suplementación que apoye y proteja al metabolismo y estructura ósea a corto y largo plazo, mucho menos han sido probadas dosis de vitamina D superiores a las contenidas en la fórmula o alimentación parenteral de rutina (40 UI/día); como tratamiento o contemplando una administración oral en presentación de aerosol (absorción en mucosa bucal), ello como un método preventivo a desordenes óseos o en el peor de los casos presencia de fracturas.

Objetivo: Determinar la efectividad de dos diferentes dosis de vitamina D (vía oral en aerosol de 400 UI/día y 1000 UI /día durante tres meses) en el metabolismo óseo de neonatos pretérmino ingresados a la UCIN del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Métodos:

Diseño del estudio. Ensayo clínico aleatorizado triple ciego. Donde se evaluarán a pacientes ingresados a la UCIN que cumplan con criterios de inclusión (edad gestacional <37 semanas, bajo peso al nacer $>1.0\text{k} \leq 1.5\text{k}$), firma de consentimiento informado por los padres o tutor, tomando como criterios de exclusión el padecer neoplasias, enfermedades o malformaciones congénitas, anomalías cromosómicas o enfermedades del sistema circulatorio. Las variables clínicas y de tratamiento se obtendrán del expediente clínico y por cuestionario de factores maternos y gestacionales asociados a deficiencia de vitamina D aplicado a la madre del paciente.

Se aplicarán dosis de 400 UI o 1000 UI diarias de concentrado grado farmacológico de vitamina D₃ Biocare® D.Day, (de origen canadiense) en aerosol con absorción en mucosa bucal. Los frascos se codificarán y cegarán por personal capacitado independiente a la investigación y se asignará un frasco por paciente, conteniendo en éste las dosis de su tratamiento completo. Con el programa “Research Randomizer Form v4.0” se aleatorizará a los pacientes hacia la opción terapéutica que le corresponda. La administración se realizará por residentes de la UCIN y de acuerdo a la Guía de buenas prácticas clínicas. Se tomará muestra sanguínea (un total de 4 muestras de 3ml; en el estado basal y cada mes) para analizar concentraciones de 25-OH-D, calcio, fosfatasa alcalina, fósforo, paratohormona (PTH por sus siglas en inglés) al igual que deoxipiridinolina en muestras de 3 ml de orina (en el estado basal y cada mes).

El número de pacientes requerido para demostrar un efecto positivo de suficiencia en los niveles séricos de 25-OH-D, se calculó usando la fórmula de diferencia de proporciones, basados en el estudio de la *Dra. Sina Gallo 2013*, con un α de 0.05 y un poder estadístico del 80%. Se requiere de la inclusión de 75 pacientes por brazo de tratamiento, es decir 150 pacientes para la realización del presente ensayo clínico (asumiendo una mortalidad del 11.52% y 20% adicional por las pérdidas metodológicas que implica éste diseño).

Se realizará estadística descriptiva de cada variable y se establecerá relación entre las diferentes concentraciones desde el estado (correlación de Pearson). Se determinarán riesgos relativos atribuidos a la dosificación ajustando por factores clínicos asociados a su estancia en la UCIN por medio de una regresión lineal. De ser pertinente se realizarán curvas de supervivencia y establecerá

un modelo multivariado con los biomarcadores del estado óseo, a partir de las diferentes dosis de vitamina D y el estado de salud del paciente.

Durante la realización del ensayo se realizará monitoreo de posibles reacciones adversas atribuidas a la aplicación del tratamiento, reportadas en el expediente clínico y en seguimiento a la NOM-220-SSA1-2002.

Palabras clave: *Vitamina D, Neonatos, Unidad de cuidados intensivos neonatales, DXA total, QUS.*

INTRODUCCIÓN.

La acreción ósea comienza principalmente desde el primer trimestre del embarazo, con la acumulación de nutrimentos como calcio (Ca), fósforo (P) y otros minerales¹. Dicha ganancia ósea implica un complejo proceso de recambio celular y mineral en el individuo que continua diferencialmente a lo largo de la vida; siendo siempre en el embarazo y la etapa de lactancia, un balance de calcio a favor del feto y del recién nacido (figura 1); etapas determinantes para su desarrollo², cuyo proceso es mediado por la placenta y producción de vitamina D en el neonato³.

La etapa de acreción ósea comienza desde el primer trimestre del embarazo, pero es en el tercer trimestre la etapa de mayor ganancia.

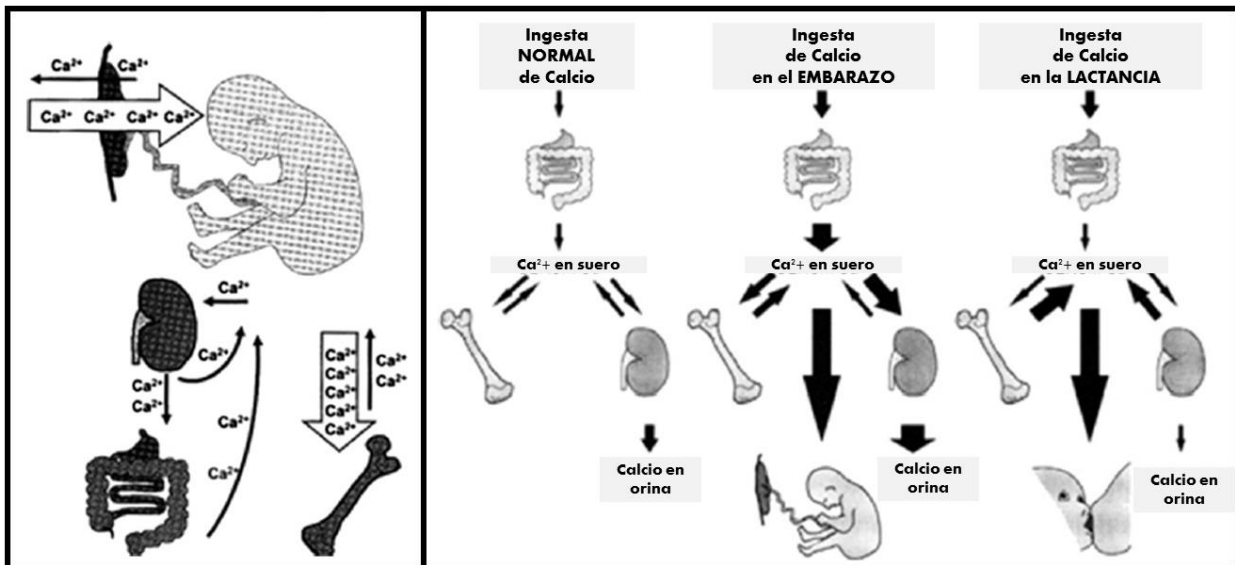


Figura 1. Balance de calcio durante el embarazo y la lactancia, flujo abrumadoramente a favor del feto y del recién nacido. Las fuentes de calcio en la vida fetal son ingresadas a través del transporte activo a la placenta, del cual muy poco calcio es devuelto a la circulación materna. El resto de calcio es excretado en la orina, estando disponible para la reabsorción por el intestino. Este proceso es mediado por la placenta y la producción de vitamina D del feto⁴.

IMPPLICACIONES DE LA VITAMINA D EN EL RECAMBIO ÓSEO.

El hueso es un órgano complejo en constante remodelación, es decir, un organo que requiere del equilibrio en su micro-arquitectura entre reabsorción y formación, inclusive es posible evaluar este fenómeno de forma indirecta a través de la medición bioquímica de marcadores óseos en muestras de sangre y de orina, tanto en adultos⁵ como en población pediátrica⁶.

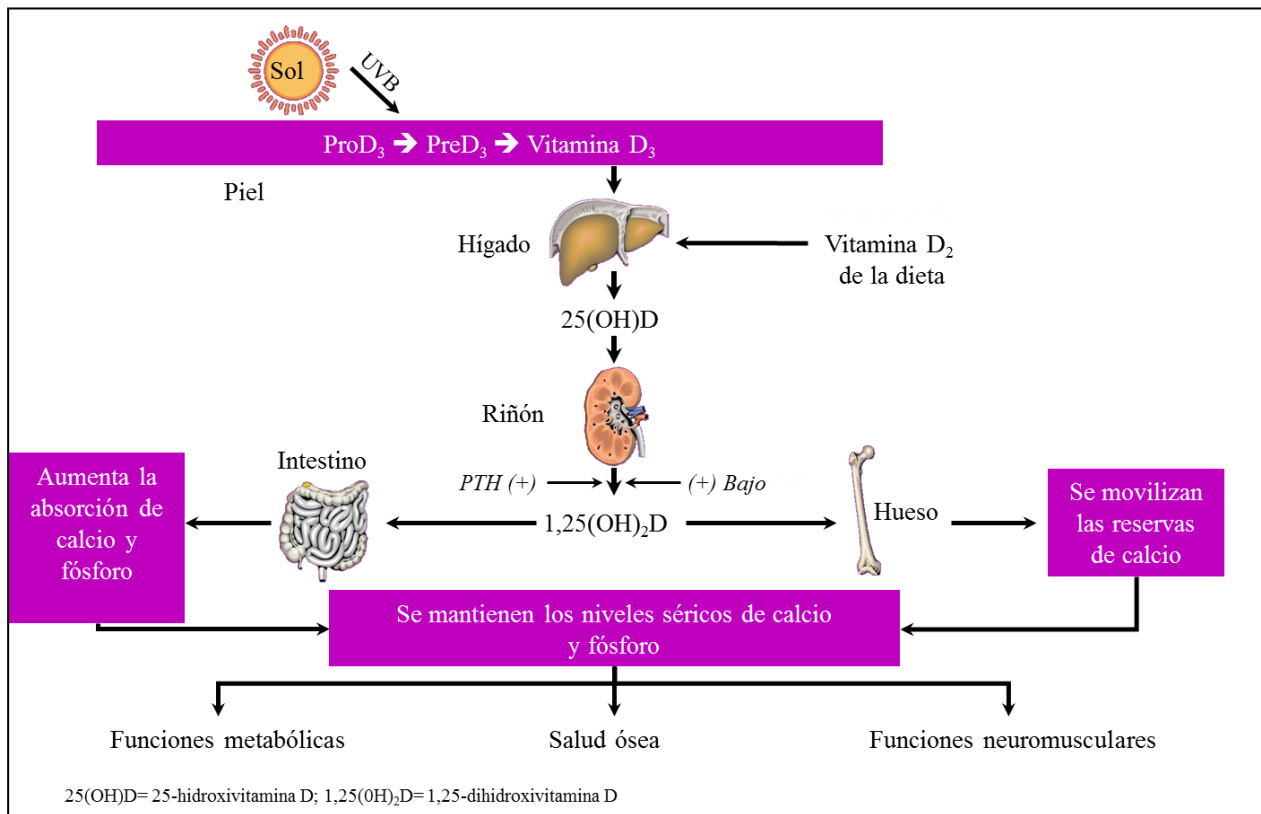


Figura 2. Metabolismo óseo e importancia de la Vitamina D su recambio y balance como determinantes de salud ósea.

Este complejo balance inicia desde la exposición a la irradiación ultravioleta, el 7-dehidrocolesterol, o provitamina D₃ de la piel, se convierte en previtamina D₃, la cual más tarde se isomeriza a vitamina D₃ más estable, mediante una transformación inducida térmicamente. Tanto la vitamina D₃, formada en la piel u obtenida de la dieta, y la vitamina D₂, derivada de fuentes alimentarias y de multivitamínicos, se hidroxilan en el hígado a 25(OH)D, la principal forma

circulante de la vitamina D. La 25(OH)D, que es biológicamente inerte a concentraciones fisiológicas, se hidroxila en el riñón a 1,25(OH)₂D, la principal forma biológicamente activa de la vitamina D. Los niveles de PHT y fósforo sérico regulan la producción de 1,25(OH)₂D. Cuando las concentraciones de vitamina D son inadecuadas, la 1,25(OH)₂D aumenta la absorción intestinal de calcio y fósforo y, en conjunto con la PTH, moviliza las reservas de calcio y fósforo de los huesos para mantener niveles séricos adecuados de calcio y fósforo para la salud ósea y para las funciones metabólicas y neuromusculares (figura 2)⁷. Se ha observado que la deficiencia asintomática de vitamina D eleva la prevalencia de fracturas, ello debido a las alteraciones derivadas de su bajo suministro y su efecto en la absorción de calcio.⁸

Como hemos observado la vitamina D desempeña un papel crítico para mantener la salud de los huesos, ya que es esencial para asegurar que el calcio se absorba adecuadamente en el tracto gastrointestinal. Los niveles inadecuados de vitamina D reducen la absorción intestinal de calcio, lo cual disminuye las concentraciones séricas de calcio y desencadena la liberación compensadora de hormona paratiroidea. Este hiperparatiroidismo secundario origina la movilización de calcio del hueso y causa una reducción en las concentraciones séricas de vitamina D, lo que a su vez genera disminución en la densidad mineral ósea⁹. La evidencia actual sugiere que los niveles inadecuados de vitamina D, que son muy comunes en las mujeres posmenopáusicas, aumentan el riesgo de fracturas.¹⁰

El mecanismo primario por el cual la vitamina D₃ lleva a cabo este papel (Figura 5), es induciendo a las proteínas involucradas en la absorción intestinal del calcio¹. Sin embargo, cuando hay deficiencia de vitamina D, la absorción del calcio disminuye (de 30%– 40% a 10%–15% respectivamente), y las menores concentraciones séricas de calcio aumentan la secreción de la hormona paratiroidea². Asimismo, el incremento en la secreción de la PTH contrarresta los niveles bajos de calcio circulante aumentando la producción de vitamina D, y estas dos hormonas actúan en conjunto para mediar la reabsorción del calcio del riñón³ y la movilización del calcio del hueso⁴ para mantener las necesidades fisiológicas.

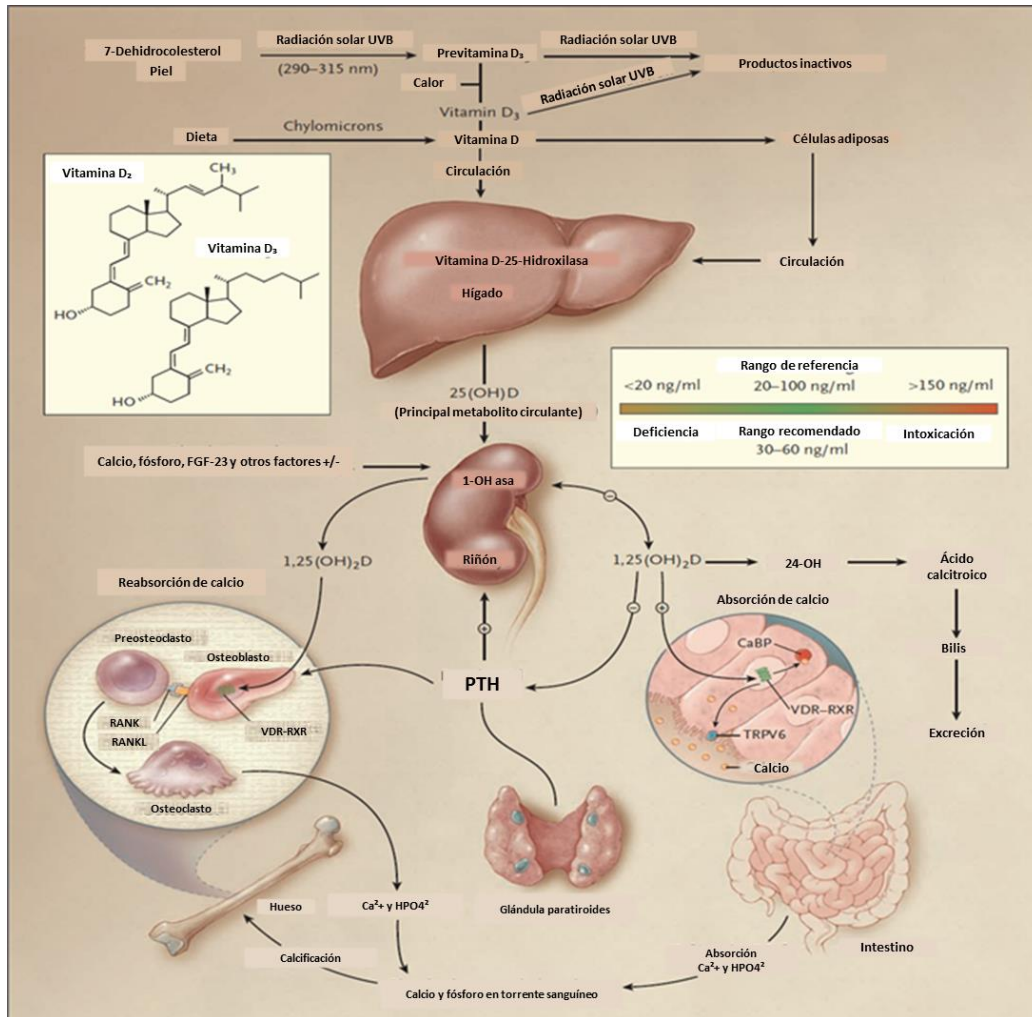


Figura 3. Mecanismo de acción: La vitamina D y el metabolismo óseo. * PTH= hormona paratiroidea.

Por tanto, la función fisiológica principal de la vitamina D₃ es mantener las concentraciones séricas de calcio circulante suficientes para apoyar una gran variedad de funciones metabólicas (incluyendo una mineralización ósea normal), la transducción de señal y la actividad neuromuscular (Figura 3).

En cuanto a los parámetros de deficiencia y suficiencia acerca de la vitamina D, no existe un punto de corte establecido, es decir existen discrepancias entre los institutos e investigadores en la materia, pero en lo que si consensan es en el punto de suficiencia, que esta en valores mayores o iguales a 30ng/ml (Tabla 1).

Tabla 1. Niveles de suficiencia y deficiencia establecidos por el Instituto de Medicina USA y los establecidos por investigadores en la materia.

	Holick MF, et al.	Instituto de Medicina USA	
Suficiencia	>30 ng/ml	>30 ng/ml	Suficiencia
Insuficiencia	20-30 ng/ml	11-29 ng/ml	Insuficiencia
Deficiencia moderada	<8-<20 ng/ml	<10 ng/ml	Deficiencia
Deficiencia severa	<8 ng/ml		

Holick, MF, Chen TC, Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. Am J Clin Nutr 2008;87(suppl):1080S– 6S.

Institute of Medicine. Dietary reference intakes for calcium and Vitamin D. Washington, DC: National Academies Press; 2010.

MÉTODOS DE EVALUACIÓN DEL ESTADO Y RECAMBIO ÓSEO: DXA, QUS Y BIOMARCADORES.

La evaluación del estado y recambio del hueso en el infante es compleja, el *estándar de oro* para la medición del mineral óseo es la absorción dual de rayos X de baja densidad (DXA por sus siglas en inglés). Este método ha sido probado con suficiencia y aceptado internacionalmente por su baja dosis de radiación, alta exactitud, precisión y alta sensibilidad al diagnóstico para predecir fracturas. Sin embargo, el DXA no es un método que pueda aplicarse a los recién nacidos por problemas de uso de radiación y técnicas de inmovilización total del individuo que para esta población se logra por medio de anestesia completa del individuo, lo que resulta no ético en éste grupo de edad. Una alternativa de evaluación ósea es la medición de la velocidad del sonido (SoS por sus siglas en inglés) por medio del ultrasonido cuantitativo (QUS por sus siglas en inglés) ya que por sus características de seguridad (libre de radiación), facilidad de uso, portabilidad a la cama del paciente, mediciones no invasivas y relativo bajo costo, lo hacen un método atractivo a explorar. Previamente ha sido evaluado en población pretérmino sana^{11,12} y en condiciones de masa ósea baja comparada con los referentes que son niños pretérmino sanos¹³. Cabe mencionar ciertas

limitaciones de la ultrasonografía, y ello recae en que están siendo generados los conocimientos en cuanto a referentes en niños sanos a término y pretérmino.

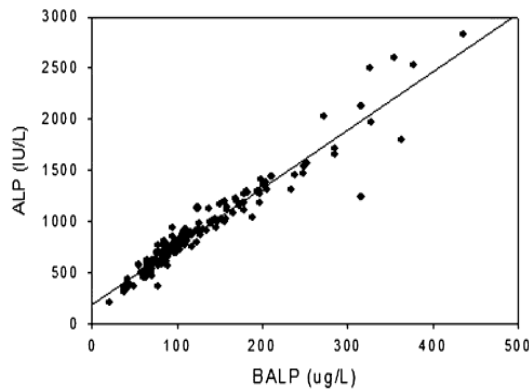


Figura 4. Fosfatasa alcalina como marcador diagnóstico. (A) Asociación positiva entre fosfatasa alcalina y fosfatasa alcalina ósea [BALP por sus siglas en inglés] n=158 R²=0.93 p<0.001 para 3 y 17 semanas de edad postnatal en 62 infantes pretérmino.

Otras técnicas de evaluación de la maduración esquelética (edad ósea) o grado de osificación, son el uso de indicadores relativamente preciso para medir la edad fisiológica. La zona anatómica más empleada es la mano (mano izquierda por consenso internacional) por las siguientes razones: fácil accesibilidad, escasa radiación y la existencia de un amplio número de huesos en una pequeña zona corporal. Son tres los métodos utilizados : Atlas de Greulich y Pyle¹⁴ (Comparación radiográfica de mano y muñeca). El método de Tanner y Whitehouse¹⁵ (evalúa la mano y muñeca: carpo y la sumatoria de estos dos últimos; es un método numérico de osificación al cual se le asignan una puntuación a cada uno de los estadios evolutivos según el sexo, valores que se trasladan a una tabla que nos da la edad ósea. Sin embargo, los métodos anteriores no son aplicables ya que al nacimiento y en el primer año de vida no existe ningún núcleo de osificación y por tanto no son valorables en la radiografía de la mano y estos van apareciendo a lo largo del primer año. En contraste, el método descrito por Hernandez y colaboradores en 1988¹⁶, se basa en una radiografía lateral del pie y tobillo izquierdos, y valora cinco núcleos de osificación a los que se les da una determinada puntuación siendo la suma de todos ellos la maduración ósea, que se comparara con los estándares de población general¹⁷. La mayor desventaja de los anteriores métodos es requerir forzosamente de la toma de radiografías y personal calificado para la aplicación de dichos instrumentos.

En cuanto a la evaluación molecular del balance entre reabsorción y generación ósea, se han planteado diversos biomarcadores que indican el estado específico en el balance entre la

reabsorción y generación ósea y la interacción que mantienen con la vitamina D₃, algunos de ellos son: calcio, fosfatos, fosfatasa alcalina por su alta relación con la fosfatasa alcalina específica (figura 4), paratohormona y sus consecuencias clínicas (Tabla 2)¹⁸.

Tabla 2. Biomarcadores óseos séricos y su relación con los niveles de vitamina D.

	25(OH)D (ng/mL)	Calcio	Fosfatos	Fosfatasa alcalina	Paratohormona	Clinical
Severe vitamin D deficiency	<5	↓↓	↓↓	↑↑↑	↑↑↑	Raquitismo severo
Vitamin D deficiency	<15	↓→	↓	↑↑	↑↑	Raquitismo
Vitamin D insufficiency	<15-20	→	→	↑→	↑→	Baja DMO
Vitamin D adequacy	>20-100	→	→	→	→	→
Vitamin D intoxication	>150	↑	↑	↓	↓	Hiperostosis

DMO: Densidad mineral ósea. Normal: → Alto: ↑ Bajo: ↓

Como podemos observar, la vitamina D impacta directamente en los fenómenos implicados en la salud ósea y muscular de los individuos, inclusive si éstos son en mujeres en estado de gestación, el impacto se transfiere al producto: La Dra. Clark P. y colaboradores en 2008, observaron que mujeres de 14 a 29 años con deficiencia de vitamina D se asoció con alteraciones en el desarrollo del producto en un 52%¹⁹.

EL RECIEN NACIDO PRETÉRMINO.

Se define a recién nacido pretérmino *cuando nace antes de las 37 semanas de gestación*²⁰, situación que le priva de la etapa intrauterina en la que recibe el mayor aporte de nutrientes y fluidos a través del cordón umbilical y la placenta, evitando que éstos se almacenen en el feto desde el tercer trimestre del embarazo, por lo que, sus reservas minerales son bajas e incluso mínimas²¹, lo que asociado con bajo peso al nacer (<1500g) ó padecer trastornos médicos que requieran cuidados o drogas especiales, los predispone al riesgo de padecer insuficiencia mineral y derivar en alteraciones en su metabolismo óseo²² (Tabla 3), e incluso en riesgo de no alcanzar el desarrollo adecuado en comparación con tablas de referencia internacionales de crecimiento en neonatos pretérmino²³ e incluso se ha observado un riesgo de hasta 40% a desarrollar patologías como la denominada enfermedad metabólica ósea del prematuro, osteopenia de la prematuridad o raquitismo neonatal²⁴. Esto evidencia la importancia de una alimentación adecuada durante el

embarazo y al nacimiento, para proporcionar los nutrientes correctos y ayudar a lograr la recuperación de un crecimiento apropiado²⁵.

Tabla 3. Factores de riesgo que predisponen a la población neonatal pretérmino hasta 40% de riesgo a desarrollar alteraciones metabólicas óseas¹⁷.

Factores de riesgo que predisponen a la población neonatal pretérmino a desarrollar alteraciones metabólicas óseas.
<1500g
≤28 semanas de gestación.
Nutrición parenteral total >4 semanas.
Reservas deficientes de Ca y P.
Mala alimentación mineral.
Restricción del crecimiento intrauterino (daño de la placenta puede alterar transporte P)
Periodos prolongados de inmovilidad (sepsis, patología cerebral, trastornos musculares, parálisis).
Uso de medicamentos (esteroides, diuréticos, metilxantinas)
Periodos prolongados de inmovilidad (sepsis, patologías cerebrales, trastornos musculares o parálisis).

En cuanto a la suplementación vitamínica, se ha observado que en esta población susceptible se puede evitar el desarrollo de las patologías antes mencionadas hasta en el 16% al recibir suplementación a través de fórmulas lácteas¹⁷. Sin embargo, su inicio es cuando el niño ha establecido la alimentación enteral total, en específico se recomienda administrar vitaminas **A** (700 a 1500UI/k/día), **D** (400 UI/día) y **C** (30mg/día) a los prematuros que son alimentados con leche materna sin fortificador o con sucedáneo de leche humana de pretérmino, se recomienda mantenerlas hasta que el niño alcance el peso de 2k (independientemente de la edad corregida) y a más de una semana de vida extrauterina²⁶. Se ha observado que en el primer año de vida el infante pretérmino con adecuada exposición al sol, podría alcanzar las cantidades adecuadas de vitamina D, no así para niños con exposición solar limitada no alcanzan éstos niveles óptimos²⁷.

POBLACIÓN CON MAYOR ACTIVIDAD METABÓLICA ÓSEAS EN MÉXICO.

La adquisición, seguimiento y en determinados casos el apoyo con estrategias de prevención al deterioro óseo, son estrategias que impactan en alcanzar el pico de masa ósea óptimo (PMO). En México la osteopenia y osteoporosis (OP) es un importante problema de salud pública desde el punto de vista de co-morbilidad, calidad de vida y el costo de la atención.²⁸ Actualmente, se están buscando herramientas para mejorar la salud ósea de las personas y prevenir el riesgo de fracturas por fragilidad.²⁹ En nuestro país, en diciembre del 2013 la población ascendía a 112,336,538 individuos con una tasa bruta de natalidad de 18.9 por cada 1000 habitantes³⁰ con esperanza de vida a 75 años. Siendo la población >85 años, quienes presentan masa ósea reducida y osteoporosis, en específico para varones en un 39% y 44% en columna y cadera respectivamente, mientras que en mujeres el porcentaje es de 59% para ambas regiones³¹(Tabla 4).

Del total de nacimientos en el mundo, al año ocurren cerca de 13 millones de partos prematuros, con una frecuencia que varía de 5 a 11% en países industrializados y hasta 40% en países muy pobres, ésta incidencia no ha cambiado por décadas³². Si bien los esfuerzos se han centrado en la edad adulta; lograr un crecimiento óseo adecuado durante la infancia puede ser una medida importante para la prevención de fracturas por fragilidad e incluso cuadros de OP más tarde en la vida.

Tabla 4. Población mexicana estratificada por edades de mayor recambio óseo (0-19 años) y menor recambio óseo asociado a mayor riesgo de enfermedades metabólicas óseas (>60 años), datos INEGI a diciembre del 2013.

Grupo de edad	Total	Hombres	Mujeres
0 a 4 años	10 528 322	5 346 943	5 181 379
5 a 9 años	11 047 537	5 604 175	5 443 362
10 a 14 años	10 939 937	5 547 613	5 392 324
15 a 19 años	11 026 112	5 520 121	5 505 991
60 a 64 años	3 116 466	1 476 667	1 639 799
65 a 69 años	2 317 265	1 095 273	1 221 992
70 a 74 años	1 873 934	873 893	1 000 041
75 a 79 años	1 245 483	579 689	665 794
80 a 84 años	798 936	355 277	443 659
85 y más años	703 295	298 739	404 556

Cifras INEGI correspondientes a 12 de junio (2010).

ENFERMEDAD ÓSEA DEL PREMATURO Y SUPLEMENTACIÓN CON VITAMINA D.

La enfermedad metabólica del hueso es un trastorno frecuente en niños pretérmino menores de 32 semanas de gestación y 1.5k de peso al nacer. Se caracteriza por un déficit de calcio y fósforo que produce inadecuada mineralización del tejido osteoide e incluye perturbaciones que van desde la hipomineralización (osteopenia) hasta la enfermedad ósea grave con fracturas (raquitismo). La osteopenia se manifiesta en la etapa de crecimiento rápido, alrededor del segundo o tercer mes de vida postnatal. El raquitismo (displasia epifisiaria y deformidades esqueléticas); este último es un ejemplo de la deficiencia extrema de vitamina D, se presenta con mas frecuencia entre los 3 y 18 meses de edad³³. Es de gran importancia la prevención oportuna de raquitismo, ya que la deficiencia de VD se produce meses antes de que el raquitismo sea evidente en el examen físico.

Debido al incremento reciente de informes sobre deficiencia de VD, se tiene la necesidad de reexaminar el estado de conocimiento de las fuentes naturales de la VD, mecanismos de síntesis, de tal forma que la ingesta pueda ser optimizada. Las recomendaciones de prevención del

raquitismo carencial en nuestro país, indican en la guía clínica que las medidas de prevención de raquitismo y deficiencia de vitamina D en lactantes, escolares y adolescentes deben tener una ingesta de VD por lo menos de 400 UI al día en tanto se dispone de estudios clínicos aleatorizados cuyo nivel de evidencia sea mayor ³⁴ quienes fundamentan sus recomendaciones en la Academia Americana de Pediatría³⁵.

Algunos de los tratamientos propuestos para combatir este deterioro óseo a temprana edad han sido planteamientos de una estrecha vigilancia de la densidad mineral ósea, actividad física adecuada ó técnicas de estimulación temprana en el neonato, ingesta de ácido palmítico, fórmulas con alto contenido de calcio, así como la ingesta de Vitamina D y calcio en conjunto, ejemplo de ello, esta el tratamiento para la deficiencia de vitamina D en pacientes con raquitismo, para quienes la dosis de vitamina D oscila entre 1000 UI y 10,000 UI por día durante un periodo hasta de 4 meses, sin consecuencias tóxicas para el neonato (Tabla 5)³⁶.

Tabla 5. Raquitismo tratado por deficiencia de vitamina D: suplementación con VD y calcio, monitoreo y terapia.

Raquitismo tratado por deficiencia de vitamina D: Suplementación con vitamina D y calcio.			
Tratamiento		Monitoreo	
<p>Vitamina D₂ (Ergocalciferol).</p> <p><u>Dosis doble de vitamina D:</u> 20µg/d (800 UI) por 3-4 meses.</p> <p><u>Dosis farmacológica vitamina D:</u> 25-125µg/d (1000-10,000 UI) por 8-12 semanas, dependiendo de la edad del niño, manteniendo como mínimo en concentración sanguínea de 10-25µg/d (400-1000 UI/d)</p>		<p><u>1er mes:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Calcio ▪ Fósforo ▪ Fosfatasa alcalina 	<p><u>3er mes:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Calcio ▪ Fósforo ▪ Fosfatasa alcalina ▪ Magnesio ▪ Paratohormona ▪ 25(OH)-D ▪ Calcio en orina/rango creatinina (frecuencia dependiente de gravedad de raquitismo e hipocalcemia); ▪ Valoración radiográfica
<p>Calcio.</p> <p><u>Calcio elemental:</u> Dosis de 30-75mg/k/d dividido en tres dosis (de inicio, media y alta) en un tiempo de 2-4 semanas.</p>			<p><u>Al año y anual:</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ 25(OH)-D

Un coadyuvante en el tratamiento de pacientes que se encuentran en alto riesgo de sufrir alteraciones en el metabolismo y estructura ósea podrían ser las dosis altas de vitamina D, ya que se ha evaluado su efectividad a dosis elevadas en *neonatos pretérmino sanos*, en un solo ensayo clínico aleatorizado (ECA) en Turquía 2008³⁷, se observaron resultados favorables en las concentraciones de FA, OC y Deoxipiridinolina a dosis elevadas de 800 UI, comparadas con las recomendadas para la edad pediátrica 400UI. Sin embargo, dicho estudio muestra controversias en su análisis estadístico, con resultados controversiales entre las dosis, aunque se reportan efectos estadística y clínicamente significativo³⁸, que pudieran impactar en el desarrollo adecuado de la estructura ósea de esta población. Sin embargo se desconoce su efecto en neonatos pretérmino ingresados a una UCIN y la correlación con su manejo multifactorial.

POTENCIAL TOXICIDAD DE LA VITAMINA D

En cuanto a los efectos tóxicos potenciales atribuidos a la sobredosis por vitamina D, tales como la desmineralización ósea, hipercalcemia, hipercalciuria, nefrocalcinosis o con insuficiencia renal, son poco comunes, atribuidos sólo cuando la dosis diaria y continua exceda las 10.000 UI de vitamina D ³⁹. La preocupación sobre la toxicidad de la vitamina D en el pasado han sido a causa de *sobredosis masivas* en el rango de 50.000 hasta 150.000 UI por día en un consumo a largo plazo⁴⁰. De acuerdo con la Academia Nacional de Ciencias, no hay riesgos conocidos para la salud asociados con el consumo de dosis de vitamina D en la gama de *sobredosis masivas*.

EL RECIÉN NACIDO PREMATURO INGRESADO A UNA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS NEONATALES.

Como se menciono anteriormente, el riesgo de no alcanzar un desarrollo adecuado aumenta si la población neonatal pretérmino presenta bajo peso al nacer ó requiere de cuidado médico intensivo y por consecuencia son ingresados a una UCIN, a su ingreso existen condiciones premórbidas como por ejemplo gestas múltiples y pretérmino, problemas cardíacos, padecimientos congénitos e

incluso procesos infecciosos⁴¹. Sin mencionar los factores de riesgo maternos que predisponen su ingreso, como lo son la edad menor a 16 ó mayor a 40 años, consumo de alcohol o drogas, diabetes, hipertensión, hemorragias, enfermedades de transmisión sexual, entre otros. Siendo muchas de éstas condiciones las que predisponen al recién nacido pretérmino a un alterado desarrollo óseo. Independientemente de la causa de ingreso a la UCIN, son reportadas cerca de un 2% de fracturas derivadas del deterioro óseo⁴².

Entre las patologías mas frecuentes en el recién nacido prematuro, destacan: el reflujo gastroesofágico fisiológico, anemia, retinopatía del prematuro, apnea del prematuro, infecciones nosocomiales y enfermedades metabólicas óseas. Referente a ésta última patología, como estrategia de prevención se recomienda aportar una cantidad suficiente de calcio/fosforo 2:1 y vitamina D a todos los recién nacidos con peso menor de 1500 gramos.

Se sugiere medir niveles de fosfatasa alcalina sérica a los 30 días de vida, si se encuentra alteración y después de iniciado el tratamiento para su corrección cada 15 días hasta el alta ó hasta las 40 semanas de edad de gestación corregida. En el seguimiento; control, al mes y a los 3 meses de edad de gestación corregida, en caso de valores de fosfatasa alcalina sérica >1000 UI/L se recomienda iniciar tratamiento, si a los 60 días es <700 UI/L se suspende el tratamiento. Se recomienda realizar control sérico de calcio y fosforo cada 15 días. En los pacientes con osteopenia, y en aquellos que reciben diuréticos se debe tener control estricto de los niveles de fosfatasa alcalina por lo menos hasta los 6 meses.⁴³. Cabe destacar que las medidas de apoyo recomiendan evitar la alimentación parenteral prolongada *cuando esto sea posible* y una manipulación mínima y cuidadosa del recién nacido para evitar fracturas; así como iniciar un programa de ejercicios pasivos que promuevan la formación ósea y el crecimiento⁴⁴.

EVIDENCIA DE SUPLEMENTACIÓN CON VITAMINA D Y EFECTO EN EL METABOLISMO ÓSEO DE *INFANTES PRETÉRMINO Y NEONATOS SANOS*: REVISIÓN SISTEMÁTICA DE LA LITERATURA.

En cuanto a la suplementación, en aquellos pacientes con nutrición parenteral total (NP) y según la guía de prácticas clínicas de NP pediátrica, la suplementación de vitamina D es recomendada (sin contar con evidencia clínica), dosis de 30 UI/Kg/día^{45 46}; siendo controversial que en la guía de manejo del recién nacido prematuro sano en la sala de prematuros, las recomendaciones para la suplementación con vitamina D son a dosis de 400 UI/día, cuando no recibe aporte suficiente de calcio y fósforo, y gluconato de calcio 200 mg/día (fraccionado en todos los biberones) y fosfato bibásico de sodio 100 mg/día (evitar uso conjunto con fórmulas estándar ya que no se puede mezclar con lípidos)⁴⁷.

En población neonatal y pediátrica sana, la suplementación con vitamina D se ha relacionado con una serie de desenlaces no clásicos al metabolismo óseo, entre ellos la ganancia de fuerza muscular, prevención de enfermedades crónicas como: neoplasias, enfermedades autoinmunes, enfermedades cardiovasculares, y prevención de enfermedades infecciosas. Sin embargo, para población neonatal de 0-12 meses los parámetros de suplementación no son claros, peor aun, no existe consenso sobre la ingesta diaria recomendada, ya que el Instituto de Medicina de los Estados Unidos de América (IOM) opina que los desenlaces nos son concluyentes y por tanto no existe evidencia científica suficiente para establecer recomendaciones, aventurandose a proponer límites máximos de 1000 y 1500 UI de vitamina D para población de 0 a 6 y >6 a 12 meses de edad respectivamente. Mientras que la Sociedad de Endocrinología propone para dosis que oscilan entre los 400 y 1000 UI de vitamina D para población de 0 a 6 meses de edad, y límites tolerables de 2000 UI/día hasta 50,000 UI/semana como terapia para tratar el raquitismo carencial⁴⁸. En cuanto a las recomendaciones en nuestro país, la Guía de raquitismo carencial recomienda una suplementación con 400 UI al día, pero una vez más la evidencia se maneja como recomendación de grado III⁴⁹.

Es debido a las inconsistencias respecto a ¿Cuál es la dosis óptima de suplementación con vitamina D para llevar o mantener a niveles de suficiencia 25-OH-D en sangre y otros metabolitos

implicados en el metabolismo óseo de neonatos pretérmino y a término sanos?. Es por ello que realizamos una revisión sistemática de la literatura (Metodología y flujograma disponible en el Anexo I) y de la cual deriva la siguiente tabla de evidencia sobre la suplementación con vitamina D y su efecto en los metabolitos implicados en el metabolismo óseo de infantes pretérmino (Tabla 6) y neonatos a término (Tabla 7).

Tabla 6. Tabla de evidencia de suplementación con vitamina D y efecto en el metabolismo óseo de infantes pretérmino: revisión sistemática de la literatura.

Cita	País	OBJETIVO	S	Dosis VD	[N] Edad	Resultados
Kislal FM. et al. 2008	Turquía	Medición de los niveles de biomarcadores en suero antes y después de la suplementación.	3 meses	200 UI/kg/d 400 UI/kg/d 800 UI/kg/d	[37] 15-30 días	No hubo diferencias significativas en los niveles de Ca y P en suero antes y después de la suplementación con vitamina D en todos los grupos. Niveles de fosfatasa alcalina en suero se incrementaron en forma significativa en todos menos sólo en los grupos 1 y 3. Niveles de OC en suero se incrementaron, en cada grupo de tratamiento. La excreción urinaria de DPD se aumentó gradualmente por el aumento en la ingesta de vitamina D, pero sólo fue significativa en el grupo 3.
Bacström MC, Maki R. et al. 1999	Finlandia	Evaluación del contenido mineral del hueso y la densidad por DXA, el calcio ionizado en plasma, fosfatasa alcalina en plasma y PTH	3 meses	200 UI/kg/día hasta un máximo de 400 UI/día vs 960 UI/día	[39] ≤ 33 sem de gestación	Concentraciones de vitamina D en plasma tienden a ser mayores en los niños que recibieron 960 UI / día, pero las diferencias no fueron significativas en el contenido mineral, densidad mineral ósea a los 3 y 6 meses de edad corregida, incluso después de tener en cuenta factores de riesgo potenciales.

S= seguimiento. EC= Ensayo clínico. ECA=Ensayo clínico aleatorizado. VD=Vitamina D. VD₂=Ergocalciferol. VD₃=Colecalciferol. 25-OHD=25 Hidroxi-vitamina D. RNPT=Recién nacido pre-término. PT=Pretérmino. UI=Unidades internacionales. NE=No especifican. Nmól= nanomoles.

Pg=picogramos.

Tabla 7. Tabla de evidencia de suplementación con *vitamina D* y efecto en el metabolismo óseo de neonatos: revisión sistemática de la literatura.

Cita	País	OBJETIVO	S	Dosis VD	[N] Edad	Resultados
Gallo S. et al. 2013	Canadá	% de vitamina D sérica	Evaluidos a 3,6,9 y 12 meses	D3 [400UI/día] [800 UI/día] [1200UI/día] [1600 UI/día]	[132] 1 mes	A los 3 meses , el 55% (IC del 95 % , 38 % -72 %) de los recién nacidos en el grupo de 400 UI/d alcanzado una (OH) D 25 concentración de 75 nmol/L o mayor vs 81 % (IC del 95 % , 65 % -91 %) en el grupo de 800 UI/d vs 92 % (IC del 95 % , 77 % -98 %) en el grupo 1200 UI / d , vs 100 % en el grupo de 1600 UI/d. Esta concentración no se mantuvo en 97,5 % de los recién nacidos a los 12 meses en cualquiera de los grupos. La dosis de 1600 UI / d se interrumpió prematuramente debido a la elevación en plasma de 25(OH)D concentraciones . Todas las dosis de 25(OH)D a concentraciones de 50 nmol/L o mayor de 97 % (IC del 95 % , 94 % -100 %) de los bebés a los 3 meses y se mantienen en el 98 % (IC del 95 % , 94 % -100 %) a 12 meses .
Holmlund-Suila E. et al. 2012	Finlandia	Homeostasis del calcio, y características esqueléticas (pQCT)	3 meses	D3 400 UI/d 1200UI/d 1600UI/d	[113] 2 sem a 3 m	A los 3 meses , la media de los valores de S - 25 - OHD fueron 88 , 124 , y 153 nmol / litro , y los valores mínimos fueron 46 , 57 , y 86 nmol / litro en los grupos que recibieron 10 , 30 , y 40 mu g (ANOVA , P < 0,001) . No se produjo hipercalcemia, similar concentración de calcio plasma, PTH suero y la excreción urinaria de calcio. La tomografía computarizada cuantitativa periférica mostró una tendencia hacia una mayor masa ósea total del hueso tibial y el área cortical con dosis más altas de <i>vitamina D</i> .

Kumar GT. Et al. 2011	India	Niveles plasmáticos de VD, Morbi-mortalidad, crecimiento, medidas antropométricas tras visitas semanales al hogar para la suplementación observada en	6 meses	1400UI/sem Vs placebo	[2079] > 37 semanas de gestación con bajo peso al nacer	Las diferencias entre los grupos no fueron significativas para la muerte o los ingresos hospitalarios (92 entre los 1.039 recién nacidos en el grupo de vitamina D en 99 de entre 1,040 niños en el grupo placebo; OR ajustada 0,93, intervalo de confianza del 95%: 0,68 a 1,29, P = 0,68) , o derivación a la consulta externa de morbilidad moderada. Los suplementos de vitamina D dio lugar a un mejor estado de vitamina D según la evaluación de los niveles plasmáticos de calcitriol a los seis meses. En análisis ajustados , la vitamina D aumentó significativamente (z) puntuaciones de la desviación estándar a los seis meses para el peso , la longitud y la circunferencia del brazo y la disminución de la proporción de niños con retraso en el crecimiento (longitud para edad puntuación $z \leq 2$) o con la circunferencia del brazo puntuaciones z de 2 o menos
Siafarikas A. et al. 2011	Alemania	Parámetros de la vitamina D y el metabolismo óseo en el parto y 6 semanas más tarde, el tiempo de exposición al sol, dosimetría de rayos UVB y los factores circundantes incluyendo la dieta materna.	6 semanas	D3 250 UI/d 500 UI/d	[40] RN	Niveles de 25-hidroxivitamina D fueron insuficientes: 68 (53-83) nmol / l en cada grupo. A las 6 semanas los niveles alcanzaron la suficiencia: 139 (114-164) nmol / l en 250 unidades de vitamina D3 por día y 151 (126-176) nmol / l en 500 unidades / día. No hubo variación estacional. Tiempo diario de exposición al sol era 0,4-3,5 h y mayor en verano. Exposición a UVB fue 0.01-0.08 mínima dosis eritema / día. Los niveles de calcio estaban dentro de lo normal.

Shakiba M. et al. 2010	Irán	Comparar los dos métodos de administración de suplementos de VD. Muestra de sangre fue tomada y evaluada para el 25-hidroxi vitamina D y calcio,	6 meses	Bolo [50,000 UI/2meses] vs 200 UI/d vs 400 UI/d	[120] RN	No se observaron diferencias significativas entre la concentración sérica de 25-hidroxitamina D en los grupos administrados con 200 UI y 400 UI de vitamina D al día. Sin embargo, el nivel sérico de 25-hidroxi-vitamina D alcanzó significación en el tercer grupo (p es menor que 0,001). Todo el calcio en la sangre estaba por debajo de 11 mg / dl en el grupo de bolo. Algunas complicaciones, como la diarrea y la agitación, todo lo cual se auto-limitada, se observaron en el grupo de bolo. No se informaron otros efectos secundarios significativos en los otros grupos.
Seghount F. et al.1994.	Francia	Evaluar la eficacia y la toxicidad potencial de tres dosis orales intermitentes de colecalciferol	6-9 meses	tres dosis intermitentes 600000, 100000 o 80000UI 25-hidroxitamina D ₃	[60] RN	Dos semanas después de una primera dosis de 600000, 100000 o 80000UI, 25 (OH) D concentraciones alcanzaron 307 + / - 160, 150 + / - 55, y 92 + / - 42 nmol / L, respectivamente. Prolongada sobrecarga de vitamina D, hasta 6 meses, se encontró en 50% de los niños que recibieron 15 mg, pero no en los otros lactantes. El calcio sérico aumentó transitoriamente 2 semanas después de 15 mg, pero no después de las dosis más bajas.
Specker BL. et al. 1992.	China	Determinar si las cantidades de vitamina D inferiores a las dosis recomendadas son eficaces para prevenir el raquitismo. Evaluación de sangre del cordón, sangre y las radiografías.	6 meses	vitamina D (100, 200 ó 400 UI / día)	[256] RN	Las concentraciones séricas de 25-hidroxitamina D fueron más bajas en el norte que en el sur (5 frente a 14 ng / ml (12,5 vs 35,0 nmol / L), p menos de 0,01). Centros de osificación de pulsera eran menos propensos a estar presente en el nacimiento de los niños del norte que en los niños del sur (p = 0,009) y tenían más probabilidades de estar presentes en los bebés nacidos con bajas concentraciones que en los que tuvieron concentraciones séricas más elevadas de cable 25-hidroxitamina D (p = 0,04). Las concentraciones séricas de 25-hidroxitamina D fueron menores en los niños del norte de 6 meses de edad que en los niños del sur (p = 0,005) y fueron más altos con un aumento de la dosis suplementaria de vitamina D (p menor de 0.001), sobre todo en los niños, en el norte

Evans JR. et al. 1989.	Canadá	Evaluación de radiografías de todos los recién nacidos para determinar el grado de la enfermedad ósea radiográfica. Análisis de osteocalcina sérica y los niveles de 25-hidroxivitamina D fueron medidos.	6 semanas	dosis de 400 UI / día vs dosis de 2.000 UI / día	[81] RN	En general, el 20% de los niños tenían evidencia de enfermedad ósea radiográfica moderado y sólo el 2% se vieron gravemente afectados. La puntuación ósea radiográfica (media = 2,5) y la concentración sérica de osteocalcina (media = 21,7 + / - 8,7 ng / ml) en los sujetos de control no difirieron significativamente de los del grupo experimental (escala ósea mediana = 2,0, con una media de nivel de osteocalcina = 24,1 + / - 7,9 ng / ml).
------------------------	--------	---	-----------	--	------------	--

EC= Ensayo clínico. ECA=Ensayo clínico aleatorizado. VD=Vitamina D. VD₂=Vitamina D. VD₃=Colecalciferol. 25-OHD=25 Hidroxi-vitamina D. RNPT=Recién nacido pre-término. PT=Pre-término. UI=Unidades internacionales. NE=No especifican. Nmole= nanomoles. Pg=picogramos.

SUPLEMENTADCIÓN NUTRIMENTAL CON VITAMINA D: SUSTANCIA PURA O EN COMBINACIÓN.

En México se encuentran disponibles 32 productos de suplementación nutricional especializada que contienen vitamina D en presentaciones de multivitamínicos combinados (veintiocho productos en diversas formulaciones de comprimidos, tabletas, ampollita, solución ingerible, polvos y fórmulas lácteas) o como única sustancia activa (cuatro productos en presentaciones de cápsula de gelatina blanda, cápsulas, ungüento y tabletas) reportadas en el catalogo de la página de PLM⁵⁰ (Anexo II); todas ellas con dosis variables e involucrando sistema digestivo, hepático y renal, órganos que en muchos casos se encuentran comprometidos por diversas patologías. Por lo que la necesidad de generar y avalar nuevas vías de suplementación con vitmaina D a población vulnerable a trastornos metabólicos óseos, ya sea a edades tempranas (raquitismo) como avanzadas (osteopenia y osteoporosis) resulta imprescindible.

En la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales, el soporte nutricional especializado es la administración de nutrimentos de forma oral, enteral o parenteral con fines terapéuticos de acuerdo a la CIE-10⁵¹. La nutrición enteral (NE) es una técnica especial de alimentación, que junto con la nutrición parenteral también se denomina nutrición artificial. Consiste en administrar los diferentes elementos nutrimentales a través de una sonda, colocada de tal forma que un extremo queda en el exterior y el otro en distintos tramos del tubo digestivo como el estómago, duodeno o yeyuno, suprimiendo las etapas bucal y esofágica de la digestión. Este tipo de soporte nutricional está indicado cuando no es posible una adecuada alimentación oral voluntaria, siempre que la capacidad del aparato digestivo permita absorber los nutrimentos. Por tanto, el requisito imprescindible para que el paciente reciba dicha alimentación, es que éste tenga un aparato digestivo con una mínima capacidad motora y funcional. Dentro de un concepto más amplio, la nutrición enteral también incluye la vía oral si se emplean suplementos alimentarios o fórmulas químicamente definidas. La sonda nasoduodenal y nasoyeyunal se utilizan preferentemente en aquellas enfermedades que originan reflujo gástrico importante, para prevenir y evitar complicaciones, usadas mas frecuentemente por pacientes pediátricos⁵².

En Canadá, existe un producto en presentación de aerosol, marca Biocare ® de venta libre en ese país que pudiera proporcionar una alternativa de suplementación con vitamina D₃, cuyo principal beneficio contra una píldora, es la ventaja de su aplicación en boca y su rápida absorción en el torrente sanguíneo a través de los capilares en la boca, evitando pasar por el sistema digestivo, lo que promueve una absorción mayor de producto. Se le puede encontrar en dos presentaciones D. Day1000 UI y Baby D 400 UI (Especificaciones del producto Anexo III).

Se usa una aplicación diaria de una atomización directa bajo la lengua según lo recomendado por su profesional de atención de la salud. En cada atomización [equivalente a 0.2 ml] contiene vitamina D₃ (colecalfiferol) a 400 o 1000 UI Vitamina D₃ (Colecalfiferol) diluido en agua, alcohol, fructosa, ácido cítrico, sorbato de potasio, benzoato de sodio y saborizante de arándano.

JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La población neonatal pretérmino presenta un riesgo etiológico de no alcanzar un desarrollo adecuado, derivado de su inmadurez y falta de acumulación mineral intrauterina, ya que la fase mas importante para esta acumulación nutricional se da en el tercer trimestre del embarazo. Este riesgo aumenta si el neonato presenta bajo peso al nacer ó requiere de cuidado medico intensivo, aunado a diversas condiciones premórbidas a su ingreso las que le predisponen a sufrir afecciones en su desarrollo óseo. Independientemente de la causa, en neonatos pretérmino son reportadas cerca de un 2% de fracturas derivadas del deterioro óseo y se desconoce cual es la prevalencia en pretérminos ingresados a la UCIN. Un coadyuvante en el tratamiento de pacientes que tienen alteraciones en el hueso son la administración de dosis altas de vitamina D₃ (calcitriol) a 400 UI.

Canadá en 2013 bajo la dirección de la Dra. Sina Gallo⁵³ teniendo como objetivo comparar el efecto en alcanzar los niveles séricos de suficiencia de 25-OH-D (30ng/ml) por medio de la suplementación con dosis de 400 y 800, 1200 y 1600 UI/día de vitamina D₃ en población neonatal sana. Después de los primeros tres meses, el porcentaje que alcanzan dichas concentraciones a 400 UI/día es 55% [IC95% 38-72%], a 800 UI/día 81% [IC95% 65-91%] y a 1200 UI/día 100%. Respecto a la dosis de 1600 UI/día fue suspendida y los pacientes reasignados al grupo de suplementación de 1600 UI/día al registrar niveles de 25-OH-D por encima de ≥ 30 ng/ml en el 97.5% de los neonatos a los 3 meses, lo que se consideró un factor de riesgo a desarrollar hipercalcemia, sin embargo no se detectaron eventos adversos asociados.

Otro estudio relevante de Kislal FM y colaboradores, 2008, en Turquía evaluaron en neonatos pretérmino sanos la efectividad y seguridad de diferentes dosis de 200, 400 y 800 UI/día de vitamina D₃, reportan su efecto en algunos de los biomarcadores de reabsorción y formación ósea (fosfatasa alcalina, osteocalcina y deoxipiridinolina). Sin embargo, presentan algunas incongruencias en los resultados, entre ello la significancia estadística para las dosis de 200 UI y 800 UI respectivamente, pero no así a dosis de 400 UI y por tanto no permiten discernir la verdadera efectividad clínica de dicha suplementación.

Cabe destacar que no existen estudios de suplementación con vitamina D en población con mayor susceptibilidad a desórdenes óseos como lo son los pacientes pretérmino ingresados a la UCIN. Con lo anterior se resalta la necesidad de un estudio que compare diferentes dosis de vitamina D y su efecto en el recambio y estado óseo en la población pretérmino ingresada a la UCIN, ya que el único estudio que existe (en población pretérmino sana) resulta hasta este momento controversial.

Por tanto:

- Se sabe que los neonatos pretérmino son un grupo vulnerable a enfermedades óseas.
- Las guías clínicas mexicanas, IOM y Sociedad de endocrinología difieren en sus recomendaciones de suplementación y suficiencia de vitamina D.
- No se conoce el efecto de suplementación en los recién nacidos pretérmino vulnerables.
- Existe la necesidad urgente de atender este grupo en riesgo de desarrollar alteraciones metabólicas óseas potencialmente a desarrollar cuadros de osteopenia, raquitismo y en el peor de los casos fracturas derivadas del daño arquitectónico óseo.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.

¿Cuál es la efectividad de dos dosis de suplementación con vitamina D (vía oral en aerosol de 400 UI y 1000 UI al día) en las concentraciones séricas de 25-OH-D en recién nacidos pretérmino ingresados a la unidad de cuidados intensivos neonatales del Hospital infantil de México Federico Gómez ?

OBJETIVOS.

Determinar *la efectividad de dos diferentes dosis de vitamina D en las concentraciones séricas de 25-OH-D en niños pretérmino* ingresados a la UCIN del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Objetivos primarios.

- Determinar la magnitud del efecto de suplementación con vitamina D a dos dosis (vía oral en aerosol de 400 UI y 1000 UI al día), en las concentraciones séricas de 25-OH-Vitamina en un periodo de tres meses.

Objetivos secundarios.

- Determinar su efecto en marcadores bioquímicos relacionados a osteogénesis:
 - PTH.
 - Fosfatasa alcalina
 - Calcio
 - Fósforo
 - Deoxipiridinolina

HIPÓTESIS O EXPECTATIVAS EMPÍRICAS.

A mayores concentraciones de vitamina D mayores serán los marcadores de neogenesis ósea.

METODOLOGÍA.

Diseño del estudio.

- ✚ Ensayo clínico Aleatorizado triple ciego (Figura 5).

Selección de la población.

Pacientes ingresados a la unidad de cuidados intensivos neonatales que cumplan con los siguientes criterios:

Inclusión.

Neonatos pretérmino <37 semanas de gestación

Hospitalizado en la UCIN

Firma del consentimiento informado otorgado por los padres o tutores legales, preferentemente madre y de su cónyuge o concubinario, previa información de los riesgos posibles para el recién nacido, dejando como mínimo un día para consideración con los familiares (Anexo III).

Exclusión.

Diagnóstico de enfermedades congénitas

Peso extremadamente bajo al nacer < 1 kg

Eliminación.

Fallecimiento

Abandono del estudio

Cálculo de tamaño de muestra.

Se calculó el tamaño de muestra usando la fórmula de diferencia de proporciones, basados en el estudio de la Dra. *Sina Gallo* del 2013⁵⁴ teniendo como objetivo el alcanzar la suficiencia de concentración sérica de vitamina D (>30 ng/ml) a los tres meses de suplementación comparando dosis de 400 y 800 UI de vitamina D en población neonatal. Asumiendo un alpha de 0.05 o nivel de seguridad al 95%, un poder estadístico del 80%. Obtenemos un total de 57 individuos. Sin embargo si le sumamos lo correspondiente al 11.52% (7 pacientes) reportado a mortalidad en nuestro hospital y 20% (12 pacientes) más por las pérdidas metodológicas que implica el diseño clínico. Lo que eleva la muestra a 75 individuos por grupo de tratamiento. Siendo en total 150 individuos requeridos para el presente Ensayo Clínico.

Selección y operacionalización de las variables.

Se pedirá a la madre que conteste cuestionario de antecedentes perinatales, hábitos de consumo durante y después del embarazo, medidas antropométricas, suplementación alimenticia, hábitos de tabaquismo, fármacos y antecedentes de enfermedades crónicas, entre otras cuestiones generales acerca de su hijo(a) como por ejemplo edad de gestación y uso de fármacos. El cuestionario tendrá una duración aproximada de 15 a 20 minutos (Anexo IV).

De forma basal se tomará muestra sanguínea para analizar concentraciones basales de fosfatasa alcalina, osteoclasina y a los 3 meses después, respecto a la medición de deoxipiridinolina en orina, esta se realizará de forma basal y mensualmente.

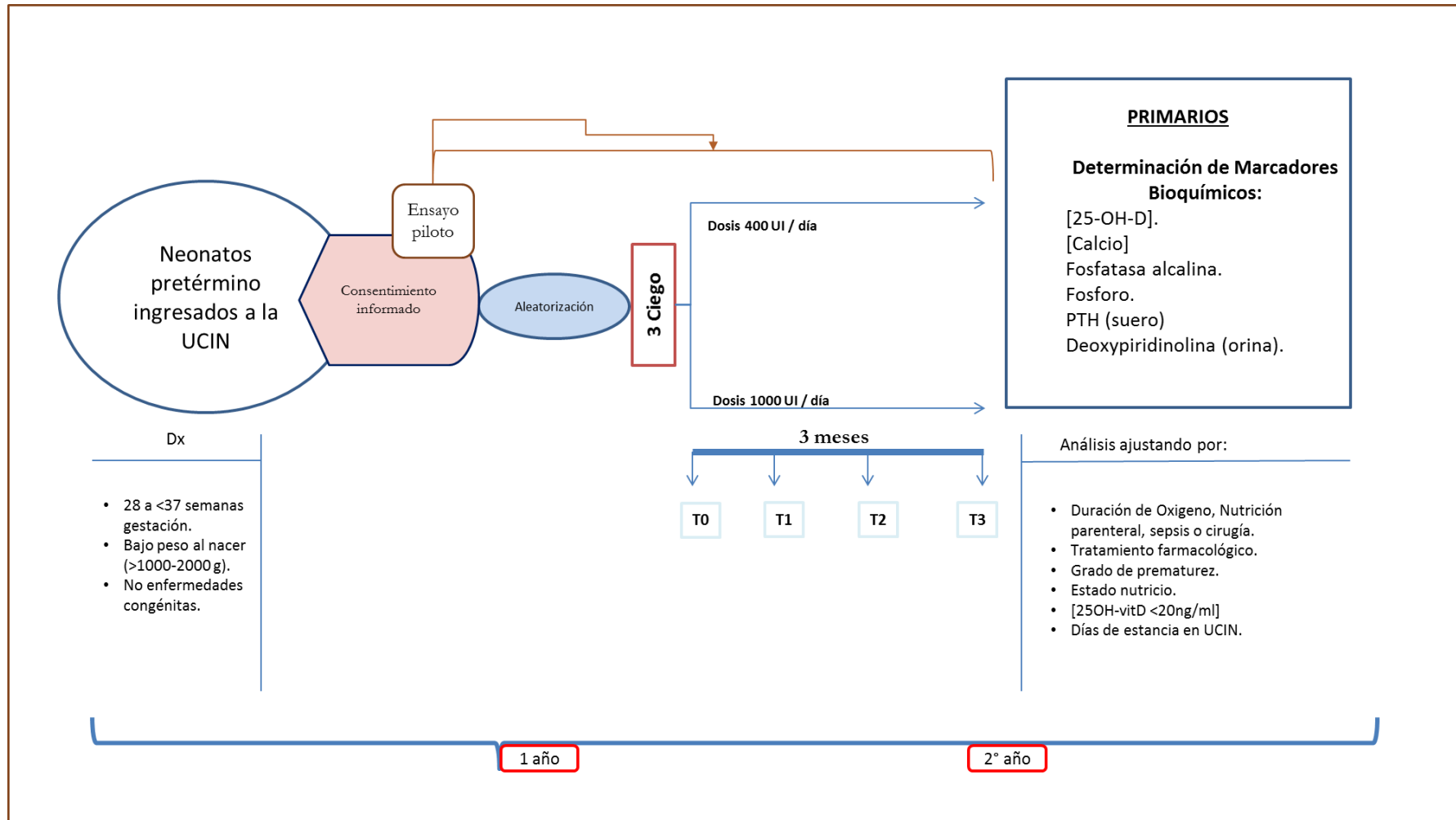


Figura 5. Diagrama del Ensayo Clínico Aleatorizado: triple ciego. “Efectividad de dos diferentes dosis de suplementación con *vitamina D* en las concentraciones séricas de 25-OH-D en niños pretérmino ingresados UCIN”

Administración y cegamiento.

Cegamiento.

Se retirarán las etiquetas originales de los frascos, conservándolas en un expediente con los números de lote y caducidad. Serán codificados y cegados por personal específico ajeno al proyecto, con el programa “Research Randomizer Form v4.0” se aleatorizara a los pacientes hacia la opción terapéutica que le corresponda, siendo asignado un frasco para cada paciente (Figura 6).

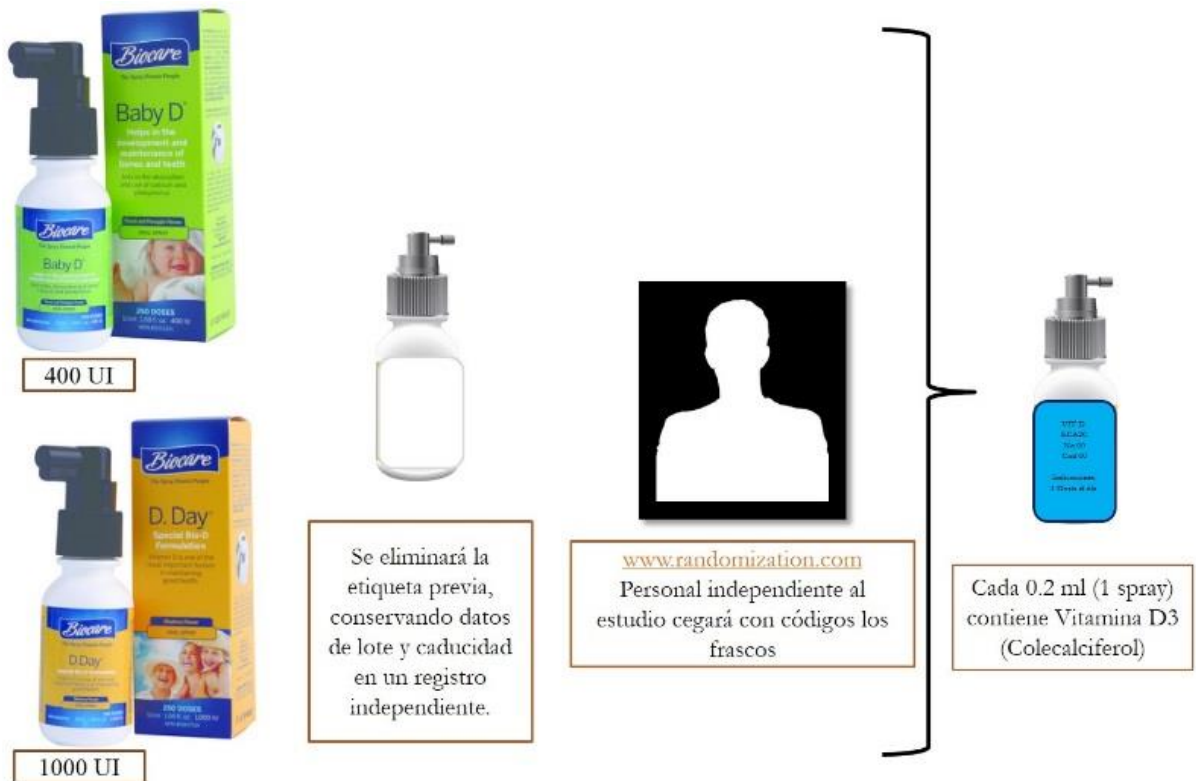


Figura 6. Cegamiento y asignación de la maniobra para cada paciente, el personal de residencia que aplica la maniobra y el investigador que analiza los datos.

Administración.

Se aplicaran dosis diarias de concentrado grado farmacológico de vitamina D₃ [Biocare ® D. Day (1000 UI y Baby D 400 UI en un disparo simple) en aerosol vía oral (Figura 7), con absorción en mucosa bucal. La administración se realizara por residentes de la UCIN y de acuerdo a la Guía de buenas prácticas clínicas ICH E-6. Se realizará diariamente monitoreo y recabo de las variables clínicas y reporte de potenciales eventos adversos derivados de la maniobra. De encontrarse evidencia de algún evento adverso que comprometa la salud e integridad del paciente, manifestado por el médico especialista tratante (evaluado de forma individual), se suspenderá la dosificación y se abrirá el ciego para dicho paciente, analizando las potenciales implicaciones de la maniobra. Se extenderá reporte completo al Comité de Ética en Investigación en un plazo no mayor a 15 días. El mismo procedimiento aplica en el caso de muerte, cualquiera que sea la causa, para lo cual se abrirá el ciego para dicho paciente analizando las potenciales implicaciones de la maniobra.



Figura 7. Forma de administración del concentrado de vitamina D vía aerosol, en un disparo se dosifican 0.2 ml de la fórmula que contiene la dosis específica de 400 o 1000 UI de Colecalciferol (imagen modificada para éste estudio).

Técnicas e instrumentos

Se realizará la extracción de sangre, con técnica estéril a través de vena periférica/central, dentro de los horarios de toma de muestra rutinarios de la unidad de cuidados intensivos neonatales y solo por personal médico calificado con estrecha vigilancia del área de extracción. La sangre extraída se centrifugará a 3500rpm durante 10 min. (Centrifuga estándar) inmediatamente y se colocara, el componente sérico en refrigeración (previamente codificado) a -70°C, para su posterior envío a análisis.

Antes de colocar la bolsa de recolección de orina, usar guantes estériles y limpiar con agua tibia estéril y jabón el periné, secar con gasas estériles y luego quitar el protector de alrededor del orificio de la bolsa (diferente según género) y adherirla con firmeza al periné, colocar una sonda estéril dentro de la bolsa recolectora de orina para extraer 3ml de orina con una jeringa estéril. Se debe repetir el procedimiento si el niño(a) no orina en 30 minutos.

Se evaluarán las concentraciones de vitamina D, estado óseo y biomarcadores sanguíneos (3ml. de muestra de sangre periférica) al inicio y al final del estudio, para los marcadores urinarios estos se evaluarán con una muestra de 3ml en el estado basal y tres meses después (25-OH-D, calcio, fosfatasa alcalina, fósforo, PTH y deoxipiridinolina) y mensualmente solo para calcio, fosfatasa alcalina, fósforo y deoxipiridina. La muestra de sangre requerida por nuestra investigación, representa (3 ml en un neonato de 1k representa 3.3% del volumen si se calcula a 90ml de volumen circulante por lo que tendrá que revalorarse la cantidad de sangre a extraer si pesa 1k, es menos del 2% cuando alcanza peso de 2k).

Tabla 8. Biomarcadores y técnica de laboratorio empleada para su reporte.

Biomarcador	Tipo de muestra	Técnica de laboratorio empleada
25-OH-D	Sangre	Cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas.
Calcio	Sangre	Espectrofotometría de masas.
Fosfatasa alcalina.	Sangre	Determinación de la actividad fosfatasa alcalina en suero.
Fosforo.	Sangre	Técnica de ácido fosfomolibdico.
PTH	Sangre	Radioinmunoensayo.
Deoxipiridinolina	Orina	Inmunoensayo quimiolumincente en fase sólida.

Durante la realización del ensayo se realizará monitoreo de posibles reacciones adversas atribuidas a la aplicación del tratamiento, reportadas en el expediente clínico y en seguimiento a la NOM-220-SSA1-2002.

Administración de la vitamina D; (riesgo mayor al mínimo). Cualquiera de las 2 dosis administradas, éstas se encuentran dentro de las recomendaciones internacionales de esta vitamina (nunca excediendo las 10.000 UI/d, dosis a la que de forma poco común se le atribuyen eventos adversos como desmineralización ósea, hipercalcemia, hipercalciuria, nefrocalcinosis e insuficiencia renal; ni las denominadas *sobredosis masivas* (50.000 hasta 150.000 UI/d), en caso de presentarse algún evento adverso grave durante la administración de la vitamina D, atribuido a la misma se detendrá su administración y se tratará de inmediato, y solicitara se informe sobre la dosis asignada al paciente, informando de inmediato al comité de ética.

Toma de muestras: En la toma de muestra sanguínea, existe la posibilidad de un pequeño hematoma y/o dolor al momento en la zona de toma de muestra si se toma directamente de la vena. Referente a la toma de muestras de orina se realizará con material especializado para la colecta en recién nacidos, siendo la maniobra generalmente sin molestias.

Obtención de la información clínica y familiar.

El resto de variables clínicas y de tratamiento se obtendrán del expediente clínico y por cuestionario aplicado a la madre del paciente, con previa firma de carta de confidencialidad por parte del personal encargado de la revisión (Anexo V).

En cuanto a pacientes que sean dados de alta antes de concluir el estudio (3 meses de suplementación) y para evaluaciones de seguimiento, se harán llamadas telefónicas para agendar citas de seguimiento en las instalaciones del centro de investigación departamento de Epidemiología Clínica del Hospital Infantil Federico Gómez (se harán llamadas de recordatorio 15, 7 días y 1 día a previo a su cita).

Manejo y análisis de los datos.

Se realizará estadística descriptiva de cada variable, y se establecerá relación entre las diferentes concentraciones desde el estado basal de Vitamina D₃ y fosfatasa alcalina, deoxipiridinolina y fósforo, ello por medio de una Correlación de Pearson.

Se determinarán riesgos relativos atribuidos a la dosificación ajustando por factores clínicos asociados a su estancia en la UCIN (Peso, género, días de estancia, padecimiento, etc.).

De ser pertinente se establecerá un modelo multivariado con los biomarcadores del estado óseo, a partir de las diferentes dosis de vitamina D y el estado de salud del paciente.

CONSIDERACIONES ÉTICAS DE LA INVESTIGACIÓN.

El presente ensayo clínico aleatorizado triple ciego se someterá a juicio y aprobación por el Comité de Ética, Bioseguridad e Investigación del Hospital Infantil de México Federico Gómez, instalaciones donde se pretende llevar a cabo nuestra investigación y ante quien exponemos las siguientes consideraciones éticas.

En el presente protocolo se manifiesta el sustento científico y la necesidad de estrategias de protección a un sector de la población con mayor propensión a daño metabólico óseo entre otras comorbilidades, y la necesidad de determinar la eficacia y seguridad de dosis de suplementación con vitamina D₃ y su efecto en marcadores determinantes del metabolismo óseo, no solo por el mérito científico de que no existen estudios de suplementación con vitamina D en pacientes que conjuntan factores de riesgo tan determinantes como lo son la prematuridad y su ingreso a la UCIN, población particularmente vulnerable, siendo su inclusión justificada dada la creciente necesidad de proporcionar un apoyo extraordinario al tratamiento del paciente durante su estancia en la UCIN y derivado de su egreso. Además, se garantiza en todo momento la atención médica y cualificación profesional durante la duración del estudio, y el seguimiento de eventos derivados de la maniobra terapéutica que administremos. Respecto a la justicia distributiva, los beneficiarios directos de los conocimientos que deriven de la investigación, así como, una estrategia de suplementación que hasta hoy no se encuentran disponible en nuestro país, siendo en todo momento accesible y sin costo para el paciente. Manteniendo siempre el valor social con el anonimato en el manejo de las muestras e información y la claridad en el manejo posterior de la información derivada de la presente investigación.

En cumplimiento al artículo 20 de la Ley General de Salud en materia de investigación en salud, por ningún motivo se incluirá a pacientes que no hayan sido informados de la naturaleza y los riesgos a los que será sometido su hijo o dependiente legal según sea el caso, derivado de su participación, así como su libre elección a participar o retirarse, sin coacción o condicionamiento de la atención médica ya recibida. Confirmando su aceptación con la firma del consentimiento informado para participar en la presente investigación. Preferentemente se planea obtener el consentimiento informado de la madre y de su cónyuge o concubinario, previa información de los riesgos posibles para el recién nacido.

Beneficio directo para el paciente y los padres de familia.

Al paciente durante el estudio se le proporcionará de forma gratuita el tratamiento de vitamina D Biocare® “D.Day” de origen canadiense, según le sea asignada la dosis de forma aleatoria a concentraciones de 1000 UI o 400 UI. En cuanto a la farmacovigilancia extensa, se mantendrá un monitoreo de reacciones adversas atribuidas al tratamiento, adicionalmente a la terapia que reciba en la UCIN. De encontrarse evidencia de algún evento adverso que comprometa la salud e integridad del paciente, se suspenderá la dosificación y se abrirá el ciego (para dicho paciente), analizando las potenciales implicaciones de la maniobra. No se cobrará costo alguno por la toma de muestras ni su análisis pertinente a nuestra investigación.

El padre o tutor del paciente, en cualquier momento puede revocar su consentimiento a participar el estudio, de ser preferente, a través de la firma de la “Carta de revocación del consentimiento” (Anexo VI).

Al egreso del estudio se ofrecerá a los padres asesoría nutricional pediátrica y en estimulación temprana. A la conclusión del estudio y una vez roto el ciego, se le entregará informe de los resultados atribuidos a la terapia que le fue asignada.

Beneficios indirectos

Con la presente investigación se pretende iniciar la afluencia de recursos hacia las terapias de apoyo extra al tratamiento del paciente en la UCIN, además de mejorar el conocimiento sobre la suplementación en ésta población altamente vulnerable a alteraciones metabólicas óseas, entre las comorbilidades que le han atribuido su ingreso a la UCIN.

Recursos Humanos y materiales.

De acuerdo a la normatividad de las Buenas Prácticas Clínicas, se designan las siguientes responsabilidades y competencias de los investigadores participantes.

Investigador Principal: Dra. Patricia E. Clark Peralta. Jefa de la Unidad de Epidemiología Clínica, Investigadora Nivel 2 (Sistema Nacional de Investigadores) del Hospital Infantil Federico Gómez.

Investigador Colaborador:

- MCs Pediatra Desireé López Gonzalez, adscrita a la Unidad de Epidemiología Clínica, del Hospital Infantil Federico Gómez.
- MCs Biól. Lucia Méndez Sánchez, alumna de doctorado en la Unidad de Epidemiología Clínica, del Hospital Infantil Federico Gómez.

Investigador Suplente y Coordinador: Dra. Dina Villanueva García, Jefa de Servicio de la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales del Hospital Infantil Federico Gómez. Será quien coordine la administración de la suplementación.

Personal que adminstre la maniobra: Residentes médicos de la UCIN, a cargo de la Dra. Dina Villanueva, brindaran la suplementación, toma de muestras y atención especializada las 24 horas del día.

Promotor-Investigador. Se declara que promotor-investigador es la la jefatura de la Unidad de Epidemiología Clínica a cargo de la Dra. Patricia E. Clark Peralta del Hospital Infantil Federico Gómez.

En cuanto a los análisis de laboratorio, y proceso inicial de conservación para su análisis se realizarán dentro de las instalaciones del Hospital en colaboración con el área de laboratorio clínico. Los costos derivados del transporte y análisis especializado de las muestras correrá a cargo de la Unidad de Epidemiología Clínica del Hospital.

En lo referente a papelería y recursos de oficina, serán proporcionados por la Unidad de Investigación en Epidemiología Clínica del Hospital.

Presupuesto.

Se solicitara presupuesto proveniente de Fondos Federales para la compra de la molecula de vitamina D₃ con grado farmacéutico y análisis de las muestras biológicas. El resto del presupuesto se pretende obtener de la candidatura a otras convocatorias.

Programa de trabajo.

El periodo de evaluación de cada paciente comprende un tiempo de 3 meses. Sin embargo se tienen previstos tiempo de juicio y aprobación del protocolo por parte del comité de ética hospitalario, obtención de fondos adicionales.

Cronograma de actividades

Fecha de inicio: (mes/año)	BIMESTRE												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
ACTIVIDAD													
Obtención de insumos	X	X	X										
Estandarización de técnica				X	X								
Inclusión de pacientes						X	X	X	X	X	X		
Realización de estudios						X	X	X	X	X	X		
Análisis de los estudios												X	
Presentación de resultados												X	X
Elaboración de manuscritos												X	X
Publicación													X

Limitaciones del estudio.

Se tiene en cuenta que las características de distintas comorbilidades y mortalidad atribuida a su estancia en la UCIN pudieran impactar en los resultados observados. Sin embargo, se ajustara el análisis estadístico intentando contemplar estos fenómenos.

BENEFICIOS CIENTÍFICOS ESPERADOS.

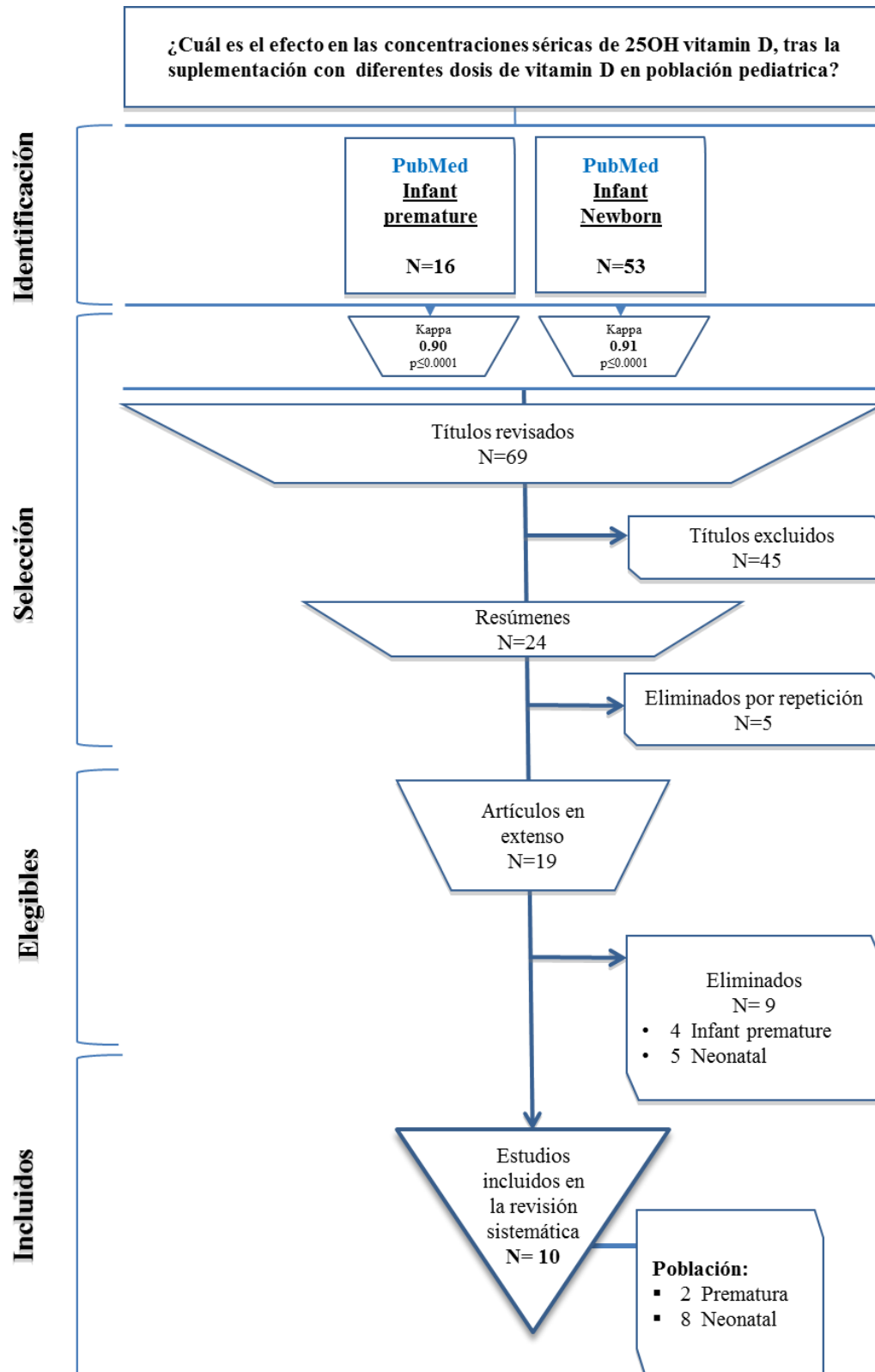
Aplicación clínica de los resultados obtenidos de la suplementación con VD en el metabolismo óseo de neonatos pretérmino ingresados a la UCIN y efecto en la prevención del deterioro óseo en esta población.

Se reportará por primera vez el efecto de una estrategia de prevención y benéfica para la arquitectura ósea en población pretérmino susceptible de deterioro óseo.

En cuanto a la difusión del conocimiento se publicarán los resultados en revista de nivel internacional así como presentación en foros nacionales e internacionales.

ANEXO I.

Flujograma de la revisión sistemática de la literatura.



ANEXO II.

Productos suplementados con vitamina D como sustancia pura o en combinación de venta en México al 2013.

SUSTANCIA ACTIVA	PRESENTACIÓN	NOMBRE COMERCIAL	DÓISIS
Vitamina D2 (Calcitriol)	Cápsula de gelatina blanda	ALBRINOL. Metabolito de vitamina D. Cápsulas de gelatina blanda. ALVARTIS .	10,000 UI
	Cápsulas	ALTROL. Para osteoporosis postmenopáusica.. Cápsulas. GELCAPS .	10,000 UI
	Ungüento	SILKIS. Tratamiento de la psoriasis.. Ungüento. GALDERMA .	12,000 UI
	Cápsulas	Osteoporosis post-menopáusica establecida. Osteodistrofia renal en pacientes con insuficiencia renal crónica. Rocatrol de Roche	200, 400 800 y 1600 UI
Vitamina D3 (Calciferol)	Tabletas	VALMETROL-3. Para el tratamiento de los síntomas que se manifiestan en la hipocalcemia y osteoporosis. Tabletas. VALDECASAS.	400, 800 y 1600 U.I.

Productos suplementados con vitamina D en combinación con otras moléculas y suplementos, de venta en México al 2013.

SUSTANCIA ACTIVA	PRESENTACIÓN	NOMBRE COMERCIAL	DÓSIS
Calciferol	Comprimidos	FOSAMAX PLUS. <i>Alendronato, Alendrónico, ácido. Tratamiento de la osteoporosis.. Comprimidos.</i> MERCK SHARP AND DOHME.	70 mcg o 140 mcg equivalente a 2,800 U.I. o 5,600 U.I. de vitamina D ₃
	Tableta	OSSOPAN. <i>Fósforo, Proteínas. Tabletas.</i> TAKEDA MÉXICO.	Complejo oseínico mineral 200 mg
Ergocalciferol	Solución	BARIPLEX. <i>Cianocobalamina (vitamina b12), L-lisina, Nicotinamida (vitamina b3), Retinol (vitamina a), Tiamina, Vitamina b6 (piridoxina). Multivitamínico.. Solución.</i> DEGORT'S.	Ergocalciferol (vitamina D ₂) 40,000 UI
	Soución	FRAVIT. <i>Retinol (vitamina a). Solución.</i> DEGORT'S.	Ergocalciferol (vitamina D ₂) 400 UI
	Cápsulas	FRAVITAN. <i>Ascorbato de sodio, Calcio, pantotenato de, Ferroso, sulfato, Fosfato dicalcico anhidro, Nicotinamida (vitamina b3), Retinol (vitamina a), Riboflavina (vitamina b2), Sulfato de magnesio, Tiamina, Vitamina b2 (riboflavina), Vitamina b6 (piridoxina), Vitamina c (ascórbico, ácido), Vitamina e (tocoferol). Vitaminas y minerales.. Cápsulas de gelatina blanda.</i> DEGORT'S.	Ergocalciferol (vitamina D ₂) 400 U.I.
	Tabletas	PRENATEX. <i>Ascórbico, ácido (vitamina c), Calcio, fosfato tribásico de, Calcio, pantotenato de, Cianocobalamina (vitamina b12), Ferroso, fumarato, Ferroso, sulfato, Fólico, ácido, Nicotinamida (vitamina b3), Riboflavina (vitamina b2), Tiamina, Vitamina a (retinol), Vitamina b6 (piridoxina). Tabletas.</i> PRODUCTOS MEDIX.	Ergocalciferol (equivalente a 200 U.I. de vitamina D ₂) 0.006 mg
Vitamina D (Calciferol)	Ampolletas	ADEKON. <i>Vitamina a (retinol). Vitaminas A y D hidromiscibles.. Solución ingerible.</i> CONCORDIA.	Ergocalciferol (vitamina D ₂) 1,000 U.I.
	Ampolletas	ADEKON-C. <i>Vitamina a (retinol). Vitaminas A y D hidromiscibles, Vitamina C. Solución infantil gotas.</i> CONCORDIA.	Ergocalciferol (vitamina D ₂) 400 U.I.

	Solución	ADEROWEST. Vitamina a (retinol), Vitamina d2 (ergocalciferol). Para las deficiencias de las vitaminas de la fórmula.. Solución. BRULUART.	Ergocalciferol equivalente a 400 U.I. de vitamina D₂
	Polvo oral	ELEMENTEX. Aminoácidos, Biotina, Colina, Hidratos de carbono, Lípidos, Minerales (citrato de potasio, fosfato dibásico de magnesio, cloruro de potasio, cloruro de sodio, f, Proteínas, Vitamina b3 (nicotínico, ácido, niacina, niacinamida, nicotinamida), Vitamina c (ascórbico, ácido), Vitamina e (tocoferol), Vitamina k, Vitaminas b1, b6, b12 (complejo b). Polvo oral. INDUSTRIAS SUANCA.	Vitamina D: 77.99 UI o 97.00 UI
	Polvo oral	I-VALEX 1 Y I-VALEX 2. Aminoácidos, Aminoácidos esenciales, Calcio, Cloruro, Cromo, Hidratos de carbono, L-carnitina, Lípidos, Retinol (vitamina a), Vitamina b1 (tiamina), Vitamina b2 (riboflavina), Vitamina e (tocoferol), Vitamina k. Soporte nutricional para niños y adultos con acidemia isovalérica o desórdenes del catabolismo de la leucina.. Polvo. ABBOTT.	Vitamina D: 300 UI
	Polvo oral	NAN 3. Acetato de vitamina a, Ascórbico, ácido (vitamina c), Cianocobalamina (vitamina b12), Citrato de calcio, citrato de sodio, citrato de potasio, cloruro de sodio, hidróxido de calcio, sulf, Grasa vegetal, Hidroxocobalamina (véase: vitamina b12), Inulina enriquecida con oligofructosa, Leche descremada, Lecitina de soya, Niacinamida (vitamina b3), Nicotinamida (vitamina b3), Propionato de vitamina a, Retinol (vitamina a), Riboflavina (vitamina b2), Sólidos de leche, Sólidos de maíz, Tocoferol (vitamina e), Vitamina a (retinol), Vitamina a, palmitato de, Vitamina b, complejo (vitaminas b1, b6 y b12), Vitamina b1 (tiamina), Vitamina b12 (cobalamina, cianocobalamina, hidroxocobalamina), Vitamina b2 (riboflavina), Vitamina b6 (piridoxina), Vitamina c (ascorbato de sodio), Vitamina c (ascórbico, ácido), Vitamina d (colecalfiferol), Vitamina e (tocoferol), Vitamina e, acetato de, Vitamina k, Vitaminas, Vitaminas b1, b6, b12 (complejo b), Vitaminas y minerales. Fórmula de crecimiento con hierro y probióticos, para niños. Polvo. NESTLÉ.	Vitamina D+ por ración por cada 30ml: 6.8 UI
	Polvo oral	NAN PREBIO AE. Acetato de vitamina a, Ascórbico, ácido (vitamina c), Cianocobalamina (vitamina b12), Hidroxocobalamina	Vitamina D por cada 100 gr de polvo: 240 UI

		<i>(véase: vitamina b12), Propionato de vitamina a, Retinol (vitamina a), Riboflavina (vitamina b2), Vitamina b, complejo (vitaminas b1, b6 y b12), Vitamina b1 (tiamina), Vitamina b12 (cobalamina, cianocobalamina, hidroxocobalamina), Vitamina b2 (riboflavina), Vitamina b6 (piridoxina), Vitamina c (ascorbato de sodio), Vitamina c (ascórbico, ácido), Vitamina d (colecalfiferol), Vitamina k. Fórmula infantil en polvo con hierro. Polvo. NESTLÉ.</i>	
	Polvo oral	<i>NIDAL. Aceites vegetales (oleína de palma, palma kernel, canola y maíz), Ácido fólico, Biotina, Cianocobalamina (vitamina b12), Citrato de calcio, citrato de sodio, citrato de potasio, cloruro de sodio, hidróxido de calcio, sulf, Cloruro de calcio, Cloruro de magnesio, Cloruro de sodio, Cobre, sulfato de, D-pantotenato de calcio, Lactosa, L-arginina, L-carnitina, Leche de vaca descremada), Lecitina de soya, L-histidina, Magnesio, sulfato de, Niacinamida (vitamina b3), Proteína de suero de leche de vaca, Selenato de sodio, Taurina, Vitamina a (retinol), Vitamina b1 (tiamina), Vitamina b2 (riboflavina), Vitamina b6 (piridoxina), Vitamina b7 (inositol), Vitamina c (ascorbato de sodio), Vitamina e (tocoferol), Vitamina k, Yoduro de potasio, Zinc, sulfato de. Fórmula infantil en polvo con hierro. Polvo. NESTLÉ.</i>	Vitamina D por cada 100 gr de polvo: 240 UI
	Solución	<i>POLY-VI-SOL. Niacinamida (vitamina b3), Riboflavina (vitamina b2), Vitamina a, palmitato de, Vitamina b1 (tiamina), Vitamina c (ascórbico, ácido). Solución. SIEGFRIED RHEIN.</i>	Colecalciferol (vitamina D ₃) 40,000 U.I.
	Comprimidos	<i>SENFEM 600. Calcio, Retinol (vitamina a). . Comprimidos. BIOFARMA.</i>	Ergocalciferol 1,500 U.I. de vitamina D ₂
	Solución	<i>TILARMIN. Vitamina a (retinol). Para deficiencias de las vitaminas de la fórmula.. Solución. BRULUART.</i>	Colecalciferol (vitamina D ₃) 1,600 U.I.
Vitamina D (Colecalfifero I)	Líquido	<i>PEPTAMEN JUNIOR. Aceite de canola, Aceite de soya, Acesulfame potásico 14,5 mg/100 ml (endulzante no nutritivo), Acetato de vitamina a, Ácido fólico, Ácido selenito de sodio, Agua, Almidón de maíz, Biotina, Calcio, citrato de, Calcio, fosfato de, Carnitina, Cianocobalamina (vitamina b12), Cítrico, ácido, Cobre,</i>	Vitamina D por cada 100 ml: 56 UI

		<i>sulfato de, Colina cloruro de, D-pantotenato de calcio, Fosfato de sodio, Goma guar, Hierro (sulfato ferroso), Inositol., L-carnitina, Lecitina de soya, Magnesio, cloruro de, Magnesio, óxido de, Maltodextrina, Manganeso, sulfato de, Niacinamida (vitamina b3), Potasio cloruro de, Potasio, citrato de, Potasio, yoduro de, Proteína de suero enzimáticamente hidrolizada (de leche de vaca), Rojo 3, Saborizante natural y artificial, Sacarosa, Sal, cloruro de sodio, β-caroteno, Sucralosa, Taurina, Triglicéridos de cadena media (fuente de tcm: aceite de coco fraccionado y aceite de palma), Vitamina b1 (tiamina), Vitamina b2 (riboflavina), Vitamina b6 (piridoxina), Vitamina c (ascorbato de sodio), Vitamin.Fórmula de crecimiento lista para beber. Líquido. NESTLÉ.</i>	
	Tabletas	SERALIS VIP. <i>Risedrónico, ácido (risedronato). Tabletas. RIMSA.</i>	Colecalciferol (vitamina D ₃) a 2,000 U.I. o 2,800 U.I. o 5,600 U.I.
	Cápsulas	SHOT B-GS. <i>Calcio, fosfato dibásico, Calcio, pantotenato de, Cianocobalamina (vitamina b12), Ferroso, fumarato, Ginseng, Nicotinamida (vitamina b3), Potasio, fosfato de, Riboflavina (vitamina b2), Vitamina a (retinol), Vitamina b1 (tiamina), Vitamina b2 (riboflavina), Vitamina b6 (piridoxina), Vitamina e (tocoferol), Zinc, sulfato de. Cápsulas. GENOMMA LABORATORIES DE MÉXICO.</i>	Colecalciferol (vitamina D ₃) 400 U.I.
	Cápsulas	VITADIET. <i>Ascórbico, ácido (vitamina c), Calcio, carbonato de, Cianocobalamina (vitamina b12), Cromo, dinicotinado de, Ferroso, fumarato, Fólico, ácido, Griffonia simplicifolia, Magnesio, óxido de, Selenio metionina, Vitamina a (retinol), Vitamina b6 (piridoxina), Vitamina e (tocoferol), Zinc. Cápsulas. PRODUCTOS MEDIX.</i>	Colecalciferol (vitamina D) 40,000 UI
Vitamina D2 (Ergocalcifero I)	Cápsula	AQUASOL AD. <i>Vitamina a (retinol). Vitaminas A y D. Cápsulas. GROSSMAN.</i>	Ergocalciferol (vitamina D ₂) 600 U.I.
Vitamina D3 (Colecalcifero I)	Tabletas	ACTICAL. <i>Calcio, Magnesio, Magnesio, clorfibrato de, Silicio orgánico. Para el tratamiento de las deficiencias de los componentes de la fórmula.. Tabletas. USANA.</i>	Colecalciferol (vitamina D ₃) 100 U.I.

Gragea y tableta	ACTONEL TRÍO. <i>Calcio, carbonato de, Risedrónico, ácido (risedronato).</i> Regulador del metabolismo óseo. Vitamina D.. <i>Tabletas.</i> SANOFI-AVENTIS.	Colecalciferol (vitamina D₃) 200 U.I.
Solución	ORADEKAN. <i>Vitamina a (retinol).</i> Sinergia vitamínico A y D. <i>Solución ingerible.</i> STREGER.	Colecalciferol (vitamina D₃) 1,200 U.I.
Comprimidos	OSTEOMIN D. <i>Calcio.</i> Suplemento de calcio y vitamina D.. <i>Comprimidos.</i> TAKEDA MÉXICO.	Vitamina D₃ 200 U.I.
Líquido	PERATIVE. <i>Aceite de canola, Aceite de triglicéridos cadena media, Acetato de ?-tocoferilo, Ácido cítrico, Ácido fólico, Agua, Ascórbico, ácido (vitamina c), Biotina, Carragenina, Caseinato de sodio parcialmente hidrolizado, Cianocobalamina (vitamina b12), Clorhidrato de cloruro de tiamina, Clorhidrato de piridoxina, Colina cloruro de, Cromo, cloruro de, Cúprico, sulfato de, D-pantotenato de calcio, Ferroso, sulfato, Lactoalbúmina, hidrolizado de, L-arginina, Lecitina de soya, Magnesio, cloruro de, Maltodextrina (maíz), Manganeso, sulfato de, Molibdato de sodio, Niacinamida (vitamina b3), Potasio cloruro de, Potasio, citrato de, Riboflavina (vitamina b2), Selenato de sodio, β-caroteno, Taurina, Tribásico fosfato de calcio, Vitamina a, palmitato de, Vitamina k (filoquinona), Yoduro de potasio, Zinc, sulfato de.</i> Nutrición líquida especializada. Para nutrición enteral por sonda.. Líquido. ABBOTT.	Vitamina D (coleciferol) 40,000 UI por cada 100ml
Tabletas	USANA AO PRO. <i>Lipóico, ácido, Vitamina a (retinol), Vitamina b1 (tiamina), Vitamina b2 (riboflavina), Vitamina b5 (pantoténico, ácido), Vitamina b6 (piridoxina), Vitamina b7 (inositol), Vitamina c (ascórbico, ácido), Vitamina e (tocoferol), Vitamina k. Vitaminas..</i> Tabletas. USANA.	Colecalciferol 150 U.I. de vitamina D₃

ANEXO III.



HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título de proyecto:

EFFECTIVIDAD DE DOS DIFERENTES DOSIS DE VITAMINA D EN EL METABOLISMO ÓSEO DE RECIÉN NACIDOS PRETÉRMINO INGRESADOS A LA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS NEONATALES: ENSAYO CLÍNICO ALEATORIZADO TRIPLE CIEGO

Madre () Padre () Tutor ():

Muchos de los *bebés* que nacen antes de tiempo y que se les llama prematuros, necesitan hospitalizarse en áreas de cuidado intensivo para recién nacidos (UCIN), como es el caso de su bebé, en donde con frecuencia es necesario mantenerlos con alimentación especial por sus *venitas* porque no pueden comer por la boca por mucho tiempo, usar aparatos llamados ventiladores para que puedan respirar y medicamentos que son necesarios para su tratamiento, lo que hace que estos *bebés* pierdan con mayor facilidad un componente importante para sus *huesitos* llamado calcio, que hace necesario darles ese calcio por sus *venitas*, este calcio necesita de una vitamina llamada Vitamina D para que pueda ser mejor aprovechado por su bebé.

El Hospital Infantil de México Federico Gómez, está realizando un estudio de investigación para valorar la efectividad (aprovechamiento) de dos diferentes dosis de vitamina D en los *huesitos* de los recién nacidos prematuros hospitalizados en la UCIN, que los padres o tutor acepten este estudio. Se dará por *la boquita* del bebé, la dosis que le toque al azar de 400 UI/día ó 1000 UI /día durante tres meses en presentación de aerosol.

Si usted acepta la participación de su hijo(a), se realizará la siguiente entrevista:

1. **A usted**, le haremos preguntas acerca de antecedentes de enfermedades que haya presentado antes y durante el embarazo, hábitos de fumar, tomar bebidas alcohólicas, su peso y talla antes y después del embarazo, si tomo vitaminas u otros medicamentos durante el embarazo. Atención durante el embarazo, como fue su parto, semanas de embarazo al nacer su bebé, uso de medicamentos durante el parto o para reanimar a su *bebé*. El cuestionario tendrá una duración aproximada de 15 minutos. La (o) entrevistaremos en el “Centro de investigación en Epidemiología Clínica” ubicado en el 4to piso del Edificio Mundet dentro de nuestro hospital, en el horario que a usted le convenga entre 9:00 de la mañana a 6:00 de la tarde, por favor llamar al teléfono 52-28-99-17 extensión: 2525. De requerirlo puede llamar al número celular: 044-55-67-06-24-10 o al 044-55-16-39-75-15, o comentarle a la Dra. Dina Villanueva García, para programar su entrevista a los teléfonos 52289917 extensión 2119 y 2122 en las instalaciones del Hospital Infantil Federico Gómez en la coordinación de la Unidad de cuidados intensivos neonatales.

A su hijo(a) se le dará: una dosis diaria de vitamina D₃ Biocare® “D.Day” de origen canadiense, la dosis será asignada de forma aleatoria a concentraciones de 1000 UI o 400 UI, la forma de aplicarla será en una atomización simple en aerosol **vía oral**.

Aunque es poco probable, con la administración de vitamina D, puede existir náusea, vómito, irritabilidad, disminución del apetito, que en caso que comprometa la salud e integridad del paciente, se suspenderá la dosificación y se solicitará de inmediato se nos diga que dosis estaba recibiendo de vitamina D. No se cobrará costo alguno por la toma de muestras ni los análisis pertinentes a nuestra investigación.

2. **A su hijo(a) se le tomarán muestras de:**

Sangre, 3ml (igual a 1/5 parte de una cuchara) de una vena o a través de un *tubito* de plástico llamado catéter que tenga en una vena, al inicio del estudio, una vez al mes y al concluir la administración de la vitamina D a los 3 meses.

Orina 2ml ((igual a 1/5 parte de una cuchara) a través de una bolsa de plástico especial para recolección de orina pegada alrededor del área genital de su hijo (a) al inicio del estudio, al mes, a los dos meses y al tercer mes que es cuando finaliza el estudio.

Le aclaramos que tanto la administración del tratamiento como la toma de muestras serán realizadas por personal médico especializado de la UCIN.

Por último las muestras obtenidas se congelarán y mandarán a analizar a laboratorios altamente especializados manteniendo la confidencialidad de los resultados.

Beneficios: Al paciente durante el estudio se le proporcionará de forma gratuita el tratamiento de vitamina D Biocare® “D.Day” de origen canadiense, según le sea asignada la dosis por azar a concentraciones de 1000 UI o 400 UI, esta presentación en forma de aerosol que se da por la boca, hasta nuestro conocimiento no existe todavía en México. Los estudios que se realizaran en un laboratorio especializado con los 2 ml de sangre que se extraerá a su *bebe* para este estudio, no habrá costo alguno para usted.

Al egreso del estudio se ofrecerá como a todos los padres de los *bebés* que se dan de alta de la UCIN, información completa sobre su alimentación y estimulación por el Departamento de Rehabilitación. A la conclusión del estudio se le entregará informe de los resultados atribuidos a la terapia con vitamina D que le fue asignada.

Confidencialidad: Se le asegura que toda la información que usted nos proporcione para el estudio será de carácter estrictamente confidencial, será utilizada únicamente por el equipo de investigación del proyecto y no estará disponible para ningún otro propósito. Usted y su hijo(a) quedarán identificados(as) con un número y no con su nombre. Los resultados de este estudio serán publicados con fines científicos, pero se presentarán de tal manera que no podrán ser identificados(as).

Riesgos Potenciales: Los riesgos potenciales que implican su participación en este estudio son los siguientes:

En cuanto al cuestionario (sin riesgo): Si alguna de las preguntas le hicieran sentir un poco incómodo(a), a usted, tiene el derecho de no responderla.

En cuanto a la administración de la vitamina D; (riesgo mayor al mínimo). Aunque cualquiera de las 2 dosis que le toque a su bebe está dentro de las recomendaciones internacionales de esta vitamina, en caso de presentarse algún evento adverso grave durante la administración de la vitamina D y que sea atribuido a la misma se detendrá su administración y se tratará de inmediato, así como se solicitara se informe sobre la dosis que le había tocado recibir a su bebe y se le comentará también de inmediato.

En cuanto a la toma de muestras: Respecto a la toma de muestra de sangre, existe la posibilidad de un pequeño hematoma (moretón) y/o dolor al momento en la zona de toma de muestra si se toma directamente de la vena. Cabe aclarar que el material utilizado será absolutamente nuevo, estéril y desechable. Referente a la toma de muestras de orina se realizará con material especializado para la colecta en recién nacidos, siendo la maniobra generalmente sin molestias.

Se mantendrá una valoración frecuente de reacciones atribuidas al tratamiento y tomas de muestras para este proyecto, proporcionándole información actualizada, aunque ésta pudiera afectar su voluntad para seguir participando.

Usted no recibirá ningún pago por participar en el estudio, pero tampoco implicará algún costo para usted

Participación Voluntaria/Retiro: La participación en este estudio es absolutamente libre y voluntaria. Usted está en plena libertad de negarse a participar o de retirar su participación del mismo en cualquier momento, puede revocarlo de ser preferente, a través de la firma de la “Carta de revocación del consentimiento”.

Su decisión de participar o de no participar no afectará de ninguna manera la forma en su cuidado y tratamiento en la UCIN del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Números a contactar garantizando recibir respuesta: Si usted tiene alguna pregunta, comentario o preocupación con respecto al proyecto o alguna pregunta relacionada con sus derechos como participante de un estudio de investigación, por favor comuníquese con la investigadora principal Dra. Patricia E. Clark Peralta, o las investigadoras colaboradoras: MCS Pediatra Desiree López González o la MCS Lucia Méndez Sánchez al siguiente número de teléfono 52-28-99-17 extensión: 2525 o con la Dra. Dina Villanueva al mismo teléfono pero extensión: 2119 y 2122 en un horario de 9am a 4pm. De requerirlo puede llamar a los números de celular: 044-55-67-06-24-10 o al 044-55-16-39-75-15, donde las investigadoras podrán atender sus dudas.

Si usted acepta que su hijo participe en el estudio y acepta contestar el cuestionario de “antecedentes de usted y su parto”, le pedimos sea tan amable de firmar este documento y al momento le entregaremos una copia del mismo.

Consentimiento del padre/madre o tutor para su participación y la de su hijo(a)

Su firma indica su aceptación para que Usted y su hijo(a) participen voluntariamente en el presente estudio.

Nombre del Padre/Madre/Tutor participante:

Fecha:

Firma: _____

Día / Mes / Año

Relación con el menor participante _____

Nombre completo del menor participante

Nombre Completo del Testigo 1:

Fecha:

Dirección

Firma: _____

Relación con el participante _____

Nombre Completo del Testigo 2:

Fecha:

Dirección

Firma: _____

Relación con el participante _____

Nombre de la persona que obtiene el consentimiento

Fecha:

Día / Mes / Año

ANEXO IV.

Hoja de recolección de datos basales, mensuales y calendarización de suplementación con vitamina D (Frasco cegado).

HOJA DE DATOS GENERALES AL INGRESO DEL ESTUDIO												
Hospital de procedencia	Privado		Público		Nivel	I	No. de registro		Sexo	F		M
Nombre								Fecha de nacimiento (dd/mm/año)	/ /			
Edad gestacional	días semanas meses			Edad gestacional al ingreso			días semanas meses			Edad cronológica al ingreso		
Estado de salud	Sano	Enfermo		Dx ingreso	*Sepsis	*DBP	*CC	*IC	*Otros			
Estancia en UCIN (tachar con una cruz) (de manifestar negativo en las siguientes casillas se recomienda pasar a la medición de SOS y DXA)												
Corta estancia (<20 días)					Larga estancia (>20 días)							
Antecedentes POSNATALES												
MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS DEL NEONATO												
Peso (k /g)		PC (cm)		Talla (cm)		IMC		Edad (dd/mm/aa)	___/___/___			
Composición corporal (pliegues cutáneos)												
Uso	Si	No	Especificar									
Esteroides												
Antecedentes de la estancia en UCIN												
Uso	SI	No	Especificar									
Diurético			*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Complicaciones			*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Uso	Si	No	Duración			Dx Egreso:						
oxígeno suplementación			Duración Horas	Días								
VMA			Horas	Días								
MEDICIÓN ÓSEA												
Tiempo de medición (Edad posnatal)			Nombre del evaluador						Fecha (dd /mm/año)			
Cero (30-40 semanas de vida)									___/___/___			

ANTECEDENTES PERINATALES													
ANTECEDENTES DE LA MADRE													
Peso previo al embarazo (k /g)			Peso al final del embarazo (k /g)			Talla (cm)			IMC			Edad (dd/mm/aa)	___/___/___
Embarazo planeado	Si		Control prenatal	Si		Número de consultas prenatales							
	No			No									
Suplementos durante el embarazo	Si		*Vitaminas (mencione)			*Ac. Fólico (mencione)			*Hierro (mencione)			*Esteroides (mencione)	*Otros
	No												
Fumo antes del embarazo	Si		Número de cigarrillos	Día		Fumo durante el embarazo	Si		Número de cigarrillos	Día			
	No			semana			No			Semana			
Abandono cuanto antes el cigarrillo	Si		Abandono durante el embarazo	Si		En que trimestre							
	No												
Uso de drogas	Si		Cuales				Uso de otros fármacos	Si		Especifique			
	No							No					
Padece o padeció DMII	Si		Antes del embarazo	En que trimestre:		Infecciones	Si		Antes del embarazo	Duración:		Cuales:	
			Durante el embarazo						Durante el embarazo	<20 días			
	No		Después del embarazo				No		Después del embarazo	>20 días			

Estancia en UCIN Tiempo uno (1 mes posteriores a la primera medición)													Vivo	Falleció
Uso	Si	No	Especificar											
Esteroides														
Diurético														
Aminofilina														
Complicaciones														
Uso	Si	No	Duración			Dx Egreso:								
Anticonvulsivante			Horas	días										
Amikacina			Horas	días										
oxígeno suplementario			Horas	días										
NPT			Horas	días										
VMA			Horas	días										
NUTRICIÓN DEL NEONATO														
Aporte de Kcal totales			Aporte de proteínas		RCP		Edad de inicio de la vía enteral		Seno materno	Si		Porcentaje		
Aporte de Kcal por peso			Aporte de lípidos		RCNP					No				
Fórmula en %			Fortificación de la leche		Suplementación con hierro	Si	Cuanto	Suplementación con vitaminas	Si	Complicaciones:				
				No			No							
MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS DEL NEONATO														
Peso (k /g)			PC (cm)		Talla (cm)		IMC		Edad (dd/mm/aa)	___/___/___				
Composición corporal (pliegues cutáneos)														
MEDICIÓN ÓSEA (A juicio del médico si se aproxima egreso o defunción del paciente)														
Nombre del evaluador					Fecha (dd /mm/año)	___/___/___								

Estancia en UCIN Tiempo uno (2 meses posteriores a la primera medición)													Vivo	Falleció
Uso	Si	No	Especificar											
Esteroides														
Diurético														
Aminofilina														
Complicaciones														
Uso	Si	No	Duración			Dx Egreso:								
Anticonvulsivante			Horas	días										
Amikacina			Horas	días										
oxígeno suplementario			Horas	días										
NPT			Horas	días										
VMA			Horas	días										
NUTRICIÓN DEL NEONATO														
Aporte de Kcal totales			Aporte de proteínas		RCP		Edad de inicio de la vía enteral		Seno materno	Si		Porcentaje		
Aporte de Kcal por peso			Aporte de lípidos		RCNP					No				
Fórmula en %			Fortificación de la leche		Suplementación con hierro	Si	Cuanto	Suplementación con vitaminas	Si	Complicaciones:				
				No			No							
MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS DEL NEONATO														
Peso (k /g)		PC (cm)		Talla (cm)		IMC		Edad (dd/mm/aa)						
Composición corporal (pliegues cutáneos)														
MEDICIÓN ÓSEA (A juicio del médico si se aproxima egreso o defunción del paciente)														
Nombre del evaluador					Fecha (dd /mm/año)	___/___/___								

Estancia en UCIN Tiempo uno (3 meses posteriores a la primera medición)												Vivo	Falleció
Uso	Si	No	Especificar										
Esteroides													
Diurético													
Aminofilina													
Complicaciones													
Uso	Si	No	Duración			Dx Egreso:							
Anticonvulsivante			Horas	días									
Amikacina			Horas	días									
oxígeno suplementario			Horas	días									
NPT			Horas	días									
VMA			Horas	días									
NUTRICIÓN DEL NEONATO													
Aporte de Kcal totales			Aporte de proteínas		RCP		Edad de inicio de la vía enteral		Seno materno	Si		Porcentaje	
Aporte de Kcal por peso			Aporte de lípidos		RCNP				No				
Fórmula en %			Fortificación de la leche		Suplementación con hierro	Si	Cuanto	Suplementación con vitaminas	Si	Complicaciones:			
						No			No				
MEDIDAS ANTROPOMÉTRICAS DEL NEONATO													
Peso (k /g)		PC (cm)		Talla (cm)		IMC		Edad (dd/mm/aa)	___/___/___				
Composición corporal (pliegues cutáneos)													
MEDICIÓN ÓSEA (A juicio del médico si se aproxima egreso o defunción del paciente)													
Nombre del evaluador					Fecha (dd /mm/año)	___/___/___							

CALENDARIO DE CUMPLIMIENTO DE APLICACIONES POR PERSONAL DE RESIDENCIA MÉDICA Y FECHAS SUGERIDAS PARA TOMA DE MUESTRA						
LUNES	MARTES	MIÉRCOLES	JUEVES	VIERNES	SÁBADO	DOMINGO
Tiempo "0" o basal: Toma de muestra de sangre periférica: 25-OH-Vitamina D, PTH, Fosfatasa alcalina, Calcio, Fósforo y Deoxypyridinolina (en orina).						
1	2	3	4	5	6	7
8	9	10	11	12	13	14
15	16	17	18	19	20	21
22	23	24	25	26	27	28
29	30	1 Tiempo "1": Toma de muestra de sangre periférica: PTH, Fosfatasa alcalina, Calcio, Fósforo y Deoxypyridinolina (en orina).	2	3	4	5
6	7	8	9	10	11	12
13	14	15	16	17	18	19
20	21	22	23	24	25	26
27	28	29	30	31	1 Tiempo "2": Toma de muestra de sangre periférica: PTH, Fosfatasa alcalina, Calcio, Fósforo y Deoxypyridinolina (en orina).	2
3	4	5	6	7	8	9
10	11	12	13	14	15	16
17	18	19	20	21	22	23
24	25	26	27	28	29	30
Tiempo "3" o Final: Toma de muestra de sangre periférica: 25-OH-Vitamina D, PTH, Fosfatasa alcalina, Calcio, Fósforo y Deoxypyridinolina (en orina).						

ANEXO V.



HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

**Carta compromiso de confidencialidad como colaborador de proyecto desempeñando funciones
como Revisor(a) de expedientes clínicos/ Cegamiento de la maniobra.**

Yo, _____, en mi carácter de **Revisor(a) de expedientes clínicos/ Cegamiento de la maniobra**, entiendo y asumo que, de acuerdo al **Art.16**, del Reglamento de la Ley General de Salud en materia de Investigación para la Salud, es mi obligación respetar la privacidad del individuo y mantener la confidencialidad de la información que se derive de mi participación en el estudio ***“EFECTIVIDAD DE DOS DIFERENTES DOSIS DE VITAMINA D EN EL METABOLISMO ÓSEO DE RECIÉN NACIDOS PRETÉRMINO INGRESADOS A UNA UNIDAD DE CUIDADOS INTENSIVOS NEONATALES: ENSAYO CLÍNICO ALEATORIZADO TRIPLE CIEGO”***. y cuyo(a) investigador(a) responsable es **Dra. Patricia E. Clark Peralta**, jefa del departamento de Epidemiología Clínica adscrita al Hospital Infantil de México “Federico Gómez”. Asimismo, entiendo que este documento se deriva del cumplimiento del **Art. 14 *** de la Ley Federal de Protección de Datos Personales en Posesión de los Particulares a la que está obligado todo(a) investigador(a).

Por lo anterior, me comprometo a no comentar ni compartir información obtenida con personas ajenas a la investigación del estudio arriba mencionado, ya sea dentro o fuera del sitio de trabajo, con pleno conocimiento de que la violación a los artículos antes mencionados es una causal de despido de mis funciones.

(Nombre)

(Firma)

(Fecha)

**“El responsable velará por el cumplimiento de los principios de protección de datos personales establecidos por esta Ley, debiendo adoptar las medidas necesarias para su aplicación. Lo anterior aplicará aún y cuando estos datos fueren tratados por un tercero a solicitud del responsable. El responsable deberá tomar las medidas necesarias y suficientes para garantizar que el aviso de privacidad dado a conocer al titular, sea respetado en todo momento por él o por terceros con los que guarde alguna relación jurídica*

ANEXO VI



HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO “FEDERICO GÓMEZ”
CARTA DE REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

Título de proyecto:

***EFFECTIVIDAD DE DOS DIFERENTES DOSIS DE VITAMINA D EN EL METABOLISMO
ÓSEO DE RECIÉN NACIDOS PRETÉRMINO INGRESADOS A LA UNIDAD DE CUIDADOS
INTENSIVOS NEONATALES: ENSAYO CLÍNICO ALEATORIZADO TRIPLE CIEGO***

Dra. Patricia E. Clark Peralta.

Presente.

Por este conducto deseo informar mi decisión de retirar la participación de este protocolo de investigación, a mi hijo (o de ser el caso, neonato en custodia legal) por las siguientes razones:

*Si el padre-madre o tutor del paciente así lo desea, podrá solicitar que le sea entregada toda la información que se haya recabado sobre él y su hijo, y, también las muestras recabadas (de ser el caso y existir la posibilidad) con motivo de su participación en el presente estudio.

Firma del padre o tutor del paciente

Fecha

Testigo

Fecha

Testigo

Fecha

c.c.p El paciente.

ANEXO VII.

Especificaciones del suplemento de vitamina D (Colecalciferol) marca registrada Biocare® en el idioma de origen (inglés).

Baby D® is specifically designed to help parents ensure that their child gets their recommended dosage of vitamin D without messy liquids. Additionally, with the elderly, Biocare™ products allow the individual to avoid some of the negative effects of taking a pill; there is no large pill to swallow and because the digestive system is bypassed, there is no upset stomach.

Recommended Dose: One spray directly under the tongue daily or as recommended by your health care practitioner. Each spray equals 1000 IU Vitamin D3 (Cholecalciferol)

Medicinal Ingredients:

Each 0.2 ml contains Vitamin D3 (Cholecalciferol) 1000 IU (25ug).

Non-medicinal Ingredients: Water, alcohol, fructose, citric acid, potassium sorbate, sodium benzoate, blueberry flavouring

Those at particular risk of Vitamin D deficiency:

- Pregnant and breastfeeding women
- Babies and children under 5 ([see Baby D®](#))
- Older people over the age of 50
- People with limited exposure to direct sunlight due to work environment, wearing of religious coverings, northern climates or high sun sensitivity
- People with darker skin such as people of Aboriginal, First Nations, African, African-Caribbean and South Asian origin
- Obese people or those who have had gastric bypass surgery
- People who have liver or gallbladder problems or have had gallbladder removed
- People with autoimmune disorders
- People with Crohn/Colitis or IBS

Biocare™ products are safe, natural and sold without a prescription (over the counter). Please consult your health care provider before using our products.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

- ¹ Ryan S. Bone Mineralization in Preterm Infants. *Nutrition* 1998; 14: 745-7
- ² Fetal and neonatal bone health: update on bone growth and manifestations in health and disease Stephen L. *BonePediatr Radiol* (2012) 42 (Suppl 1):S158–S176
- ³ Stephen L. Fetal and neonatal bone health: update on bone growth and manifestations in health and disease. *BonePediatr Radiol* (2012) 42 (Suppl 1):S158–S176
- ⁴ Stephen L. Fetal and neonatal bone health: update on bone growth and manifestations in health and disease. *BonePediatr Radiol* (2012) 42 (Suppl 1):S158–S176
- ⁵ Garnero P, Sornay-Rendu E, Duboeuf F, Delmas PD, Markers of bone turnover predict postmenopausal forearm bone loss over 4 years: the OFELY study. *J Bone Miner Res* 1999;14:1614-21.
- ⁶ Valentina Bozzetti, Paolo Tagliabue. Metabolic Bone Disease in preterm newborn: an update on nutritional issues. *Italian Journal of Pediatrics* 2009, 35:20 doi:10.1186/1824-7288-35-20
- ⁷ Holick MF. Vitamin D and bone health. *J Nutr* 1996;126(suppl 4): 1159S-1164S.
- ⁸ Ahmed SF, Franey C, McDevitt H, Somerville L, Butler S, Galloway P, Reynolds L, Shaikh MG, Wallace AM. Recent trends and clinical features of childhood vitamin D deficiency presenting to a Children's hospital Glasgow. *Arch Dis Child*. 2011 96(7):694-6.
- ⁹ Thomas MK., & Cols. Hypovitaminosis D in medical inpatients. *The New England Journal of medicine*. Volume 338. March 19, 1998. Number 12.
- ¹⁰ Parfitt AM y cols. *Am J Clin Nutr* 1982;36:1014–1031; Allain TJ, Dhesi J *Gerontology* 2003;49:273–278; LeBoff MS y cols. *JAMA* 1999;281:1505–1511; Bettica P y cols. *Osteoporos Int* 1999;9:226–229; Lips P y cols. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1212–1221; van der Wielen RPJ y cols. *Lancet* 1995;346:207–210.
- ¹¹ McDevitt H, Tomlinson C, White MP, Ahmed SF. Changes in quantitative ultrasound in infants born at less than 32 weeks' gestation over the first 2 years of life: influence of clinical and biochemical. *Calcif Tissue Int*. 2007 Oct;81 (4):263-9.
- ¹² McDevitt H, Tomlinson C, White MP, Ahmed SF. Quantitative ultrasound assessment of bone in preterm and term neonates. *Arch Dis Fetal Neonatal Ed*. 2005;90:F341-F342.
- ¹³ Rubinacci A, Moro GE, Noehm G. et al. Quantitative ultrasound for the assessment of osteopenia in preterm infants. *Eur J Endocrinol* 2003;149:307-15.
- ¹⁴ Hernández M, Sánchez E, Sobradillo B, Rincón JM. Maduración ósea y predicción de talla adulta. Atlas y métodos numéricos. Madrid: Ed. Díaz de Santos; 1991.
- ¹⁵ Tanner JM, Whitehouse RH, Marshall WA, Healy MJR, Goldstein H. Assessment of skeletal maturity and prediction of adult height (TW2 method) (2nd ed.). Londres: Academic Press; 1983.
- ¹⁶ Hernández M, Sánchez E, Sobradillo B, Rincón JM, Narvaiza JL. A new method for assessment of skeletal maturity in the first 2 years of life. *Pediatr Radiol*. 1988;18:484-9.
- ¹⁷ Ceñal GF Dilemas diagnosticos y terapeuticos en talla baja Rev. *Pediatr Aten Primaria* 2009;11 S16:s155-s172
- ¹⁸ Lips P. Suboptimal vitamin D status: a risk factor for osteoporosis? In: Draper HH, ed. *Advances in Nutritional Research*. Vol 9. New York: Plenum Press; 1994:151–165; Pfeiffer M, Minne HW. *Trends Endocrinol Metab*.
- ¹⁹ Chico-Barba L, Vivanco-Muñoz N, Avil!es-Toxqui DP, Tamayo J, Rivas-Ruiz R, Buendia-Hernández A, and Clark P. Bone Quality and Nutritional Status in Children With Congenital

Heart Defects. *Journal of Clinical Densitometry: Assessment of Skeletal Health*, vol. 15, no. 2, 205e210, 2012

²⁰ Guía de Práctica Clínica: Manejo del Recién Nacido Prematuro Sano en la sala de prematuros. IMSS-362-10.

²¹ Glorieux FH, Pettifor JM, Juppner H [2003] Fetal mineral homeostasis. In: *Pediatric bone: biology and diseases*.

²² Takata M, Shimada M, Hosono S. et al. Trace element and mineral requirement for very low birth weight infants in rickets of prematurity. *Early Hum. Dev.* 1992;29:333-8.

²³ Pieltain C, de Halleux V, Senterre T, Rigo J. Prematurity and bone health. *World Rev Nutr Diet.* 2013; 106:181-8

²⁴ Harrison CM & Gibson AT. Osteopenia in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2013;98:F272–F275

²⁵ Hay W. Strategies for feeding the preterm infant. *Neonatology* 2008; 94: 245-254.

²⁶ Guía de Práctica Clínica: Manejo del Recién Nacido Prematuro Sano en la sala de prematuros. IMSS-362-10.

²⁷ Guía de seguimiento del recién nacido de riesgo. Unidad coordinadora ejecutora de programas materno infantiles y nutricionales. Ministerio de salud Argentina Noviembre 2001. Página 60.

²⁸ Carlos F, Clark P, Galindo-Suárez RM, Chico-Barba LG. Health care costs of osteopenia, osteoporosis, and fragility fractures in Mexico. *Arch Osteoporos.* 2013;8(1-2):125

²⁹ Cole ZA, Dennison EM, Cooper C. The impact of methods for estimating bone health and the global burden of bone disease. *Salud Publica Mex.* 2009;51 Suppl 1:S38-45

³⁰ CONAPO. Proyecciones de la población 2010-2050.

³¹ Clark P, Carlos F, Vázquez-Martínez JL. Epidemiology, costs and burden of osteoporosis in Mexico. *Arch Osteoporos.* 2010;5:9-17.

³² Institute of Medicine. Behrman RE, Stith BA, editors. *Preterm birth: causes, consequences, and prevention*. Washington, DC: The National Academies Press, 2006.

³³ Ladhani S, Srinivasan L, Buchanan C, Allgrove j. Presentation of vitamin D deficiency. *Arch Dis Child.* 2004;89(8):781-784.

³⁴ Guía clínica: Prevención, Diagnóstico y Tratamiento de Raquitismo Carencial. Esta guía puede ser descargada de internet en: www.cenetec.salud.gob.mx/interior/gpc.html

³⁵ Wagner CL, Greer FR, American Academy of Pediatrics Section on Breastfeeding; American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition. Prevention of rickets and vitamin D deficiency in infants, children, and adolescents. *Pediatrics.* 2008 Nov;122(5):1142-52.

³⁶ Levine M, Zapalowski C, Kappy M. Disorders of calcium, phosphate, parathyroid hormone and vitamin D metabolism. In: Kappy MS, Allen DB, Geffner ME, eds. *Principles and practice of Pediatric Endocrinology*. Springfield, IL: Charles C. Thomas Co; 2005:741

³⁷ Kislal Fatih M and Dilmen Ugur. Effect of different doses of vitamin D on osteocalcin and deoxyypyridinoline in preterm infants. *Pediatrics International.* 2008 (50):204-207.

³⁸ Kislal FM, Dilmen Ugur. Effect of different doses of vitamin D on osteocalcin and deoxyypyridinoline in preterm infants. *Pediatrics International* 2008 (50);204-207.

³⁹ Vieth R. Vitamin D supplementation 25-hydroxyvitamin D concentrations and safety. *Am J Clin Nutr.* 1999;69:842–856.

⁴⁰ Jacobus CH, Holick MF, Shao Q, et al. Hypervitaminosis D associated with drinking milk. *N Engl J Med.* 1992;326(18):1173–1177.

⁴¹ Zhang Yaozong, Xue Chenguang, Zhu Tian, Du Xiaolan, Su Nan, Qi Huabing, Yang Jing, Shi Yuan and Chen Lin. Serum bone alkaline phosphatase in assessing illness severity of infected

neonates in the neonatal intensive care unit. *International Journal of Biological Sciences*. 2012;8(1):30-38.

⁴² Lucas-Herald A, Butler S, Mactier H, McDevitt H, Young D, Ahmed SF. Prevalence and Characteristics of rib fractures in ex-preterm infants. *Pediatrics*. 2012 Dec;130 (6):1116-9.

⁴³ Guía de Práctica Clínica: Manejo del Recién Nacido Prematuro Sano en la sala de prematuros. IMSS-362-10 Página 10.

⁴⁴ Guía de Práctica Clínica: Manejo del Recién Nacido Prematuro Sano en la sala de prematuros. IMSS-362-10. Página 11.

⁴⁵ Guía clínica Nutrición parenteral en pediatría, México: Secretaría de Salud; 2008. Esta guía puede ser descargada de internet en: www.cenetec.salud.gob.mx/interior/gpc.html

⁴⁶ American Society of Parenteral and Enteral Nutrition (ASPEN). Guidelines for the Use of Parenteral and Enteral Nutrition in Adult and Pediatric Patients. *JPEN* 2002; 26(1):13A-138SA.

⁴⁷ Guía de Práctica Clínica: Manejo del Recién Nacido Prematuro Sano en la sala de prematuros. IMSS-362-10.

⁴⁸ Flores ME, Macías-Morales N, Rivera-Pasquel ME. Efectos de la vitamina D sobre la salud, la respuesta inmune y el neurodesarrollo en niños. Revisión de la literatura. México: Instituto Nacional de Salud Pública, 2012.

⁴⁹ Guía clínica: Prevención, Diagnóstico y Tratamiento de Raquitismo Carenal. Esta guía puede ser descargada de internet en: www.cenetec.salud.gob.mx/interior/gpc.html

⁵⁰ Diccionario de especialidades farmacéuticas PLM. Consultado en página web en diciembre 2013: <http://www.medicamentosplm.com/index.html>

⁵¹ Clasificación Estadística Internacional de Enfermedades y Problemas Relacionados con la Salud, Décima Revisión

⁵² Sociedad Española de Nutrición Parenteral y Enteral (divulgación) página web consultado el 2 de enero de 2014.

⁵³ Sina Gallo, Katheryn Comeau, Catheryn Vanstone, et all. Effect of Different Dosages of oral Vitamin D supplementation on Vitamin D status in Healthy, Breastfed infants. A randomized trial. *JAMA*, May 1, 2013-Vol 309. 17 1785-1792

⁵⁴ Sina Gallo, Katheryn Comeau, Catheryn Vanstone, et all. Effect of Different Dosages of oral Vitamin D supplementation on Vitamin D status in Healthy, Breastfed infants. A randomized trial. *JAMA*, May 1, 2013-Vol 309. 17 1785-1792



*DESEMPEÑO DIAGNÓSTICO DE LA DENSITOMETRÍA DUAL DE RAYOS X (DXA) Y EL
ULTRASONIDO CUANTITATIVO (QUS) VERSUS LA BIOPSIA ÓSEA METABÓLICA, EN LA
EVALUACIÓN DEL ESTADO ÓSEO EN PACIENTES PEDIÁTRICOS RECEPTORES DE
TRASPLANTE RENAL*

Número de aprobación comité hospitalario: HIM-2014-009.

Número de acuerdo de aprobación del Subcomité Académico AA12-(CS/SCA/SO172/15)

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN
CANDIDATURA

A

DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD
CAMPO EPIDEMIOLOGÍA CLÍNICA

P R E S E N T A

Alumna:

MCS. LUCIA MÉNDEZ SÁNCHEZ

T U T O R A:

Investigador Principal:

DRA. PATRÍCIA CLARK

Jefa de la Unidad de Epidemiología Clínica

Comité Tutorial:

DRA. MARIO E. FLORES.

DR. JUAN O. TALAVERA

Hospital Infantil de México Federico Gómez.

2015.



**DESEMPEÑO DIAGNÓSTICO DE LA DENSITOMETRÍA DUAL DE RAYOS X (DXA) Y EL
ULTRASONIDO CUANTITATIVO (QUS) VERSUS LA BIOPSIA ÓSEA METABÓLICA, EN LA
EVALUACIÓN DEL ESTADO ÓSEO EN PACIENTES PEDIÁTRICOS RECEPTORES DE
TRASPLANTE RENAL**

Número de aprobación comité hospitalario: HIM-2014-009.

Número de acuerdo de aprobación del Subcomité Académico AA12-(CS/SCA/SO172/15)

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

CANDIDATURA

A

DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD
CAMPO EPIDEMIOLOGÍA CLÍNICA

PRESENTA

Alumna:

MCS. LUCIA MÉNDEZ SÁNCHEZ

TUTORA:

Investigador Principal:

DRA. PATRÍCIA CLARK

Jefa de la Unidad de Epidemiología Clínica

Comité Tutoral:

DRA. MARIO E. FLORES.

DR. JUAN O. TALAVERA

Hospital Infantil de México Federico Gómez.

2015.

HONORABLES MIEMBROS DEL COMITÉ EVALUADOR

PARA LA CANDIDATURA A

GRADO DE DOCTORADO:

Dr. MARIO EFRAÍN FLORES ALDANA

DRA. MARA MEDEIROS DOMINGO

DRA. GUDALUPE SILVA GARCÍA DE LA TORRE

DRA. MARIA LUISA PERALTA PEDRERO

DRA. MARÍA DE LOS ÁNGELES ESPINOSA CUEVAS

Índice general

	Página
Resumen en español	9
INTRODUCCIÓN	
• Antecedentes generales	11
MARCO TEÓRICO	
• Metabolismo de vitamina D y relación con función renal y metabolismo mineral óseo	14
• Enfermedad renal crónica y osteodistrofia renal	18
• Estrategias de diagnóstico	21
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	32
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	32
JUSTIFICACIÓN	32
OBJETIVOS	
• Objetivo general	33
• Objetivos particulares	33
HIPÓTESIS	
METODOLOGÍA	
• Diseño del estudio	34
• Tamaño de muestra	34
• Población	34
• Criterios de inclusión, exclusión y eliminación	34
• Tiempo y lugar	
• Definición de variables	35
• Estrategia de estudio	36
• Intervención	39
• Recolección de datos	41
• Error de medición. Limitaciones del estudio	43
• Análisis estadístico	43
RESULTADOS	
• Análisis descriptivo	44
• Análisis bivariado	44
DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN DEL ESTUDIO	
Discusión	
Conclusión	
IMPLICACIONES ÉTICAS.	46
CONSIDERACIONES DE BIOSEGURIDAD	
Recursos humanos y materiales	48
Infraestructura disponible	49
Colaboración internacional	49
CONFLICTO DE INTERESES	50

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES	51
BIBLIOGRAFÍA.	54

ÍNDICE DE FIGURAS

No. De figura	Contenido	Página
<i>Fig. 1</i>	<i>Correlación de trasplantes renales y el índice de desarrollo humano. Número de trasplantes renales de donadores vivos y fallecidos en los Estados miembros de la OMS en 2010, correlacionados con el índice de desarrollo humano.</i>	11
<i>Fig. 2</i>	<i>Número total de trasplantes por país en América Latina.</i>	12
<i>Fig. 3</i>	<i>Gráfica de la tasa de donadores potenciales por millón de población</i>	13
<i>Fig 4</i>	<i>Curva que muestra los cambios de masa ósea relacionada con la edad.</i>	14
<i>Fig 5</i>	<i>Diagrama que describe la actividad metabólica ósea desde crecimiento, modelación y remodelación</i>	15
<i>Fig 6</i>	<i>Proceso de remodelado óseo</i>	16
<i>Fig 7</i>	<i>Diagrama que muestra la producción cutánea de vitamina D y su metabolismo.</i>	17
<i>Fig 8</i>	<i>Esquema de las diversas funciones de los riñones.</i>	18
<i>Fig 9</i>	<i>El Ultrasonido cuantitativo (QUS), evalúa la velocidad del sonido (Speed of sound "SoS") en áreas periféricas del cuerpo, principalmente en: tibia, falanges, radio y metatarso.</i>	23
<i>Fig 10</i>	<i>Principales zonas de medición por Densitometría dual en Rayos X (DXA)</i>	24
<i>Fig 11</i>	<i>Área de toma de biopsia. Cresta ilíaca anterosuperior</i>	29
<i>Fig 12</i>	<i>Histomorfometría de la biopsia ósea previo marcaje y procesada sin descalcificar.</i>	30
<i>Fig 13</i>	<i>Estrategia de estudio. Esquema general del procedimiento a seguir durante la ejecución del estudio, desde el reclutamiento de los pacientes hasta el análisis de los resultados</i>	36
<i>Fig 14</i>	<i>Al momento de extraer la biopsia se coloca de inmediato en solución de alcohol al 40%.</i>	38
<i>Fig 15</i>	<i>Medición de la velocidad del sonido (SoS) con Ultrasonido</i>	39

	cuantitativo (QUS). a) Se traza una línea en la parte media de la tibia, b) se coloca al paciente en posición horizontal, y se procede a hacer la evaluación con el transductor, enviando la información a la computadora y al programa específico para su análisis	
Fig 16	Paciente siendo evaluado en posición "Cuerpo total" por Densitometría dual de rayos x (DXA).	39

ÍNDICE DE TABLAS

No. De tabla	Contenido	Página
Tabla 1	Clasificación KDIGO de la Enfermedad Renal Crónica-Enfermedad mineral ósea (ERC-EMO) y osteodistrofia renal	19
Tabla 2	Correlación mas alta reportada entre DXA cadera y QUS tibia y radio ³⁴	25
Tabla 3	Revisión sistemática de la literatura que muestra la evidencia de correlación entre DXA (cadera) Lunar® y QUS (tibia y radio) Sunlight Omnisense® (revisión exclusiva del presente trabajo).	25-26
Tabla 4	Clasificación de remodelación, mineralización y volumen óseo	29
Tabla 5	Constructo. Variables independientes	34
Tabla 6	Constructo. Marcadores séricos.	35
Tabla 7	Cronograma de Doctorado	50
RESULTADOS		
Tabla 7	Características demográficas de 35 pacientes con trasplante renal	43
Tabla 9	Resultados de imagen y bioquímicos. Valores expresados en media \pm Desviación estándar o mediana (percentil 25 y 75).	44

ABREVIATURAS

ERC	Enfermedad Renal Crónica
IDH	Índice de Desarrollo Humano
ppm	Por millón de población
QUS	Ultrasonido cuantitativo
DXA	Absorciometría dual por rayos X de baja intensidad
DMO	Densidad mineral ósea
PTH	Hormona Paratiroidea
LEC	Líquido extracelualr
URO	Unidades de remodelado óseo
RANKL	Ligando de receptor activador del factor nuclear kappa

RANK	Receptor activador del factor nuclear kappa B
OPG	Osteoprotegerina
TNF	Factor de necrosis tumoral
7-DHC	7-Dehidrocolesterol
preD3	Previtamina D3
25(OH)D3	25 hidroxivitamina D3
5-OHase	D25 hidroxilasa 2
1-OHase	1 alfa hidroxilasa
P	Fósforo
1,25 (OH)D	1,25 hidroxivitamina D
KDIGO	Kidney Disease Improving Global Outcomes
ODR	Osteodistrofia renal
ERC-EMO	Enfermedad Renal crónica-Enfermedad mineral ósea
FGF 23	Factor de crecimiento fibroblástico 23
TR	Trasplante renal
VFG	Velocidad de filtración glomerular
PTHi	Hormona paratiroidea intacta
SoS	Velocidad del sonido
FDA	Food and drug administration
ELISA	Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima
GMN	Glomerulonefritis
CAKUT	Malformaciones congénitas del riñón y tracto urinario del inglés: congenital abnormalities of kidney and urinary tract
UCLA	“University of California” Los Angeles

ANEXOS

No. De Anexo	Descripción	Página
ANEXO 1	Consentimiento bajo información para procedimientos (quirurgicos o estudios)	58
ANEXO 2	Autorizacion de Hospitalizacion.	60
ANEXO 3	Consentimiento de anestesia.	62
ANEXO 4	Historia clínica de cirugía menor.	63
ANEXO 5	Formato de recolección de biopsia.	65
ANEXO 6	Carta de renovación del consentimiento	66
ANEXO 7	Listado de productividad académica.	67

DESEMPEÑO DIAGNÓSTICO DE LA DENSITOMETRÍA DUAL DE RAYOS X (DXA) Y EL ULTRASONIDO CUANTITATIVO (QUS) VERSUS LA BIOPSIA ÓSEA METABÓLICA EN LA EVALUACIÓN DEL ESTADO ÓSEO EN PACIENTES PEDIÁTRICOS RECEPTORES DE TRASPLANTE RENAL.

Resumen

La enfermedad renal crónica impacta en el sistema mineral óseo, inclusive aun después de un trasplante renal exitoso. La evaluación y el diagnóstico definitivo de osteodistrofia renal (ODR) requiere de una biopsia ósea metabólica (estándar de oro), la cual permite establecer un diagnóstico específico, normar conductas terapéuticas y obtener información pronóstica del paciente. Sin embargo, implica procedimientos de anestesia general (en pediatría) y experiencia de cirujanos especialistas, lo que dificulta su aplicación en toda la población blanco.

Existen métodos no invasivos para la evaluación de la arquitectura ósea, destacan la Densitometría dual de rayos X (DXA) y el ultrasonido cuantitativo (QUS). Pese a que su empleo en la práctica clínica se encuentra en aumento, aún se desconoce el desempeño diagnóstico de ambos instrumentos en comparación con la biopsia ósea metabólica.

Objetivo:

Estimación de la precisión diagnóstica del estado óseo de los métodos no invasivos DXA y QUS versus la biopsia ósea metabólica, en pacientes pediátricos a tres meses de trasplante renal exitoso.

Métodos:

Diseño del estudio. Prueba diagnóstica.

Población de estudio: Pacientes pediátricos (5 a 17 años), sometidos a un primer trasplante renal exitoso (tres meses después), en el Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Plan de análisis estadístico: Se realizara estadística descriptiva, dependiendo del tipo de distribución de las variables cuantitativas se determinarán las medidas de tendencia central y de dispersión para variables con distribución normal y libre distribución. Análisis bivariado: Análisis de correlación de Pearson para todos los métodos no invasivos versus biopsia ósea metabólica. A las variables cuantitativas se les realizará curvas ROC para establecer los puntos de corte de mayor razón de verosimilitud y posteriormente calcular la sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos; así como las razones de verosimilitud, utilizando en IC 95%. Con el fin de evaluar la utilidad clínica se graficarán los nomogramas de Fagan. El análisis

multivariado se realizará con regresión logística para evaluar relación entre ODR (alto y bajo remodelado). Se considerará una $p < 0.05$ como estadísticamente significativa.

Palabras clave: *Prueba diagnóstica, DXA, QUS, Biopsia ósea metabólica, Alto/bajo remodelamiento, Pediatría, Trasplante renal.*

INTRODUCCIÓN

El trasplante renal es el tratamiento de elección para los pacientes con ERC. En la *figura 1* se muestra la correlación entre trasplante renal y el índice de desarrollo humano (IDH), se observa que existe una tasa reducida de trasplantes en países con IDH bajo o medio y una gran dispersión incluso entre las naciones ricas.

En México la tasa de trasplantes de los pacientes sin seguridad social es de 7 pmp (por millón de población), mientras que en los pacientes con cobertura de salud esta cifra es de 27 pmp.¹

Receptores no sensibilizados de un primer trasplante de riñón de donante fallecido o vivo tienen ahora una expectativa de supervivencia al año de 95% para el paciente y de hasta 90% para el injerto.

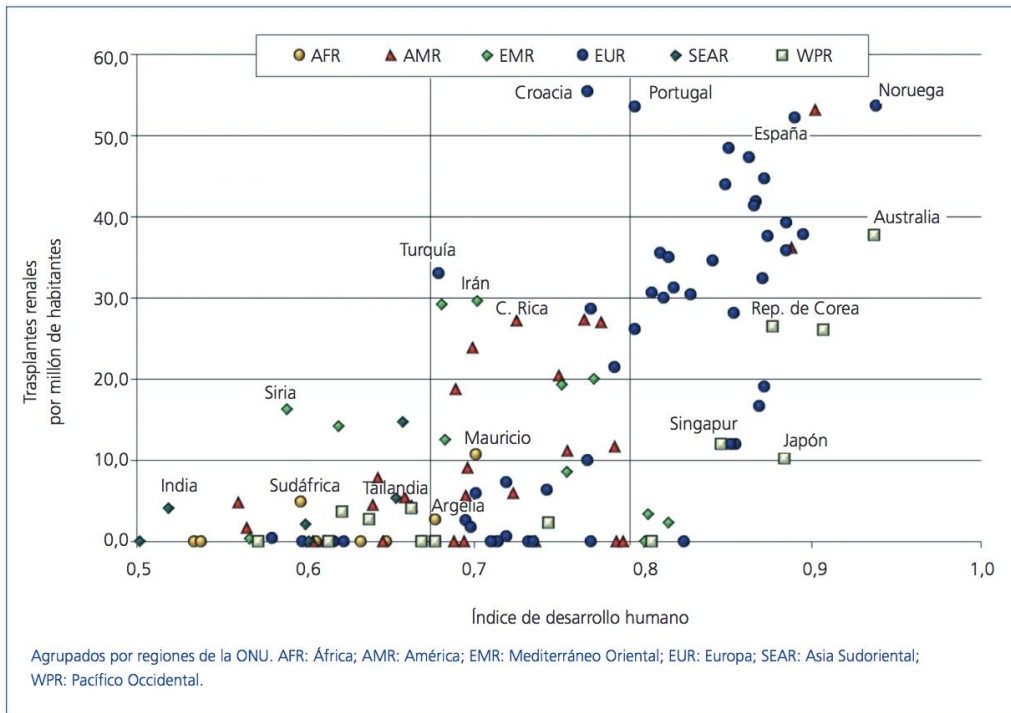


Figura 1. Número de trasplantes renales de donantes vivos y fallecidos en los Estados miembros de la OMS en 2010, correlacionados con el índice de desarrollo humano.

Figura 1. Correlación de trasplantes renales y el índice de desarrollo humano. Número de trasplantes renales de donadores vivos y fallecidos en los Estados miembros de la OMS en 2010, correlacionados con el índice de desarrollo humano.

En América Latina (figura 2), se muestra el total de trasplantes por país, siendo Brasil el primer lugar con 54,360 trasplantes, seguido de México con un total de 26,897.

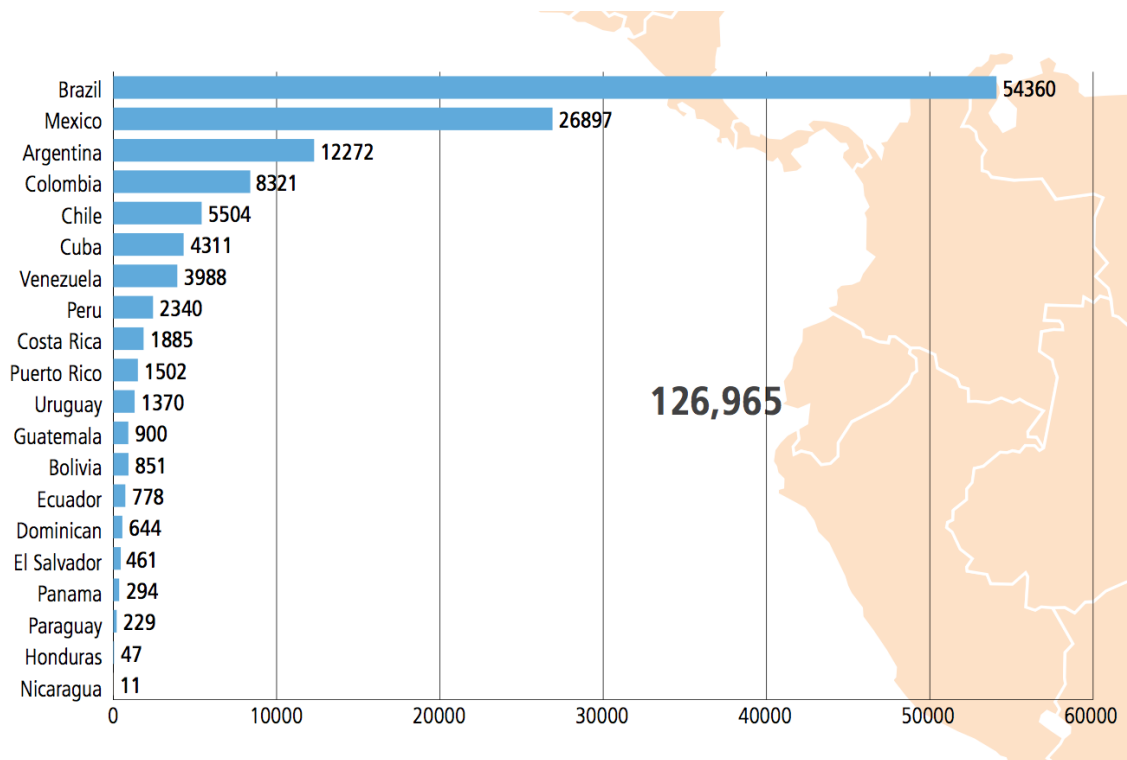


Figura 2. Número total de trasplantes por país en América Latina.

La tasa de donadores potenciales por país (se muestra gráficamente en la figura 3), Se puede notar que Uruguay alcanzó su pico máximo en 2006 con más de 50 donadores por millón de población y en México esta tasa para el 2007 ni siquiera alcanzó los 20 donadores por millón de población, lo que indica que debe haber más difusión y conciencia sobre este problema en nuestro país.

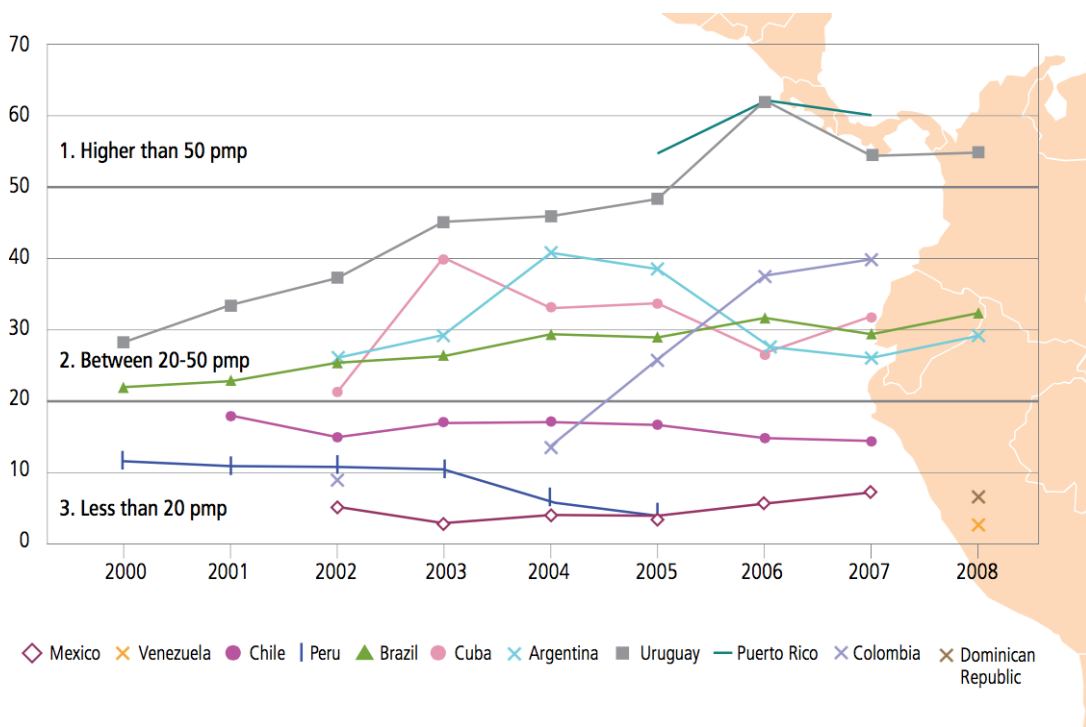


Figura 3. Gráfica de la tasa de donadores potenciales por millón de población

La evaluación de la salud ósea en los pacientes con trasplante renal es importante, dado que los principales mecanismos de regulación del metabolismo óseo se encuentran en un proceso de reestructuración, las comorbilidades asociadas le predisponen a riesgo de fractura, o deformaciones óseas, impactando en su calidad de vida.

El estándar de oro para evaluar la osteodistrofia renal es la biopsia ósea metabólica. Sin embargo, se trata de un procedimiento invasivo, que no realizamos de manera rutinaria en nuestro hospital, debido a que no se contaban con las instalaciones y tecnología necesaria; recientemente se incorporará este análisis previamente establecido como parte del seguimiento de sospecha patológica en estos pacientes. Sin embargo, el valorar el desempeño diagnóstico de otras técnicas de menor o nula invasión para el paciente, por ello, valorar si los marcadores bioquímicos, el QUS y la DXA nos permiten identificar a los pacientes que tienen defectos en la mineralización del hueso trabecular, lo que resulta de impacto para la detección oportuna de patologías en el metabolismo óseo.

MARCO TEÓRICO

Hacia la novena semana de gestación, se estima la aparición intraútero del patrón esquelético que inicialmente es de tejidos blandos que van osificándose y creciendo sobre todo respecto al tamaño y no a la forma. (Regulación hormonal del balance fosfocálcico.² El 10 % de la masa ósea se forma en el vientre materno, más del 85 % antes de los 18 años y 5 % después de la adolescencia.³



La pérdida de hueso relacionada con la edad, comienza en la cuarta o quinta década de la vida. Esto ocurre como resultado de la descomposición del hueso por osteoclastos y disminución de la formación de hueso por osteoblastos. En la *figura 4* se muestran los cambios de masa ósea relacionados con la edad, demostrando que la infancia es la única etapa de la vida en la que hay ganancia de DMO, llegando al pico en la tercera década de la vida e iniciando la pérdida alrededor de los 40 años. Por esta razón es importante intervenir en los primeros años de vida para que la formación de hueso sea adecuada.⁴

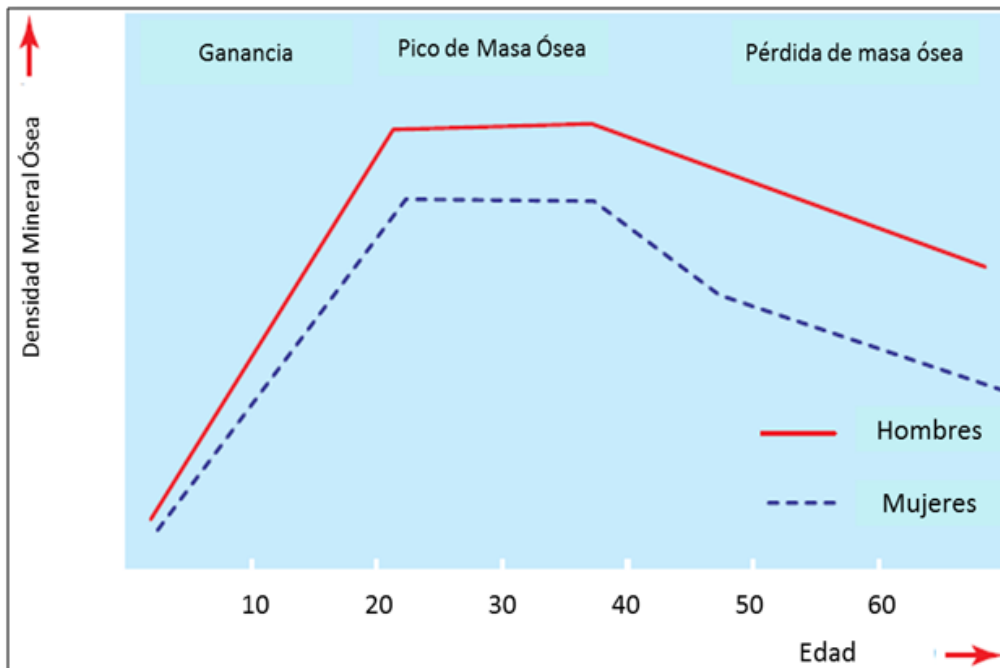


Figura 4. Curva que muestra los cambios de masa ósea relacionada con la edad.

En la *Figura 5* se muestra en un esquema el proceso de crecimiento óseo, el cual se produce en la infancia mediante un proceso de calcificación de las células cartilagosas presentes en los extremos del hueso. Según las concentraciones de calcio y fosfato en el líquido del espacio extraarticular, se deposita mineral en aquellos condrocitos o células cartilagosas para lograr la mineralización. La función principal del eje endocrino Vitamina D/PTH es mantener las concentraciones de calcio y fosfato en el LEC (Líquido Extracelular) en cifras apropiadas para permitir la mineralización.¹

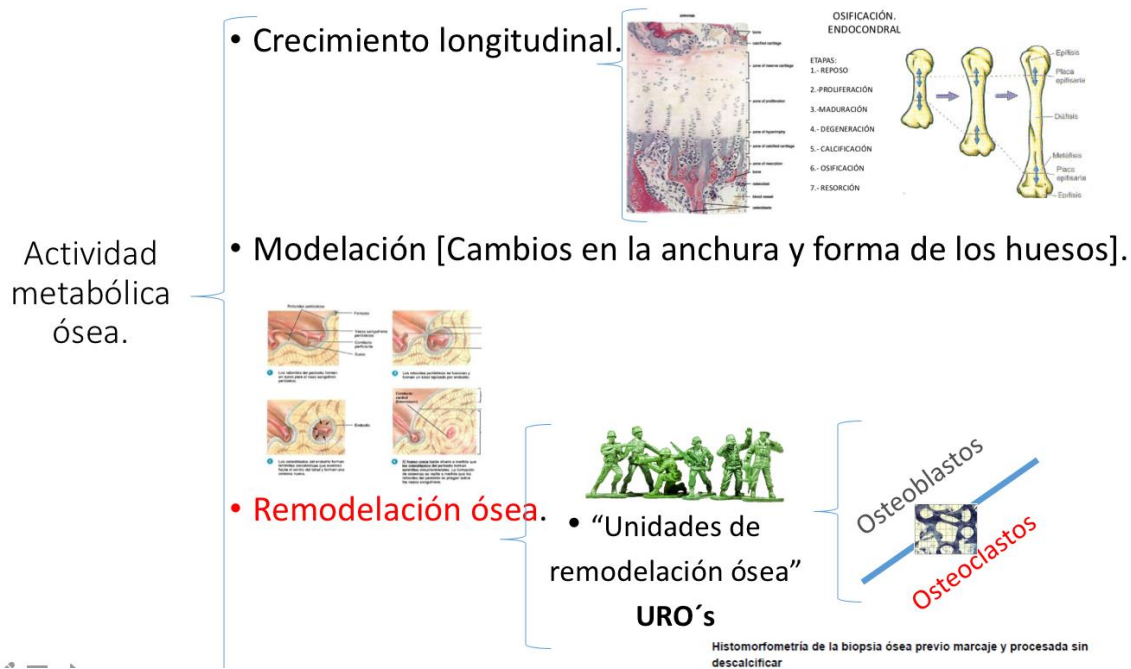


Figura 5. Diagrama que describe la actividad metabólica ósea desde crecimiento, modelación y remodelación

Una de las principales características del esqueleto de los mamíferos, es la capacidad que tiene para renovarse constantemente durante la vida. El remodelado óseo, es un proceso mediante el cual el hueso se renueva para mantener la fuerza ósea y la homeostasis mineral, este proceso se realiza a través de las unidades de remodelado óseo (URO) en las que se incluyen osteoblastos, osteoclastos, osteocitos y otras células accesorias.¹

En la *figura 6*. Se muestra el proceso de remodelado óseo, en el cual los osteoclastos reabsorben el hueso y enseguida los osteoblastos depositan hueso nuevo en la misma porción general (100 días).¹

Diversos factores intervienen en el remodelado óseo, RANKL (ligando del receptor activador del factor nuclear kappa-B), que pertenece a la superfamilia de los TNF es una proteína transmembrana regulada por RANK, el cual una vez unido a RANKL, estimulan la diferenciación y fusión de células precursoras de osteoclastos.¹

Otro receptor soluble expresado en los osteoblastos es la osteoprotegerina (OPG), miembro de la familia de los TNF. Su principal función es la inhibición de la maduración y de la activación de los osteoclastos interponiéndose entre RANK y RANKL (Regulación hormonal del balance fosfocálcico).¹

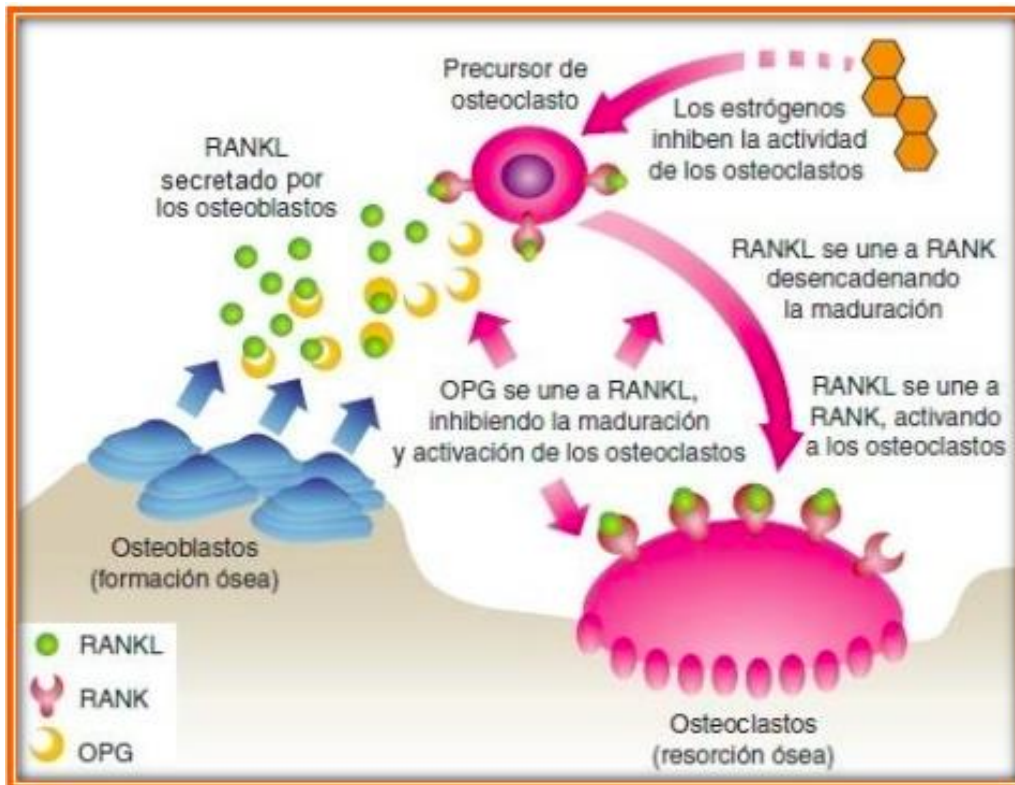


Figura 6. Proceso de remodelado óseo¹.

En la *figura 7* se muestra la síntesis cutánea de vitamina D. Durante la exposición a la luz solar, el 7-dehidrocolesterol (7-DHC) en la piel, absorbe la radiación UVB solar y se convierte en previtamina D·(preD3), una vez formada ésta, se induce térmicamente la formación de vitamina D3. La vitamina D adquirida de la dieta o de la piel, entra a la circulación sanguínea y es metabolizada a 25(OH)D3 en el hígado por la D25 hidroxilasa (25-OHase). Nuevamente, la 25(OH)D3 entra a la circulación y es convertida en 1,25(OH)2D3 en los riñones por la 25(OH)D3 1 α hidroxilasa (1-OHase). Una serie de factores como el fósforo (P) y la hormona paratiroidea (PTH), regulan la producción renal de 1,25(OH)2D. 1,25(OH)2D, regula el metabolismo del calcio a través de interacciones con órganos blanco como hueso e intestino. 25(OH)D es metabolizada por otros sistemas para la regulación del crecimiento celular.⁵

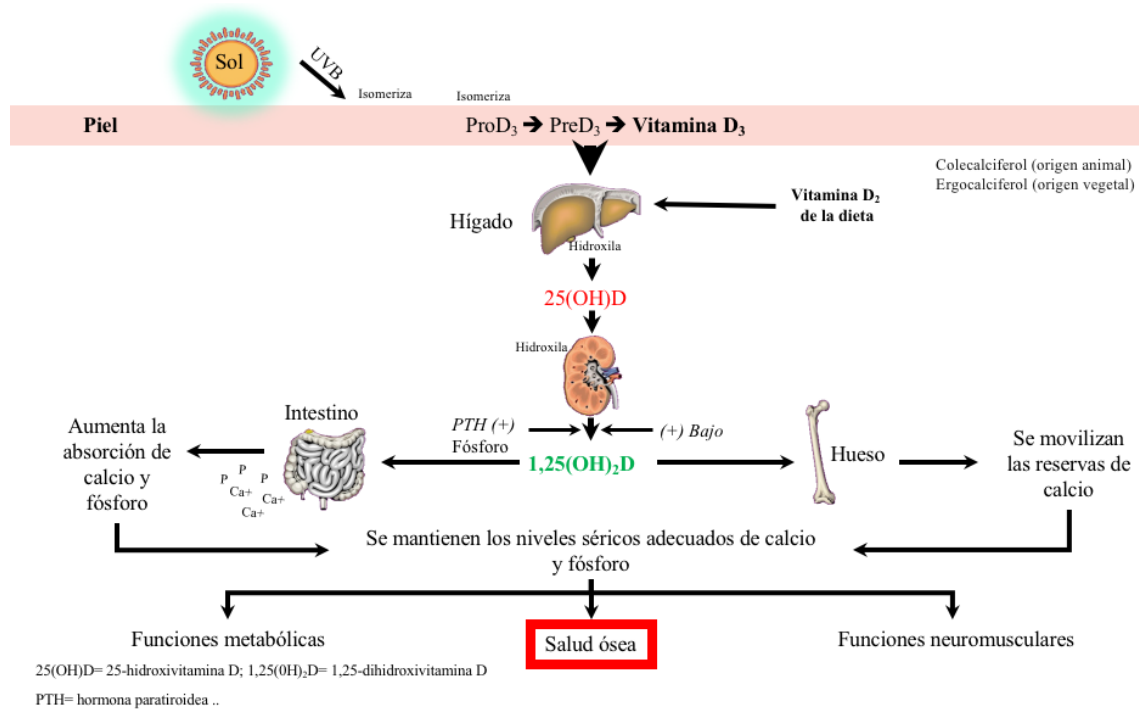


Figura 7. Diagrama que muestra la producción cutánea de vitamina D y su metabolismo. Adaptado de Holick MF Osteoporosis International 1998;8 (suppl 2):S24–S29.

Además de participar en el metabolismo de la vitamina D, los riñones cumplen funciones muy importantes, enunciadas a continuación. En la *figura 8* se muestran de forma esquemática.

- Retiran el exceso de agua y las toxinas que resultan del metabolismo del cuerpo, permitiendo la eliminación de este filtrado en forma de orina.
- Moderan el balance de ácidos, evitando su excesiva acumulación en el organismo.
 - Cumplen un rol importante en la regulación de la presión sanguínea y en la producción de hormonas como la eritropoyetina que controla la producción en la médula ósea de glóbulos rojos.⁶

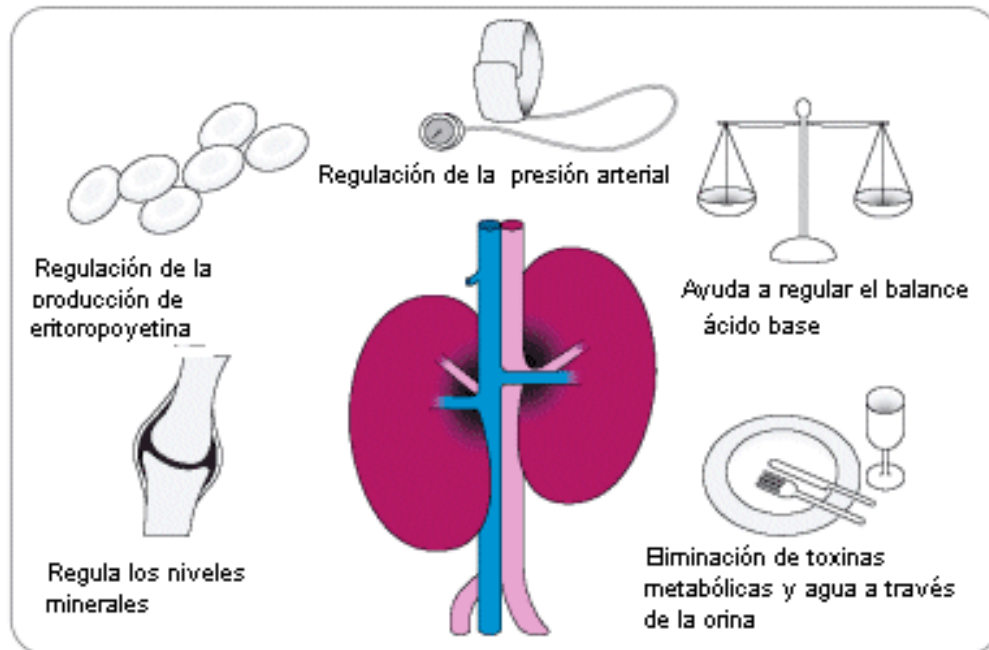


Figura 8. Esquema de las diversas funciones de los riñones.

La enfermedad renal crónica tiene efectos importantes sobre el metabolismo mineral. Recientemente la guía internacional KDIGO (clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney) recomienda el uso del término ERC-Trastorno mineral y óseo para describir el síndrome clínico amplio que comprende las alteraciones minerales, óseas y calcificaciones cardiovasculares que se desarrollan como complicación de la enfermedad renal crónica. También recomienda que el término “osteodistrofia renal” (ODR) se limite a la descripción de la patología ósea asociada con la enfermedad renal (Tabla 1)⁷. Esta afección ósea tiene un amplio espectro ya que se presenta desde etapas iniciales de la enfermedad renal hasta la insuficiencia renal crónica, por lo que la gravedad de la patología ósea tiende a asociarse con la gravedad y duración de la enfermedad renal.

Tabla 1. Clasificación KDIGO de la Enfermedad Renal Crónica-Enfermedad mineral ósea (ERC-EMO) y osteodistrofia renal

Definición de ERC-EMO

Un trastorno sistémico del metabolismo mineral y óseo debido a enfermedad renal que se manifiesta por uno o más de los siguientes:

- Alteraciones en el metabolismo de calcio, fósforo, PTH o metabolismo de Vitamina D
- Alteraciones en el recambio óseo, mineralización, volumen, crecimiento lineal o fuerza
- Calcificación vascular o de tejidos blandos

Definición de Osteodistrofia renal

- Es una alteración en la morfología del hueso en pacientes con enfermedad renal crónica
 - Es una medida del componente esquelético del trastorno sistémico IRC-EMO que es cuantificable por la histomorfometría de la biopsia ósea
-

A medida que disminuye la función renal se deteriora la homeostasis mineral, con cambios en los niveles sanguíneos de calcio y fósforo así como de hormonas tales como la paratohormona (PTH), la 25-hidroxivitamina D (25OHD, calcidiol); la 1,25-dihidroxivitamina D (1,25OH₂D₃, calcitriol) y otros metabolitos de la vitamina D; el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF-23) y la hormona de crecimiento.

Fisiopatológicamente se produce un hiperparatiroidismo secundario que está asociado con el incremento de la remodelación ósea. Los factores más importantes que conducen a la sobreactividad de las glándulas paratiroides son la retención de fosfatos, la disminución de los niveles de calcitriol y la hipocalcemia; las glándulas paratiroides además de incrementar la secreción de hormona paratiroidea, sufren hipertrofia. A estas anomalías se asocia un estado de resistencia del esqueleto a las acciones de la PTH.

El FGF-23 tiene un papel clave en la regulación de los fosfatos y en el metabolismo de la 1-25 dihidroxivitamina D. Es sintetizado en los osteocitos y osteoblastos; inhibe a la enzima 1- α -hidroxilasa comprometiendo aún más la síntesis de calcitriol, ya afectada por disminución de la masa renal funcional⁸.

La disminución en los niveles séricos de calcitriol disminuye la activación del receptor de la vitamina D, incrementando la síntesis y secreción de hormona paratiroidea.

Todo esto convierte a la ODR en un problema relevante que contribuye sustancialmente a la morbilidad a largo plazo, causando alteraciones óseas que van desde cuadros asintomáticos, dolores óseos, deformidades y falta de crecimiento, hasta fracturas⁹; recientemente se ha relacionado el riesgo cardiovascular con la enfermedad mineral ósea, específicamente con el desarrollo de hiperfosfatemia y calcificaciones intravasculares¹⁰.

El trasplante renal es el tratamiento de elección para los pacientes con ERC, ya que con la adecuada función del injerto, se revierten muchas anomalías metabólicas; sin embargo, es parcialmente eficaz para la ODR^{11, 12}. Además, los pacientes reciben un esquema inmunosupresor por periodos prolongados, que, en grados diversos, tiene un efecto deletéreo en el metabolismo mineral, por lo que la ODR continúa aún después del trasplante.

Estudios en adultos han mostrado que los pacientes con trasplante renal (TR) tienen niveles de PTH, calcio y osteocalcina mayores que los sujetos controles así como hipofosfatemia que es consistente con la persistencia de hiperparatiroidismo secundario. Esto se presenta aún en aquellos pacientes con velocidad de filtración glomerular (VFG) normal lo cual indica que otros factores además de la función renal participan en la persistencia del hiperparatiroidismo, y podrían ser el tiempo y gravedad de la uremia, el tamaño de las paratiroides antes del trasplante, una pobre involución de las paratiroides hipertróficas debido a una alteración en la depuración del exceso de células por apoptosis, el tipo de crecimiento paratiroideo, ya que el tipo nodular se asocia con una distribución menos uniforme en los receptores de calcitriol que el tipo hiperplasia difusa, ocasionando una menor inhibición con calcitriol¹³. Algunos pacientes tienen un crecimiento monoclonal del tejido paratiroideo y puede ser que no se dé la involución de las glándulas después de que se corrigieron los factores que condicionaron el hiperparatiroidismo secundario¹⁴.

Los medicamentos inmunosupresores empleados para prevenir el rechazo pueden tener efecto sobre el hueso. En el caso particular de los glucocorticoides, se sabe que condicionan pérdida de hueso, principalmente de tipo trabecular y aún dosis modestas consideradas en el rango fisiológico, incrementan el riesgo de fracturas osteoporóticas¹⁵. Dentro de los efectos directos sobre hueso de los glucocorticoides están: incremento en la osteoclastogénesis, cambios en la duración del osteoclasto, diferenciación celular de monocito-macrófago a osteoclasto, acortamiento de la vida de osteoblastos maduros y osteocitos, disminución en la función osteoblástica y la transcripción del factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF 1 ó somatomedina C). También tienen efectos indirectos que afectan el metabolismo mineral, como son: resistencia al calcitriol, disminución en la absorción intestinal de calcio, hipercalciuria e hipogonadismo.

El efecto de inhibidores de calcineurina (ciclosporina y tacrolimus) ha sido ampliamente estudiado en modelos animales, en donde se observa pérdida significativa de la masa trabecular y cortical ósea después de semanas de tratamiento, este efecto es reversible y

dependiente de la dosis. En la histomorfometría se encuentra alto remodelamiento¹⁶. Tanto tacrolimus como ciclosporina inducen pérdida renal de calcio y magnesio e inhiben la activación del receptor de vitamina D¹⁷.

La hipomagnesemia se ha relacionado al uso de inhibidores de calcineurina¹⁸, tanto ciclosporina como tacrolimus aumentan la excreción urinaria de magnesio al parecer por un efecto inhibitorio sobre el receptor de vitamina D y de manera independiente de los niveles de PTH¹⁹, este efecto es más pronunciado con ciclosporina²⁰, la presencia de hipomagnesemia se ha asociado al desarrollo de diabetes mellitus post-trasplante²¹.

Por todo lo anterior, es importante la evaluación de la salud ósea a fin de contar con un diagnóstico oportuno y otorgar tratamiento adecuado a estos niños; evitando secuelas y mejorando su calidad de vida.

La clasificación de ODR que tiene una mayor utilidad clínica y facilita la interpretación de los resultados de laboratorio es la que se basa en el grado de actividad del hueso, separando las formas de alto y bajo recambio óseo, para la cual se requiere la biopsia ósea metabólica²².

Estrategias de diagnóstico.

Clínico:

La primera aproximación diagnóstica se debe hacer con la historia clínica. La presencia de signos y/o síntomas de osteodistrofia renal tales como dolor, mialgias, calcificaciones extraóseas ó fracturas, sin olvidar que la mayoría de los pacientes pueden cursar asintomáticos y sólo presentar alteraciones en el crecimiento ó deformidades; los datos clínicos son inespecíficos y contribuyen muy poco en diferenciar las formas de osteodistrofia renal de alto y de bajo remodelado²³.

Marcadores Bioquímicos:

La segunda aproximación diagnóstica se hace con las pruebas complementarias. De los marcadores bioquímicos disponibles, la parathormona sérica intacta (PTH_i) es la que mayor información objetiva aporta sobre las alteraciones óseas metabólicas. Valores de PTH_i por debajo de 150 pg/mL tienen un elevado valor predictivo para enfermedad ósea de bajo remodelamiento, y valores por encima de 300 pg/mL para enfermedad ósea de alto remodelamiento, también se puede emplear el calcio y fósforo sérico, la vitamina D y el FGF23²⁴.

En un estudio previo realizado en nuestro hospital en donde se evaluó el metabolismo óseo mediante marcadores bioquímicos a 31 niños pre y post-trasplante renal, encontramos que 51.6% tuvieron niveles de hormona paratiroidea baja (<150 pg/ml) al momento del trasplante, sugiriendo lesiones de bajo remodelamiento, 38.7% tuvieron niveles >300 pg/mL sugestivo de alto remodelamiento y tan solo 9.6% tuvieron PTH en los valores recomendados.



Al comparar los valores pre y post-trasplante, la creatinina sérica disminuyó en forma significativa, no hubo diferencia en el calcio sérico y fosfatasa alcalina, pero se encontró una disminución significativa en fósforo y magnesio. Doce pacientes (38.7%) presentaron hipofosfatemia post-trasplante y requirieron tratamiento. Diez pacientes (32%) cursaron con hipomagnesemia, siete de ellos tuvieron hipofosfatemia simultánea. Todos incrementaron el valor z de peso en forma significativa. Los pacientes que cursaron con determinación de fosfatos post-trasplante normal mejoraron el valor Z de talla, no así los pacientes con hipofosfatemia. La función renal tuvo correlación positiva con el calcio sanguíneo y negativa con los fosfatos y el magnesio ($p < 0.05$). Los niveles de tacrolimus tuvieron una correlación negativa con el magnesio sérico ($r = -0.431$, $p < 0.0001$)²⁵.

Gabinete:

a) El Ultrasonido cuantitativo (QUS) ha probado ser útil para predecir fracturas, especialmente de la cadera, donde el acceso a densitometría ósea (DXA) tiene limitaciones. No tiene efectos colaterales. Es una alternativa no invasiva, libre de radiación, con menor costo que la DXA. Mide densidad y micro-arquitectura del hueso. Muestra módulos de elasticidad correlacionados con la resistencia a la fractura del hueso derivada de la carga estática²⁶.

El uso de QUS para medición ósea fue reportado por Christian Langton desde 1984. Inicialmente eligió el calcáneo por su accesibilidad, con aspecto medial y lateral relativamente plano y paralelo. Contiene aprox. 90% de hueso trabecular, una alta tasa de rotación metabólica y un patrón de pérdida ósea similar a la columna vertebral. También se ha utilizado rótula, tibia, falanges, radio y metatarso. La velocidad del sonido (SoS) es mayor en hueso cortical que trabecular, de esto depende la precisión de mediciones en diferentes sitios anatómicos. El SoS indica la velocidad con que el sonido puede atravesar el hueso, medido en número de metros por segundo y su resultado depende más de la elasticidad y densidad ósea que de la orientación trabecular²⁷.



Figura 9: El Ultrasonido cuantitativo (QUS), evalúa la velocidad del sonido (*Speed of sound* “SoS”) en áreas periféricas del cuerpo, principalmente en: tibia, falanges, radio y metatarso.

Varios estudios han sugerido que el QUS tiene buena correlación con DXA para identificar pacientes con osteoporosis^{28, 29}.

En los Estados Unidos la “*Food and Drug Administration*” (FDA) ha aprobado desde marzo de 1999 la utilización del QUS para la evaluación de la osteoporosis.

b) La absorciometría dual por rayos x de baja densidad (DXA por sus siglas en inglés) o densitometría ósea, que nos aporta datos referentes a la masa ósea; es el método más frecuente de valoración del estado óseo en niños y adultos, ya que nos ayuda a monitorear y facilita la valoración del riesgo de fractura; sin embargo, tiene una capacidad limitada para distinguir los efectos de la enfermedad renal en el hueso cortical y trabecular. Con DXA se mide densidad mineral ósea.

Una densitometría ósea completa consiste en escanear la columna y la cadera; alternatively, si alguna de las dos áreas anatómicas mencionadas no puede ser valorada, se recomienda escanear el antebrazo. Los valores de densidad mineral ósea se expresan en g/cm², de los cuales se obtienen dos coeficientes de utilidad para el diagnóstico: El T-score y el Z-score. El primero de éstos, compara los resultados obtenidos en el paciente, con la masa ósea ideal de adulto en relación a su edad y sexo; mientras que el Z-score compara los valores obtenidos en el paciente contra sus pares de la misma edad y sexo, de una población de referencia. Debido a que manejaremos una población infantil utilizaremos el Z-score.

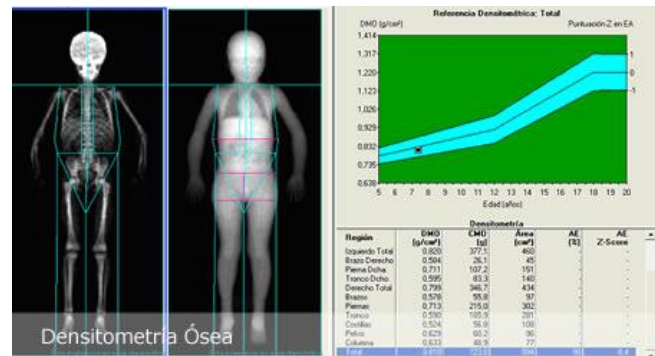
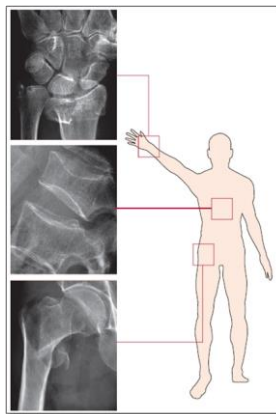
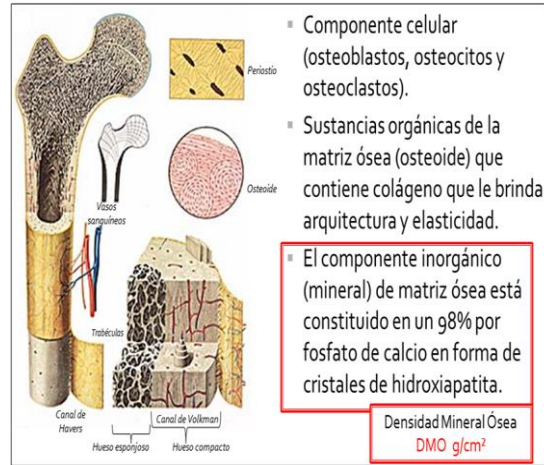


Figura 10. Principales áreas de medición: muñeca, columna y trocánter y cuerpo total; por Densitometría dual en Rayos X (DXA)

Evaluación de ODR

En la tabla 2 El reporte de la correlación más alta y estadísticamente significativa entre QUS tibia y DXA total, fue evaluada en niños y adolescentes (7-23 años), siendo en varones $r=0.81$, en mujeres $r=0.77$; respecto a DXA lumbar en varones $r=0.79$ y en mujeres $r=0.72$ (Tabla 6)³⁰. En general, estos resultados varían según la etnia estado de salud^{31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39,}

Tabla2. Correlación mas alta reportada entre DXA cadera y QUS tibia y radio³⁴. Revisión sistemática de la literatura que muestra la evidencia de correlación entre DXA (cadera) Lunar® y QUS (tibia y radio) Sunlight Omnisense® (revisión exclusiva del presente trabajo).

Reporta	Finalidad Área de medición	Nivel de correlación (Significancia estadística)	
		DXA	QUS tibia
Van Rijn RR. 2000.	Predictor de fracturas de cadera. Femúr/1/3del Radio distal	R=0.83 P<0.001	R=0.73 P=0.008

Tabla3. Revisión sistemática de la literatura que muestra la evidencia de correlación entre DXA (cadera) Lunar® y QUS (tibia y radio) Sunlight Omnisense® (revisión exclusiva del presente trabajo).

AUTOR	POBLACIÓN		CONCLUYEN
Tuna H., et all. 2008³⁵.	Mujeres postmenopáusicas con medición de DXA (columna y fémur proximal) QUS (punto medio derecho de tibia)	TURKIA 2008	SOS tibia se correlaciona débilmente con los valores de DMO de fémur y columna lumbar medida por DXA. R=-0.66, ajustado por presencia de menopausia r=-0.57
Tao B., et all. 2008⁴¹.	76 Mujeres postmenopáusicas con Diabetes Mellitus II y 86 sin DMII	SHANGHAI CHINA 2008	QUS radio puede proporcionar información útil solo para pacientes con DM2. (R=0.26 - 0.75 p<0.05)
Boyanov M., et all. 2007³⁶.	Mujeres sanas.	ALEMANIA 2007	Bueno, pero en QUS calcáneo (transversal y axial) adecuados para identificar a mujeres con osteoporosis en la columna.
Di Vasta AD., et all. 2007⁴⁰.	Adolescentes con anorexia nerviosa (AN) vs control (sin AN)	USA 2007	No hay correlación entre SOS tibia y AN vs control, pero si para SOS radio con AN vs control [63.9 (29.9) p=0.03] al controlar IMC, edad y raza.

			Mediciones de QUS no parece ser apropiado para evaluar la densidad ósea en pacientes con AN.
--	--	--	---

Cook RB., et all. 2005³⁷.	Población sana.	UK 2005	Evaluación del QUS calcáneo en población general sana fue la mejor técnica para la predicción de la baja densidad ósea en el esqueleto axial diagnosticada por DXA.
Hartman C., et all. 2004⁴².	Niños con enfermedad celiaca	ISRAEL 2004	QUS diagnóstica estado óseo de niños con variación dietética.
Goemaere S., et all. 2002³⁹.	Hombres de edad avanzada	BELGICA 2002	Útil en el tamizaje de varones de edad avanzada (QUS tibia y DXA cadera Kappa ponderada r=0.30-0.45)
Levine A., et all. 2002⁴³.	Niños con enfermedad de Crohn	ISRAEL 2002	Deficiente diagnosticando osteopenia en niños (QUS radio y DXA columna ajustando por altura r=-0.15 +/- DS -1.49)
Arici M., et all. 2000³⁸.	Mujeres postmenopáusicas	SUIZA 2000	RA, QUS CALC, SOS PHAL y SOS.TIB (correlación de 39%) puede ser útil para preseleccionar las mujeres posmenopáusicas en quienes DXA axial está indicada para confirmar y/o excluir osteoporosis en columna o cadera.

Van Rijn RR., et al. 2000³⁴.	Pediátrica y adolescentes	HOLANDA 2000	Fuerte correlación estadísticamente significativa entre DXA y QUS tibial (Omnisense) mediciones (DXA total $r=0.81$, DXA cadera $r=0.77$, DXA columna $r=0.72$) en niños y adolescentes.
--	---------------------------	---------------------	--

Histomorfométricos

La biopsia ósea es el estándar de oro para hacer el diagnóstico de osteodistrofia renal^{40, 41}. El análisis histomorfométrico de la biopsia ósea tomada previo doble marcaje con tetraciclina y procesada sin descalcificar es el patrón de referencia para el estudio de las enfermedades metabólicas óseas⁴².

La biopsia ósea utiliza un sistema de clasificación que se basa en parámetros de alteración o tipos de actividad: modelación y remodelación óseos⁴³. En ambos procesos se involucran los mismos tipos de células efectoras, los osteoclastos y osteoblastos, pero cambia su localización.

El remodelado óseo es la función metabólica del hueso mediante la cual se renueva el tejido óseo; mientras que el modelamiento puede ocasionar rápidos cambios en forma, tamaño y masa. El remodelado óseo es un proceso que se lleva a efecto en el hueso trabecular y cortical, por las unidades de remodelado óseo (URO) formadas por grupos multicelulares que reabsorben el tejido óseo y lo reemplazan por nuevo.

De este modo, partiendo de una superficie ósea en reposo, y a partir de una señal bioquímica o mecánica, los osteoclastos digieren la fina capa proteica no mineralizada iniciándose la fase denominada de activación en la que los osteoclastos comienzan a digerir o reabsorber el hueso mineralizado (fase de resorción). Posteriormente existe una fase de acoplamiento, en la que los osteoclastos dejan de reabsorber hueso y aparecen osteoblastos activos que son los responsables de la síntesis de la nueva matriz ósea. Posteriormente, esta matriz ósea formada se mineraliza, completándose el ciclo y dando como resultado global la renovación del área del hueso en la que se había producido la resorción⁴⁴.

En las enfermedades óseas de alto remodelado, como su nombre indica, existe una mayor actividad tanto en el número de unidades que trabajan como también en la actividad de cada una de las unidades. En líneas generales, el resultado es que se forma un hueso que no tiene las características estructurales de hueso normal y, por lo tanto tiene una menor elasticidad y una mayor fragilidad. Por el contrario, en la enfermedad ósea de bajo remodelado estas diferencias cuantitativas y cualitativas antes comentadas, se producen en el sentido opuesto y por lo tanto se recluta un número inferior a lo normal de unidades de remodelado óseo, las que a su vez tienen una menor actividad celular dando como resultado final una escasa producción de matriz ósea y, en algunos casos, una muy defectuosa mineralización^{45, 46}.

Los defectos de remodelamiento que se encuentran en los pacientes pediátricos con insuficiencia renal crónica y, aún después del trasplante renal, incluyen defectos de mineralización, alto remodelamiento por hiperparatiroidismo secundario o hueso adinámico.

Ahora bien, la causa más frecuente de lesión por bajo remodelado ha sido a lo largo de las dos últimas décadas la intoxicación por aluminio, esta última ha disminuido en frecuencia. Sin

embargo, en la actualidad, estamos asistiendo a un incremento en el número de casos de enfermedad ósea de bajo remodelado no inducida por aluminio. Los factores de riesgo para su desarrollo son: diabetes mellitus, hipoparatiroidismo inducido por fármacos (exceso de carbonato de cálcico y/o vitamina D, conjuntamente con alta concentración de calcio en el baño de diálisis), edad avanzada⁴⁷. Numerosos estudios implican además a la diálisis peritoneal crónica como otro factor predisponente.

El aluminio tiene un efecto tóxico sobre el metabolismo óseo y sobre el remodelado a través de dos mecanismos, uno de ellos indirecto, gracias a su capacidad de inhibir la función paratiroidea y consecuentemente la actividad del hueso y el otro a través de una acción inhibitoria directa del aluminio sobre los osteoblastos y sobre la mineralización^{48, 49}.

En la nueva clasificación de las biopsias óseas se recomienda incluir 1) remodelación que a su vez puede ser normal, alto o bajo, 2) la mineralización que puede ser normal o anormal y 3) el volumen que puede ser alto o bajo⁵⁰.

La biopsia ósea metabólica es el estándar de oro para evaluar salud ósea, es un procedimiento invasivo que requiere aplicación de anestesia local, se realiza en forma ambulatoria y, aunque puede haber la formación de hematoma subperióstico y dolor local, se considera inocuo en cuanto a complicaciones^{51, 52}.

En el mundo se han realizado más de 10,000 estudios de este tipo y nosotros llevamos en nuestro hospital 140 biopsias, sin que a la fecha se haya reportado alguna complicación.

En un estudio previo realizado por nuestro grupo, realizamos 21 biopsias al momento del trasplante, encontramos que todos los pacientes urémicos presentan alteración en la biopsia ósea como se muestra en la siguiente tabla (Tabla 2), según la clasificación de remodelación, mineralización y volumen⁵³:

Tabla 4. Clasificación de remodelación, mineralización y volumen óseo⁵⁴.

		N (%)
Remodelación		
	Baja	14 (66.6%)
	Normal	6 (28.6%)
	Alto	1 (4.7%)
Mineralización		
	Normal	7 (33.3%)
	Anormal	14 (66.6%)
Volumen		
	Bajo	5 (23.8%)
	Normal	2 (9.5%)
	Alto	14 (66.6%)

Todos estos estudios no se realizan de rutina en nuestros pacientes trasplantados, por lo que consideramos necesario evaluar los datos que aportan cada uno de ellos a fin de que se agreguen al protocolo de seguimiento, tomando en cuenta los recursos con los que contamos y los efectos colaterales de cada estudio.

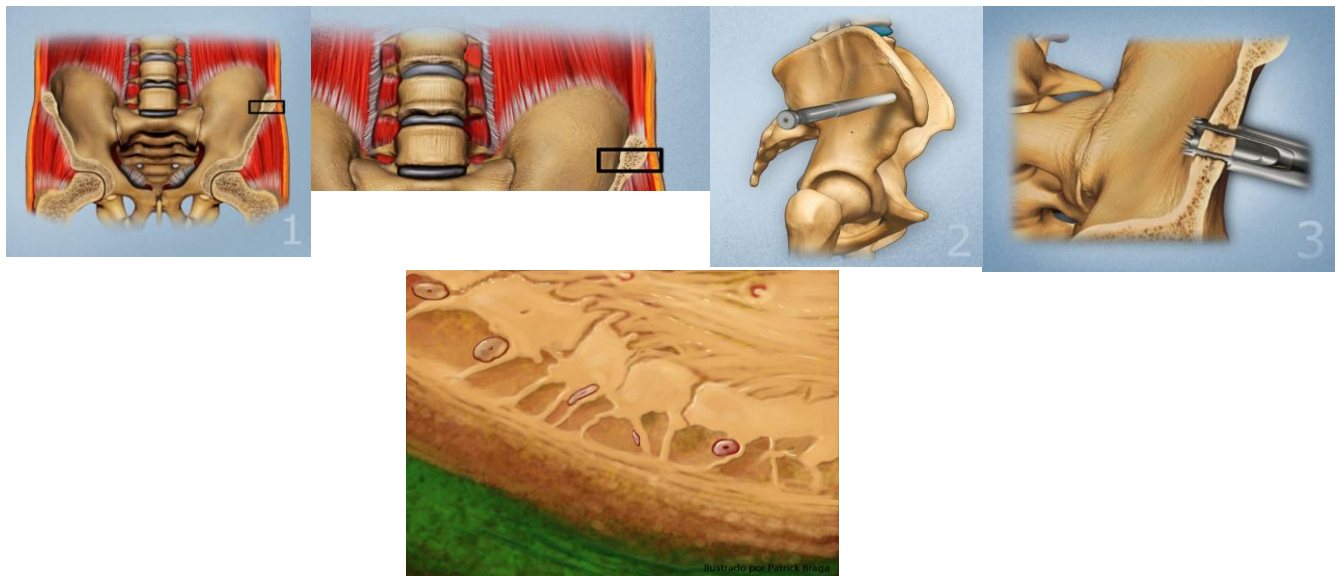


Figura 11. Área de toma de biopsia. Cresta ilíaca anterosuperior.

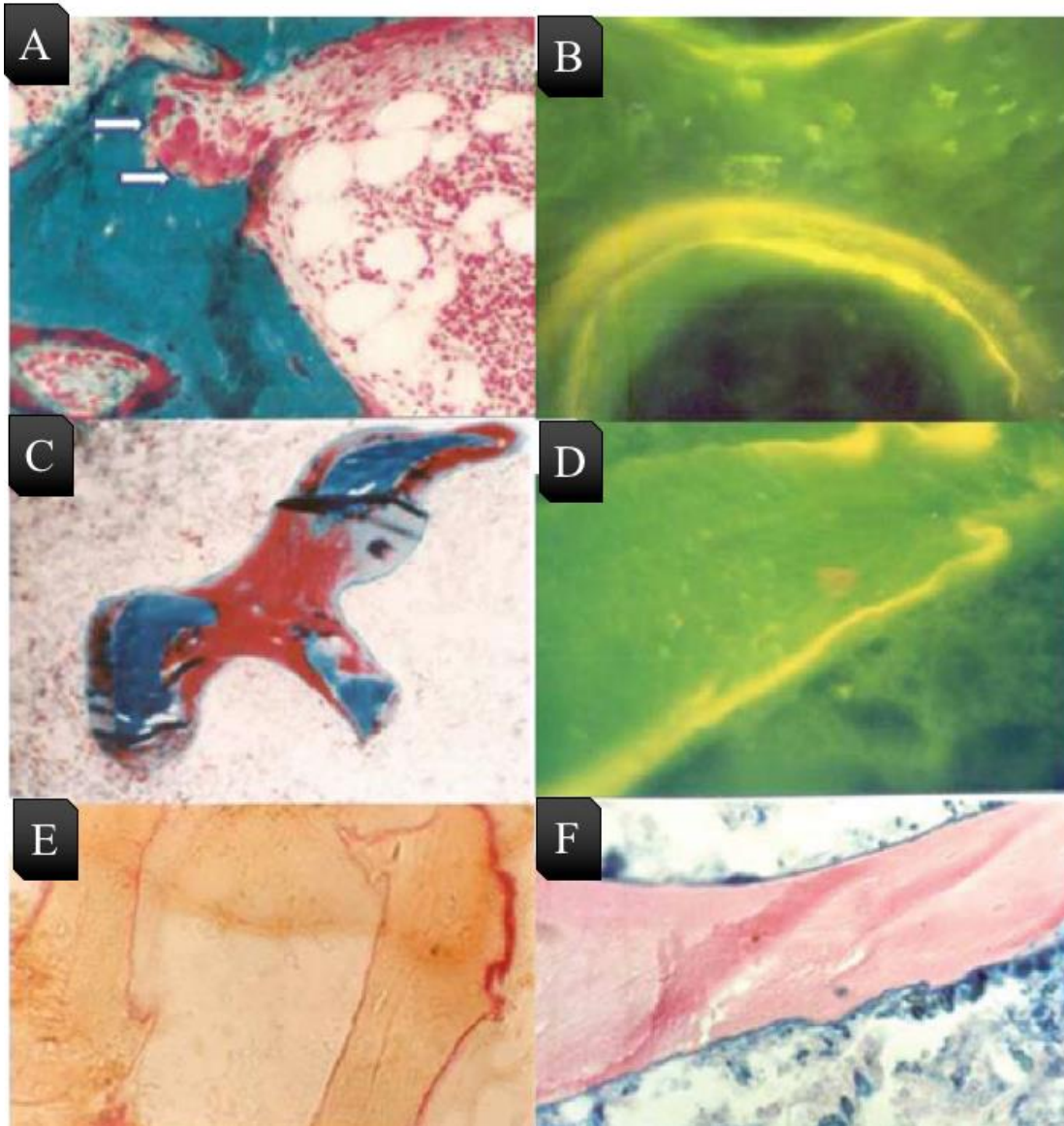


Figura 12. Histomorfometría de la biopsia ósea, previo doble marcaje con tetraciclina, procesada sin descalcificar. El panel A exhibe una trabécula ósea con una imagen de alto remodelamiento óseo; en la periferia de la trabécula hay una superficie erosionada por la resorción de osteoclastos y tunelización (flecha), donde los osteoblastos empiezan a sintetizar osteoide (rojo); en la médula ósea hay fibrosis peritrabecular (tricrómico de Goldner x 220). En B, bajo luz fluorescente se encuentran líneas dobles y simples en el frente de mineralización que corresponden a las marcas de tetraciclina en un caso de mineralización acelerada (x 230). En C Una trabécula ósea con abundante osteoide (rojo) por un defecto en la mineralización; nótese la ausencia de células óseas y de fibrosis peritrabecular (tricrómico de Goldner x 220). El panel D presenta, bajo la luz fluorescente, líneas simples escasas e interrumpidas en el frente de mineralización ósea en la periferia de una trabécula que corresponde a escasa mineralización por bajo remodelamiento (x 230). En el panel E se observan dos trabéculas óseas con depósitos de aluminio (líneas rojas) en el frente de mineralización ósea (ácido urinotricarboxílico x 220). En el panel F se muestran una trabécula ósea con depósitos de hierro sobre el frente de mineralización ósea y algunos siderófagos en la médula ósea (tricrómico de Mallory x 240).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

En nuestro hospital, lamentablemente, el protocolo de seguimiento de pacientes con trasplante renal, no siempre incluye evaluación de la salud ósea, lo que conlleva a un subdiagnóstico de estas alteraciones. Se tiene acceso en este hospital a realizar marcadores bioquímicos, ultrasonido cuantitativo, densitometría y recientemente, el estándar de oro en metabolismo óseo: la biopsia ósea metabólica, un método invasivo y de riesgo mayor al mínimo. Por lo que deseamos evaluar el desempeño de cada uno de los métodos de diagnóstico no invasivos y comparar la información que aportan, en cuanto a la mineralización, respecto a la biopsia ósea metabólica; con el fin de evaluar la salud ósea de nuestros pacientes. A partir de estos datos se pueden tomar decisiones sobre el dar seguimiento y/o administrar tratamiento necesario según el caso.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.

¿Cuál es la precisión diagnóstica de dos métodos no invasivos: Densitometría dual de rayos X (DXA) y Ultrasonido cuantitativo (QUS); versus la biopsia ósea metabólica, para evaluar el estado óseo de pacientes pediátricos a tres meses de trasplante renal exitoso?

JUSTIFICACIÓN

La evaluación de la salud ósea en los pacientes con trasplante renal es importante, dado que los principales mecanismos de regulación del metabolismo óseo se encuentran en un proceso de reestructuración, las comorbilidades asociadas le predisponen a riesgo de fractura, o deformaciones óseas, impactando en su calidad de vida.

El estándar de oro para evaluar la osteodistrofia renal es la biopsia ósea metabólica. Sin embargo, se trata de un procedimiento invasivo, que no realizamos de manera rutinaria en nuestro hospital, debido a que no se contaban con las instalaciones y tecnología necesaria; recientemente se incorporará este análisis previamente establecido como parte del seguimiento de sospecha patológica en estos pacientes. Sin embargo, el valorar el desempeño diagnóstico de otras técnicas de menor o nula invasión para el paciente, por ello, valorar si los marcadores bioquímicos, el QUS y la DXA, métodos no invasivos, nos permiten identificar a los pacientes que tienen defectos en la mineralización del hueso trabecular, lo que resulta de impacto para la detección oportuna de patologías en el metabolismo óseo.

OBJETIVOS Y METAS.

Objetivos primario: Estimación de la precisión diagnóstica de los métodos no invasivos DXA y QUS versus la biopsia ósea metabólica, para evaluar el estado óseo de pacientes pediátricos a tres meses de trasplante renal exitoso.

Objetivos secundarios.

- 1) Evaluar el desempeño de los métodos diagnósticos no invasivos: marcadores bioquímicos, ultrasonido cuantitativo (QUS) y densitometría ósea (DXA), para identificar alteraciones en la mineralización ósea del hueso trabecular de los niños trasplantados de riñón.
- 2) Determinar mediante la biopsia ósea metabólica el estado de salud óseo en este grupo de pacientes.
- 3) Evaluar el desempeño diagnóstico de los métodos no invasivos versus biopsia ósea metabólica (estándar de oro) para identificar a los pacientes con Osteodistrofia.
- 4) Evaluar el efecto de la función del injerto sobre las alteraciones en el remodelado óseo.

HIPÓTESIS O EXPECTATIVAS EMPÍRICAS.

Demostrar que la evaluación de los marcadores bioquímicos, el ultrasonido cuantitativo y la densitometría aportan información similar a la biopsia ósea metabólica, en relación a la mineralización del hueso trabecular en pacientes con trasplante renal.

METODOLOGÍA.

Diseño del estudio. Prueba diagnóstica

Cálculo de tamaño de muestra.

Cálculo para una proporción basados en resultados previos a esta población, alteraciones en la mineralización, 14 pacientes de 21 biopsias realizadas (66%)⁵⁵.

$$d = Z_{\alpha} \frac{\sqrt{p_o \times q_o}}{n} \quad n = \frac{Z_{\alpha}^2 \times p_o \times q_o}{d^2}$$

p_o = prevalencia = 66%

q_o = 1 - p_o = 0.34

d = precisión = ½ de la amplitud de IC (95%) = 0.16 d^2 = 0.0256

α = 0.05, Z_{α} = 1.96, Z_{α}^2 = 3.8416

$N = (3.8416 \times 0.66 \times 0.34) / 0.0256$ (Quienes salieron positivos)

$N = (3.8416 \times 0.34 \times 0.34) / 0.0256$ (Quienes salieron negativos)

$N = 33.6 \dots \dots 34$

$N = 17.3 \dots \dots 17$

Al sumar positivos y negativos, se estima que son requeridas un total de **51 evaluaciones de pacientes en total.**

Selección de la población.

Pacientes pediátricos sometidos a un primer trasplante renal, en el Hospital Infantil de México Federico Gómez; en un periodo de 12 meses; de donador vivo relacionado o donador con muerte cerebral.

Inclusión:

- Pacientes menores de 17 años de edad que reciban un primer trasplante renal de donador vivo relacionado o donador fallecido, en Hospital Infantil de México Federico Gómez.
- Pacientes trasplantados renales con sobrevida del injerto y del paciente al menos de 3 meses.
- Firma de documento de consentimiento informado y asentimiento bajo información (Anexos I-IV).

Exclusión:

- Pacientes sometidos a un segundo trasplante renal.

Selección y operalización de las variables.

Tabla 5. Constructo. Variables independientes

Variable	Tipo de variable	Escala de medición
Valores crudos de DMO obtenidos por DXA (Lunar DPX NT)	Cuantitativa continua	Gramos de hidroxiapatita gr/cm ²
Valores crudos de SOS obtenidos mediante el QUS (Sunlight Omnisense 7000p BeamMed Ltd.)	Cuantitativa continua	Velocidad de sonido medido en metros/segundo.
Histomorfometría ósea	Dicotómica	Alto/Bajo remodelamiento óseo.
Edad	Cuantitativa continua	Años cumplidos
Sexo	Cualitativa nominal dicotómica	Masculino, Femenino
Peso	Cuantitativa continua	Kilogramos
Talla	Cuantitativa continua	centímetros
Índice de masa corporal (IMC)	Cuantitativa continua	IMC=peso (kg)/altura al cuadrado (m ²).

Tabla 6. Constructo Marcadores séricos.

VARIABLE	DEFINICIÓN	TIPO DE VARIABLE	ESCALA DE MEDICION
Creatinina	Niveles de creatinina en suero	Cuantitativa continua	mg/dl
Sodio sanguíneo	Niveles de sodio en suero	Cuantitativa continua	mEq/L
Potasio sanguíneo	Niveles de potasio en suero	Cuantitativa continua	mEq/L
CO2 total sanguíneo	Niveles de CO2t en suero	Cuantitativa continua	mEq/L
Calcio total sanguíneo	Niveles de calcio total en suero	Cuantitativa continua	mg/dl
Calcio iónico	Niveles de calcio iónico en suero	Cuantitativa continua	mg/dl
Fosfatos	Niveles de fósforo en suero	Cuantitativa continua	mg/dl
Magnesio sanguíneo	Niveles de magnesio en suero	Cuantitativa continua	mg/dl
Fosfatasa alcalina	Niveles de fosfatasa alcalina en suero	Cuantitativa continua	U/L
Fosfatasa alcalina fracción ósea	Niveles de fosfatasa alcalina ósea en suero	Cuantitativa continua	U/L
Paratohormona sanguínea	Niveles de PTH en suero por quimioluminiscencia	Cuantitativa continua	pg/mL
FGF 23	Niveles de FGF23 en suero por método de ELISA	Cuantitativa continua	pg/mL
Calciuria	Niveles de calcio en orina de 24 horas	Cuantitativa continua	mg/kg/día
Fosfaturia	Niveles de fosfato en orina de 24 horas	Cuantitativa continua	mg/día
Ácido úrico urinario	Niveles de ácido úrico en orina de 24 horas	Cuantitativa continua	mg/día
Amonio	Niveles de amonio en orina de 24 horas	Cuantitativa continua	mEq/día
Cistatina C	Concentración de Cistatina C en suero	Cuantitativa continua	mg/L

Estrategia de estudio

Proceso de selección de los participantes:

- Como parte del seguimiento y atención a pacientes trasplantados, son invitados a participar en nuestro protocolo en el Laboratorio de investigación en nefrología y metabolismo óseo, de forma consecutiva según los criterios de selección.

- Prueba diagnóstica.
Transversal

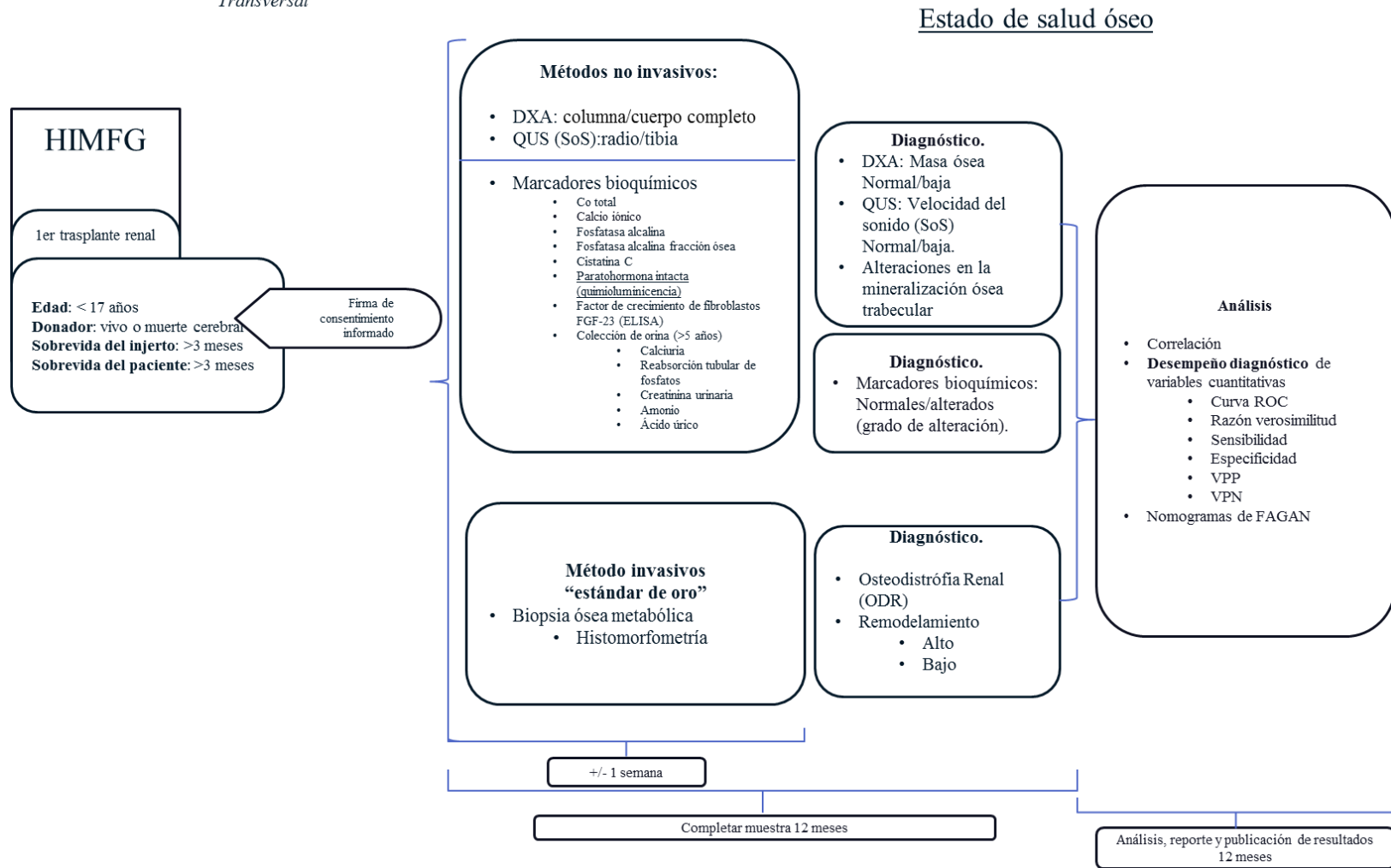


Figura 13. Estrategia de estudio. Esquema general del procedimiento a seguir durante la ejecución del estudio, desde el reclutamiento de los pacientes hasta el análisis de los resultados.

Pacientes trasplantados a lo largo de 12 meses	Entre primer y tercer mes del Trasplante	A los 3 meses de iniciado el estudio	A los 6 meses de iniciado el estudio	A los 12 meses de iniciado el estudio	A los 13 meses de iniciado el estudio	A los 24 meses de iniciado el estudio
VARIABLES DEMOGRÁFICAS, etiología de insuficiencia renal, antecedente de lesiones óseas y actuales	XX	XX	XX	XX		
Laboratoriales: Sangre: Química sanguínea, Electrolitos Séricos, Fosfatasa alcalina, fracción ósea, cistatina C. En Orina: Cr, Ácido úrico, Electrolitos urinarios, amonio	XX	XX	XX	XX		
Hormonas calciotropas: calcitriol, calcidiol, paratohormona, FGF23	XX	XX	XX	XX		
Gabinete: ultrasonido cuantitativo y Densitometria ósea		XX				
Biopsia ósea metabólica		XX				
Análisis de estudios		XX	XX	XX	XX	
Presentación de resultados					XX	
Elaboración de manuscrito						XX
Publicación						XX

Intervención

Biopsia ósea metabólica

El proceso de la biopsia en nuestro hospital y en el mundo se considera un procedimiento invasivo con bajo riesgo debido a la poca frecuencia de complicaciones (infecciones y/o hematoma subperióstico). Puede haber dolor y un pequeño hematoma en el sitio de toma de muestra.

Se etiquetará la biopsia al momento de la extracción (Anexo V), y se colocara en un frasco con solución de alcohol al 40%. El procesamiento de la biopsia se realizara en laboratorio, donde la mitad de la biopsia ósea se utilizará para estudio histomorfométrico, donde se valorará parámetros estructurales, de resorción, estático de formación ósea y dinámicos de formación ósea.



Figura 14: Al momento de extraer la biopsia se coloca de inmediato en solución de alcohol al 40%.

Se reportará como valores normales por edad lo reportado por Glorieux y cols.

La otra mitad se utilizará para estudio de metales: aluminio, hierro, plomo, cadmio, mercurio y cobre.

La biopsia ósea metabólica se realizará entre el primer y tercer mes postrasplante renal, y a los 12 meses de haberse realizado la primera.

Ultrasonido cuantitativo (QUS)

Se realizara ultrasonido cuantitativo en radio y tibia, al momento de la densitometría y la biopsia de hueso, dentro de los primeros tres meses postrasplante y al año de la primera biopsia ósea metabólica. Se usará el equipo QUS Sunlight, Omnisense 7000p.

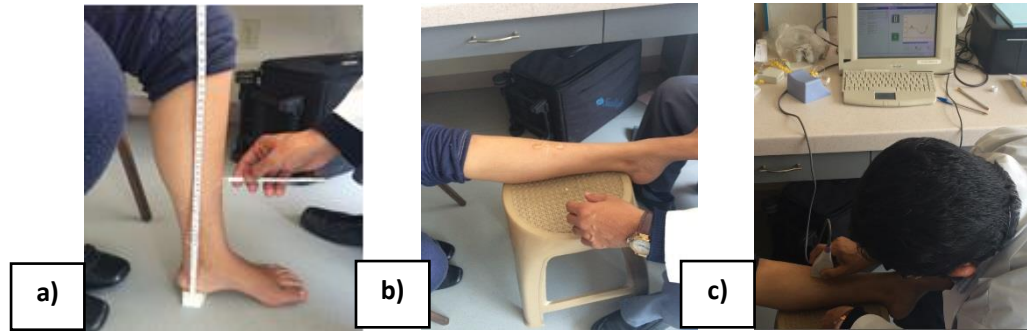


Figura 15. Medición de la velocidad del sonido (SoS) con Ultrasonido cuantitativo (QUS). a) Se traza una línea en la parte media de la tibia, b) se coloca al paciente en posición horizontal, y se procede a hacer la evaluación con el transductor, enviando la información a la computadora y al programa específico para su análisis.

Densitometría dual de rayos X (DXA)



Figura 16. Paciente siendo evaluado en posición “Cuerpo total” por Densitometría dual de rayos x (DXA).

La densitometría se realizará de columna y cadera, dentro de los primeros 3 meses postrasplante y al año de la primera biopsia ósea metabólica, con software para pacientes pediátricos. Trabajaremos con equipo iDXA lunar GE con un filtro de cerium que resulta en energía de 45 y 80keV. Emite una dosis de radiación menor a 6 μ Sv. El equipo iDXA lunar se encuentra en el Centro de Investigación Clínica pediátrica del Hospital infantil de México Federico Gómez.

Recolección de datos:

- Los datos clínicos se realizará de forma ambispectiva: Se analizarán de manera descriptiva las variables demográficas, somatometría; etiología de la enfermedad renal; esquema inmunosupresor al momento del estudio, complicaciones óseas previas al estudio, sobrevida del injerto y del paciente.
- Los datos histomorfométricos (biopsia ósea metabólica) se realizara de forma prospectiva y con un intervalo máximo de 1 día. La biopsia ósea metabólica con doble marcaje de tetraciclina (a dosis de 20mg/Kg/día), administrado por dos días consecutivos y a los 10 días repetir la dosis.

La biopsia se tomará de 48 a 72 horas después de la última dosis de marcadores. El sitio de toma de biopsia será transiliaca, a 1 cm por debajo de la cresta anterior y superior, con un trocar de Bordier de 0.7 a 0.8mm de diámetro, se requiere anestesia local con 15cc de novocaína al 2% que se aplica supraparióstica interna y externa, con sedación profunda por parte del servicio de anestesiología, sin intubación endotraqueal.

Los posibles efectos adversos son hipersensibilidad a cualquiera de los medicamentos. Los efectos adversos de las tetraciclinas se reportan a dosis más altas, y las más frecuentes son: lesiones en la piel, fotosensibilidad, pigmentación de las uñas, náusea, diarrea, pigmentación de los dientes y alteración en el esmalte de los mismos; en niños menores de 8 años, reacciones alérgicas.

- Los datos de marcadores bioquímicos, se realizara de forma prospectiva y con un intervalo máximo de 1 día respecto al resto de datos. Resultado de estudios bioquímicos, en sangre (8ml) a los 3 meses del trasplante:
 - Creatinina,
 - Electrolitos séricos (sodio, potasio, cloro, calcio, magnesio, fosfatos),
 - CO2 total,
 - Calcio iónico,
 - Fosfatasa alcalina,
 - Fosfatasa alcalina fracción ósea,
 - Cistatina C,
 - Paratohormona intacta (quimioluminiscencia)
 - Factor de crecimiento de fibroblastos (FGF23) por método de ELISA.

- En mayores de 5 años, se hará colección de orina de 24 h, a los 3 meses del trasplante, para:
 - Calciuria,
 - Reabsorción tubular de fosfatos,
 - Creatinina urinaria,
 - Amonio
 - Ácido úrico.

- En menores de 5 años, se realizarán los exámenes corregidos por creatinina urinaria en una muestra aislada de orina, a los 3 meses del trasplante):
 - Relación de calcio
 - Fosfato, amonio
 - Ácido úrico

- Los datos de gabinete (DXA y QUS), se realizara de forma prospectiva y con un intervalo máximo de 1 semana respecto al resto de mediciones. La densitometría dual de rayos X será realizada en el Centro de investigación de Epidemiología clínica hospitalario.

Error de medición

Limitaciones del estudio.

La mayoría de las variables analizadas en los marcadores bioquímicos son estudios de control rutinarios en los pacientes con trasplante renal. Existen pocos estudios que describan los hallazgos del ultrasonido cuantitativo en los pacientes pediátricos con trasplante renal y, en nuestra institución, se utilizará por primera vez para evaluar salud ósea en este tipo de pacientes. El densitómetro es de reciente adquisición del hospital, sin embargo ya se cuentan con las certificaciones y capacitaciones necesarias para su uso. La realización de la biopsia ósea metabólica es un procedimiento invasivo y su análisis es muchas veces es operador dependiente.

Sin embargo, se incorporará la más alta tecnología para su análisis, al emplear software de alta precisión eliminando el potencial sesgo de detección.

Manejo y análisis estadístico de los datos.

Se realizará estadística descriptiva, expresando los datos como media y desviación estándar para variables con distribución normal y medianas con rangos intercuartílicos para variables con libre distribución.

Para determinar la prevalencia de la OD grave, se calculará con los datos obtenidos de la biopsia y se resumirá como n/N y porcentajes.

Análisis bivariado, análisis de correlación de Pearson para todos los métodos no invasivos versus biopsia ósea metabólica, tomando a los valores con los datos crudos (cuantitativos).

A las variables cuantitativas DXA, QUS, marcadores biológicos se les realizará una curva ROC para establecer los puntos de corte de mayor razón de verosimilitud (sensibilidad/1-especificidad). Se tomará como variable dependiente a la OD grave diagnosticada con la biopsia ósea.

A partir de estos puntos de corte, se realizará el cálculo de sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos, así como las razones de verosimilitud, utilizando el IC 95%. Con estos resultados se graficarán los nomogramas de Fagan.

Análisis de regresión logística para evaluar relación entre la función del injerto (adecuada o no) y para ODR (leve o grave) usando como variable independientes los datos antropométricos, marcadores bioquímicos, hallazgos en QUS, DXA y Biopsia ósea metabólica. Se considerará una $p < 0.05$ como estadísticamente significativa.

Se especifica que los investigadores que interpretan todas las pruebas permanecen cegados, y emiten el resultado de su prueba por separado al Laboratorio de investigación en nefrología y metabolismo óseo hospitalario, donde se incluyen los datos específicos en la base de datos principal. Inmediatamente son analizados por el investigador asignado en el Centro de investigación de Epidemiología clínica.

RESULTADOS.

Se describen a continuación las características demográficas de los pacientes hasta ahora recabados.

Tabla 7. Características demográficas de 35 pacientes con trasplante renal.

Características	valor
Edad (Años, Media \pm Desviación Estándar)	14.1 \pm 3.5
Sexo (n,%)	
Masculino	17 (48.6%)
Femenino	18 (51.4%)
Z Talla (Media \pm Desviación Estándar)	-1.93 \pm 1.23
Procedencia del injerto (n,%)	
Donador vivo	15 (42.9%)
Donador cadaverico	20 (57.1%)
Causas de falla renal n (%)	
GMN	7 (20%)
CAKUT	4 (11.4%)
Otra	3 (8.6%)
Desconocida	21 (60%)
Tiempo en meses de diálisis antes del trasplante. (mediana, Percentil 25 y 75)	15 (7, 33)
Tratamiento Inmunosupresor (n,%)	
Prednisona	33 (94.3%)
Tacrolimus	2 (5.7%)
Cyclosporina	35 (100%)
Mofetil mycophenolato	
Niveles de Tacrolimus in ng/ml (mediana, Percentil 25 y 75)	8 (6.7, 9.7)
Tiempo después del trasplante renal. (muses)	4.8 \pm 2.6

Tabla 8. Resultados de imagen y bioquímicos. Valores expresados en media \pm Desviación estándar o mediana (percentil 25 y 75).

Característica	Value
DXA columna L1-L4 Z <2 (n,%) (Media \pm Desviación Estándar)	4 (11.4%) -1.30 \pm 1.48
DXA cuerpo total (sin cabeza) Z <2 (n,%) (Media \pm Desviación Estándar)	10 (28.6%) -1.30 \pm 0.99
Z QUS radio Z <2 (n,%) (Media \pm Desviación Estándar)	6 (17.1%) 0.014 \pm 2.46
Creatinina en suero (mg/dl)	0.9 (0.7, 1.3)
Rango de filtración glomerular ² (ml/min/1.73m)	62.16 \pm 17.50
Hormona paratiroidea (pg/ml)	77 (44, 106)
FGF23 (pg/ml)	224 (17.4, 1449)
Calcio* (mg/dl)	9.45 \pm 0.61
Fosfatos (mg/dl)	4.49 \pm 0.94
Fosfatasa alcalina (UI/l)	257 (153, 304)
Magnesio (mg/dl)	1.71 \pm 0.26

MECANISMOS DE TRANSFERENCIA.

CONSIDERACIONES ÉTICAS DE LA INVESTIGACIÓN.

Se considera un estudio con riesgo mayor que el mínimo ya que contempla la toma de muestras sanguíneas a través de la punción de una vena periférica de pequeño calibre, de la que se inhibirá el sangrado realizando presión digital en sitio de punción, sin ninguna secuela; la densitometría implica radiación baja y la biopsia ósea metabólica con los riesgos inherentes al procedimiento ya descritos.

El ultrasonido es no invasivo y no tiene efectos secundarios.

Se les explicara a los pacientes que su participación es voluntaria, y en caso de aceptar, podrán retirarse del estudio en cualquier momento. Se revisará la carta de consentimiento y asentimiento junto con los pacientes y sus padres, para resolver dudas y asegurar que esté comprendida la información de dichos documentos.

Su participación es voluntaria. Usted puede decidir no participar o puede retirarse del estudio en cualquier momento. En cualquier caso no perderá ninguna forma de atención médica en el Hospital

En el presente protocolo se manifiesta el sustento científico y la necesidad de estrategias de protección a un sector de la población con mayor propensión a daño metabólico óseo entre otras comorbilidades, y la necesidad de determinar el desempeño diagnóstico de alternativas no invasivas de evaluación ósea, no solo por el mérito científico de que no existen estudios al respecto, primordialmente la evaluación de estrategias pronosticas en población particularmente vulnerable, siendo su inclusión justificada dada la creciente necesidad de proporcionar un monitoreo y diagnóstico oportuno del paciente pos-trasplantado. Además, se garantiza en todo momento la atención médica y cualificación profesional durante la duración del estudio, y el seguimiento de eventos derivados de las maniobras concernientes al protocolo. Respecto a la justicia distributiva, los beneficiarios directos de los conocimientos que deriven de la investigación, así como, una estrategia pronostica no tendrá costo para el paciente. Manteniendo siempre el valor social con el manejo adecuado de la información y la claridad en el manejo posterior de la información derivada de la presente investigación.

En cumplimiento al artículo 20 de la Ley General de Salud en materia de investigación en salud, por ningún motivo se incluirá a pacientes que no hayan sido informados de la naturaleza y los riesgos a los que será sometido su hijo o dependiente legal según sea el caso, derivado de su participación, así como su libre elección a participar o retirarse, sin coacción o condicionamiento de la atención médica ya recibida. Confirmando su aceptación con la firma del consentimiento informado (ANEXO I) para participar en la presente investigación. Preferentemente se planea obtener el consentimiento informado de la madre y de su cónyuge o concubinario, previa información de los riesgos posibles para el paciente.

CONSIDERACIONES DE BIOSEGURIDAD

Las muestras de sangre empleadas para el estudio serán tomadas en el laboratorio de Investigación de Nefrología, el personal utilizará bata y guantes. Los desechos líquidos obtenidos del procesamiento de muestras sanguíneas serán colocados en recipientes de plástico rotulados con el tipo de desecho de que se trate.

Serán generadas las solicitudes necesarias y se enviarán al Departamento de Control Ambiental de nuestra institución para la recolección y eliminación correspondiente de cada uno de los desechos generados. El estudio contempla la determinación de PTH por quimioluminiscencia.

Beneficio directo para el paciente y los padres de familia.

En cuanto a la vigilancia extensa, se mantendrá un monitoreo de reacciones adversas atribuidas a las intervenciones. No se cobrará costo alguno por la toma de muestras ni su análisis pertinente a nuestra investigación.

El padre o tutor del paciente, en cualquier momento puede revocar su consentimiento a participar el estudio, de ser preferente, a través de la “Carta de revocación del consentimiento” (Anexo VI).

Beneficios indirectos

Con la presente investigación se pretende determinar el desempeño diagnóstico de terapias no invasivas para la evaluación del estado óseo, con la finalidad de llevar a cabo medicina basada en evidencia científica en beneficio del paciente.

FACTIBILIDAD DEL ESTUDIO

Recursos Humanos y materiales.

Respecto a la infraestructura que asegura la factibilidad del proyecto, al reunirse las competencias de colaboración, se cuenta con el pleno uso del Centro de investigación en epidemiología clínica, el laboratorio de investigación en Nefrología, quirófanos de cirugía ambulatoria e instalaciones hospitalarias, además del uso pleno del densitometro dual de rayos x y el ultrasonido cuantitativo.

De acuerdo a la normatividad de las Buenas Prácticas Clínicas, se designan las siguientes responsabilidades y competencias de los investigadores participantes.

El personal que realiza y analiza biopsia ósea comprende:

- Dra. Mara Medeiros Domingo
 - Cuijano Patólogo Dr. Francisco H. Velásquez Forero.
 - Cirujana especialista en trasplantes Dra. Ana Laura González Jorge
 - Personal y Jefes de Anestesia del HIMFG.
 - Personal y Jefas de enfermería de Cirugía ambulatoria.
 - McS. Biól. Lucía Méndez Sánchez.

El personal que realiza la Ultrasonografía cuantitativa comprende (Dra. Mara Medeiros a cargo):

- QFB. Rubén Enrique Aldana Vergara

El personal que realiza la densitometría dual de rayos X comprende (Dra. Patricia Clark a cargo):

- LN. Regina Ambrosi cortes
- McS. Enfermera pediatra Alma Lidia Almiray
- McS. Biól. Lucía Méndez Sánchez.

Marcadores bioquímicos (Dra. Mara Medeiros y Dra. Patricia Clark a cargo):

- Biól. Ana María Hernández Sánchez
- Quim. Lourdes Ortiz Vázquez

Investigador que realiza el análisis de la prueba diagnóstica que comprende todas las valuaciones:

- McS. Biól. Lucía Méndez Sánchez.

INFRAESTRUCTURA DISPONIBLE.

A continuación se desglosa de forma general la infraestructura proporcionada por institución colaboradora:

- Hospital Infantil de México Federico Gómez.
 - Unidad de Epidemiología clínica: Cuenta con el densitometro dual de rayos iDXA de última generación y el personal altamente capacitado para la toma de mediciones e interpretación de resultados.
 - Laboratorio de investigación en nefrología y metabolismo mineral óseo: Especialistas en toma de biopsias óseas metabólicas y acueros hospitalarios para el uso de quirófano y personal altamente capacitado. Cuentan con el Ultrasonido cuantitativo OmniSense de ultima generación y personal altamente capacitado para la toma e interpretación de mediciones.
- Hospital Centro Médico Siglo XXI, Pediatría.
 - Especialista en trasplantes biopsias óseas metabólicas.
- Universidad Nacional Autónoma de México.
 - Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud. Campo Epidemiología clínica. Alumna de Doctorado.

COLABORACIÓN INTERNACIONAL:

Se realizara una colaboración con la Universidad de Los Angeles California USA (UCLA School of Density) Con el Dr. Isidro Salusky (Director, Clinical & Translational Research Laboratory General Clinical Research Center. Chief, Pediatric Nephrology, Co-Chair, Participant and Clinical Interaction and Resources Program. Director, Hemodialysis and Peritoneal Dialysis Service. Co-Leader, Research Education, Training, and Career Development Program (CTSI-ED). Professor, Pediatrics. Leader, Clinical Immunology Research Laboratory (CIRL). Member, CTSI

INSTITUCIONES PARTICIPANTES.

La presente propuesta cuenta con la interacción de al menos dos instituciones de salud (y dos unidades de investigación) y dos académica, ello con el fin de lograr en conjunto una colaboración y participación inter-institucional. A continuación se enlistan dichas instituciones:

- Hospital Infantil de México Federico Gómez.
 - Unidad de Epidemiología clínica.
 - Laboratorio de investigación en nefrología y metabolismo mineral óseo.
- Hospital Centro Médico Siglo XXI, Pediatría.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de interés

Cronograma de actividades

Programa de trabajo.

El periodo de muestras de pacientes por la especificidad de sus características, comprende un tiempo de 12 meses. Y un periodo adicional de 12 meses mas para el análisis y reporte completo de las biopsias y publicación de resultado

ACTIVIDADES DE DIVULGACIÓN: PRODUCTIVIDAD ACADÉMICA

McS. Lucía Méndez Sánchez.

Junio 2013- Abril 2016

Publicados:

Autor correspondiente:

- R. Rivas-Ruiz, L. **Méndez-Sánchez**, O.D. Castelán-Martínez, P. Clark, J. Tamayo, J.O. Talavera, G. Huitrón, J. Salmerón-Castro. Comparison of international reference values for bone speed of sound in pediatric populations: Meta-analysis. *Journal of Clinical Densitometry*. Publicado en línea 23/04/2015
- Rodolfo Rivas-Ruiz, **Lucia Méndez-Sánchez**, Osvaldo D Castelán-Martínez, Patricia Clark, Gabriela Chico, Juan Tamayo, Juan O Talavera, Gerardo Huitrón, Jorge Salmerón-Castro., Comparación de los valores internacionales del ultrasonido cuantitativo (QUS) vs. los valores de población mexicana: revisión sistemática y meta-análisis., *Metabolismo óseo y mineral*, Vol.11, Pag.31-37

Co-autor:

- A.L. González Jorge, Enciso, A. Reyes, A.M. Hernández, L. Ortiz, R. Aldana, F. Velázquez-Forero, R. Ambrosi, P. Clark, **L.Méndez**, R. Rivas-Ruiz, M. Medeiros. Post-Renal transplantation bone health in Children Evaluated by Means of Quantitative Ultrasound and Densitometry. 2016; 48 (2): 635-638.
- Patricia Clark, **Lucia Méndez-Sánchez**, Desireé López-González, Alfredo Reza Albarrán, Solange Heller R, Mario Flores, Luis Miguel Gutiérrez robles., Brochure: importancia de la prevención de la deficiencia de vitamina d por medio de la suplementación a población vulnerable., **Boletín informativo CCINSHAE**, Vol., Pag.40-55, Publicado sin Arbitraje.
- Desireé López-González, **Lucia Méndez-Sánchez**, **Patricia Clark**. Boletín Médico del Hospital Infantil de México Vitamin D deficiency in childhood. An opportunity for prevention. *Bol. Med. Hosp. Infantil Mex.* 2015;72(4):225-234.
- Sandra Elvia Hernández Valencia, **Lucía Méndez Sánchez**, Patricia Clark, Laura Moreno Altamirano y Juan Manuel Mejía Aranguré. Glutamina como coadyuvante en la recuperación de la fuerza muscular: revisión sistemática de la literatura. *Nutrición hospitalaria*.2015. 32 (4): 1443-1453

En prensa:

Primer autor:

- **Méndez-Sánchez L**, Chico G, Winzenberg T, Tugwell P, Clark P. Calcium and vitamin D for increasing bone mineral density in pre-menopausal women. THE COCHRANE COLLABORATION. Musculoskeletal group. Ottawa Canadá. Review number: A093-P.
- **Méndez-Sánchez Lucía**, Rivas-Ruiz Rodolfo, Clark Patricia, Pantic Ivan, Tamayo-Orozco Juan, Talavera Juan O, Huitrón Gerardo, Salmerón Castro Jorge. Correlation Between quantitative Ultrasound and DXA is age dependent: Longitudinal cross-sectional study of healthysubjects from 1 to 90 years of age. Enviado a Journal of Clinical Densitometry: Assessment & Management of Musculoskeletal Health 2016.

Co-autor:

- Georgina Toussaint-Martinez de Castro, Miguel Ángel Guagnelli, Patricia Clark, **Lucia Méndez-Sánchez**, Desireé Lopez-González, Francisco Galán-Herrera, Martin Sánchez-Ruiz. Vitamin D, Not Iron, Is the Main Nutrient Deficiency in Pre-school and School-aged Children in Mexico City: A Cross-Sectional Study. Enviado a Nutrición Hospitalaria.

En proceso de escritura:

Primer autor.

- **Méndez-Sánchez Lucía**, Zaragoza Grecia, Hernández Vanessa, López-Casimiro Karen, Clark Patricia. Effect of vitamin D supplementation in children to reach levels of sufficiency: A Systematic Review.
- **Méndez-Sánchez Lucía**, Zaragoza Grecia, Pérez Mariándrea, Clark Patricia. Insuficiencia de vitamina D asociada a Cardiopatía dilatada en pacientes entre 0 y 24 meses. Revisión Sistemática de la Literatura.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

- ¹ García-García, Harden P, Chapman J, El papel global del trasplante renal *Nefrologia* 2012;32(1):1-6
- ² Brandan N, Llanos I, Rodríguez A. Regulación Hormonal del balance fosfocálcico. Cátedra de Bioquímica-Facultad de Medicina- U.N.N.E. Edición 2012.
- ³ Pieltain C, Haelleux V, Senterre T & Rigo J. Prematurity and bone health. *Nutrition and Growth. World Rev Nutr Diet.* Basel, Karger, 2013, Vol 106, pp 181-188
- ⁴ Poole K, Compston J. Osteoporosis and its management. *BMJ* 533 2006.
- ⁵ Holick M. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease.
- ⁶ ¿Qué función cumplen los riñones?. (s.f.) recuperado el 20/04/16 de: http://www.fmca.com.ar/que_funcion_cumplen_los_riniones.html
- ⁷ Kidney Disease: Improving Global Outcomes CKD-MBDWG. Kdigo clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (ckd-mbd). *Kidney Int Suppl.* 2009;S1-130.
- ⁸ Weinreich T. Prevention of renal osteodystrophy in peritoneal dialysis. *Kidney Int* 54(6):2226-33, 1998.
- ⁹ Helenius I, Remes V, Salminen S, Valta H, Makitie O, Holmberg C, et al. Incidence and predictors of fractures in children after solid organ transplantation: A 5-year prospective, population-based study. *J Bone Miner Res.* 2006; 21:380-7.
- ¹⁰ Hruska KA, Choi ET, Memon I, Davis TK, Mathew S. Cardiovascular risk in chronic kidney disease (ckd): The ckd-mineral bone disorder (ckd-mbd). *Pediatr Nephrol.* 2010; 25:769-78.
- ¹¹ Alshayeb HM, Josephson MA, Sprague SM. CKD-mineral and bone disorder management in kidney transplant recipients. *Am J Kidney Dis.* 2012.
- ¹² Bover J, Cozzolino M. Mineral and bone disorders in chronic kidney disease and end-stage renal disease patients: New insights into vitamin d receptor activation. *Kidney Int., Suppl.* 2011; 1:122-129.
- ¹³ Fukuda N, Tanaka H, Tominaga Y, Fukagawa M, Kurokawa K, Seino Y. Decreased 1,25-dihydroxyvitamin d3 receptor density is associated with a more severe form of parathyroid hyperplasia in chronic uremic patients. *J Clin Invest.* 1993; 92:1436-43.
- ¹⁴ Arnold A, Brown MF, Urena P, Gaz RD, Sarfati E, Drueke TB. Monoclonality of parathyroid tumors in chronic renal failure and in primary parathyroid hyperplasia. *J Clin Invest.* 1995; 95:2047-53.
- ¹⁵ Van Staa TP, Cooper C, Leufkens HG, Bishop N. Children and the risk of fractures caused by oral corticosteroids. *J Bone Miner Res.* 2003; 18:913-8.
- ¹⁶ Epstein S, Dissanayake IR, Goodman GR, Bowman AR, Zhou H, Ma Y, et al. Effect of the interaction of parathyroid hormone and cyclosporine a on bone mineral metabolism in the rat. *Calcif Tissue Int.* 2001; 68:240-7.
- ¹⁷ Gouadon E, Lecerf F, German-Fattal M. Differential effects of cyclosporin a and tacrolimus on magnesium influx in caco2 cells. *J Pharm Pharm Sci.* 2012; 15:389-98.
- ¹⁸ Dimke H, Monnens L, Hoenderop JG, Bindels RJ. Evaluation of hypomagnesemia: Lessons from disorders of tubular transport. *Am J Kidney Dis.* 2012.
- ¹⁹ Lee CT, Ng HY, Lien YH, Lai LW, Wu MS, Lin CR, et al. Effects of cyclosporine, tacrolimus and rapamycin on renal calcium transport and vitamin d metabolism. *Am J Nephrol.* 2011; 34:87-94.

- ²⁰ Gouadon E, Lecerf F, German-Fattal M. Differential effects of cyclosporin a and tacrolimus on magnesium influx in caco2 cells. *J Pharm Pharm Sci.* 2012; 15:389-98.
- ²¹ Van Laecke S, Van Biesen W, Verbeke F, De Bacquer D, Peeters P, Vanholder R. Posttransplantation hypomagnesemia and its relation with immunosuppression as predictors of new-onset diabetes after transplantation. *Am J Transplant.* 2009; 9:2140-9.
- ²² Kidney Disease: Improving Global Outcomes CKD-MBDWG. Kdigo clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (ckd-mbd). *Kidney Int Suppl.* 2009:S1-130.
- ²³ Cannata, A. Weruaga, C. Gómez Alonso. Osteodistrofia renal: diagnóstico y tratamiento. Unidad de Metabolismo Oseo y Mineral. Instituto Reina Sofía de Investigación. Hospital Central de Asturias. Oviedo. *NEFROLOGIA.* Vol. XVIII. Supl. 6. 1998.
- ²⁴ Kidney Disease: Improving Global Outcomes CKD-MBDWG. Kdigo clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (ckd-mbd). *Kidney Int Suppl.* 2009:S1-130.
- ²⁵ Díaz-Barriga D, Hernández-Sánchez A, Rico-Argüello Y, Ortiz-Vazquez M, Aldana-Vergara R, Velasquez-Forero F, et al. Evaluación del metabolismo óseo pre y postrasplante renal en niños y adolescentes. *Bol Med Hosp Infant Mex.* 2013; 70:116-123.
- ²⁶ Moayyeri A, Adams JE, Adler RA, Krieg MA, Hans D, Compston J, et al. Quantitative ultrasound of the heel and fracture risk assessment: An updated meta-analysis. *Osteoporos Int.* 2012; 23:143-53.
- ²⁷ Hans G, Wu C, Njeh C.F., Zhao S, Augat P, Newitt D, Link T, Lu Y, Majumdar S, Genant. Ultrasound Velocity of trabecular cubes reflect mainly bone density and elasticity. *Calcif Tissue Int.* 1999;64:18-23
- ²⁸ Nayak S, Olkin I, Liu H, Grabe M, Gould MK, Allen IE, et al. Meta-analysis: Accuracy of quantitative ultrasound for identifying patients with osteoporosis. *Ann Intern Med.* 2006; 144:832-41.
- ²⁹ Trimpou P, Bosaeus I, Bengtsson BA, Landin-Wilhelmsen K. High correlation between quantitative ultrasound and dxa during 7 years of follow-up. *Eur J Radiol.* 2010; 73:360-4.
- ³⁰ Van Rijn RR, van der Sluis IM, Lequin MH, Robben SG, de Muinck Keizer-Schrama SM, Hop WC, Van Kuijk C. Tibial quantitative ultrasound versus whole-body and lumbar spine DXA in a Dutch pediatric and Adolescent population. *Invest Radiol.* 2000;35:9:548-52.
- ³¹ Di Vasta AD, Ringelheim J, Bristol SK, Feldman HA, Gordon CM. Skeletal measurements by quantitative ultrasound in adolescents and young women with anorexia nervosa. *J Pediatr.* 2007;150:3:286-90, 290.
- ³² Tao B, Liu JM, Zhao HY, Sun LH, Wang WQ, Li XY, Ning G. Differences between measurements of bone mineral densities by quantitative ultrasound and dual-energy x-ray absorptiometry in type 2 diabetic postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:5:1670-5.
- ³³ Hartman C, Hino B, Lerner A, Eshach-Adiv O, Berkowitz D, Shaoul R, Pacht A, Rozenthal E, Tamir A, Shamaly H, Shamir R. Bone Quantitative ultrasound and bone mineral density in children with celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2004;39:5:504-10.
- ³⁴ Levine A, Mishna L, Ballin A, Givoni S, Dinari G, Hartman C, Shamir R. Use of quantitative ultrasound to assess osteopenia in children with crohn disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2002;35:2:169-72.

- ³⁵ Tuna H, Birtane M, Ekuklu G, Cermik F, Tuna F, Kokino S. Yonsei. Does Quantitative tibial ultrasound predict low bone mineral density defined by dual energy x-ray absorptiometry? *Med J.* 2008 30;49:3:436-42.
- ³⁶ Boyanov M, Shinkov A, Nestorova R. Bone density measurement: quantitative ultrasound of the calcaneus and distal radius. A comparison with dual spectrum x-ray absorptiometry. *Dtsch Med Wochenschr.* 2007;132:16:869-73.
- ³⁷ Cook RB, Collins D, Tucker J, Zioupos P. The ability of peripheral quantitative ultrasound to identify patients with low bone mineral density on the hip or spine. *Ultrasound Med Biol.* 2005;31:5:625-32
- ³⁸ Arici M, Erturk H, Altun B, Usalan C, Ulusoy S, Erdem Y, Sivri A, Yasavul U, Turgan C, Caglar S. Bone mineral density in haemodialysis patients: a comparative study of dual-energy x-ray absorptiometry and quantitative ultrasound. *Nephrol Dial Transplant.* 2000;15:11:1847-51.
- ³⁹ Goemaere S, Zmierzak H, Van Pottelbergh I, Kaufman JM. Ability of peripheral bone assessments to predict areal bone mineral density at hip in community-dwelling elderly men. *J Clin Densitom.* 2002;5:3:219-28.
- ⁴⁰ Kidney Disease: Improving Global Outcomes CKD-MBDWG. Kdigo clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (ckd-mbd). *Kidney Int Suppl.* 2009:S1-130.
- ⁴¹ Moe S, Drueke T, Cunningham J, Goodman W, Martin K, Olgaard K, et al. Definition, evaluation, and classification of renal osteodystrophy: A position statement from kidney disease: Improving global outcomes (kdigo). *Kidney Int.* 2006; 69:1945-53.
- ⁴² Velasquez-Forero F. Histomorfometría de la biopsia ósea previo marcaje y procesada sin descalcificar. *Patologia.* 2009; 47:108-17.
- ⁴³ Kidney Disease: Improving Global Outcomes CKD-MBDWG. Kdigo clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (ckd-mbd). *Kidney Int Suppl.* 2009:S1-130.
- ⁴⁴ Velasquez-Forero F. Histomorfometría de la biopsia ósea previo marcaje y procesada sin descalcificar. *Patologia.* 2009; 47:108-17.
- ⁴⁵ Cannata JB. Hypokinetic azotemic osteodystrophy. *Kidney Int* 54: 1000-1016, 1998.
- ⁴⁶ Andrade MC, Carvalhaes JT, Carvalho AB, Lazarretti-Castro M, Brandao C. Bone mineral density and bone histomorphometry in children on long-term dialysis. *Pediatr Nephrol.* 2007; 22:1767-72.
- ⁴⁷ W. Douthat, G. Acuña, J. L. Fernández Martín, M. Serrano, A. González Carcedo, A. Canteros, P. Menéndez, Fraga y J. B. Cannata. Exposición al aluminio y calidad del baño de diálisis: repercusión sobre los niveles de aluminio sérico. *NEFROLOGIA.* Vol. XIV. Núm. 6. 1994. Servicio de Metabolismo Oseo y Mineral. Unidad de Investigación. Hospital Central de Asturias. Universidad de Oviedo, Asturias.
- ⁴⁸ Couttenye MM, D'Haese PC, Deng JT, Van Hoof VO, Verpooten GA, De Broe ME. High prevalence of adynamic bone disease diagnosed by biochemical markers in a wide sample of the European CAPD population. *Nephrol Dial Transplant* 12(10):2144-50, 1997.
- ⁴⁹ Klaus G, Watson A, Edefonti A, Fischbach M, Ronnholm K, Schaefer F, et al. Prevention and treatment of renal osteodystrophy in children on chronic renal failure: European guidelines. *Pediatr Nephrol.* 2006; 21:151-9.

⁵⁰ Moe S, Drueke T, Cunningham J, Goodman W, Martin K, Olgaard K, et al. Definition, evaluation, and classification of renal osteodystrophy: A position statement from kidney disease: Improving global outcomes (kdigo). *Kidney Int.* 2006; 69:1945-53.

⁵¹ Velasquez-Forero F. Histomorfometría de la biopsia ósea previo marcaje y procesada sin descalcificar. *Patologia.* 2009; 47:108-17.

⁵² Andrade MC, Carvalhaes JT, Carvalho AB, Lazarretti-Castro M, Brandao C. Bone mineral density and bone histomorphometry in children on long-term dialysis. *Pediatr Nephrol.* 2007; 22:1767-72.

⁵³ Rico EY, Velazquez V, Medeiros M . Cambios serológicos del FGF23 y marcadores bioquímicos en enfermedad renal crónica y alteraciones del metabolismo mineral óseo en niños posterior al trasplante renal. Tesis para título de Nefrología Pediátrica. <http://132.248.9.195/ptd2013/agosto/0699476/Index.html>.

⁵⁴ Rico EY, Velazquez V, Medeiros M . Cambios serológicos del FGF23 y marcadores bioquímicos en enfermedad renal crónica y alteraciones del metabolismo mineral óseo en niños posterior al trasplante renal. Tesis para título de Nefrología Pediátrica. <http://132.248.9.195/ptd2013/agosto/0699476/Index.html>.

⁵⁵ Rico EY, Velazquez V, Medeiros M . Cambios serológicos del FGF23 y marcadores bioquímicos en enfermedad renal crónica y alteraciones del metabolismo mineral óseo en niños posterior al trasplante renal. Tesis para título de Nefrología Pediátrica. <http://132.248.9.195/ptd2013/agosto/0699476/Index.html>.

ANEXO I. Consentimiento Informado bajo información para procedimientos (quirúrgicos o estudios)



CIRUGÍA AMBULATORIA

HOSPITAL INFANTIL DE
MÉXICO FEDERICO GÓMEZ
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACION PARA PROCEDIMIENTOS (QUIRURGICOS O ESTUDIOS)

México, D.F. Fecha: _____

Nombre del paciente: _____ Registro _____ Nombre del familiar
más cercano, tutor o representante legal del Paciente _____

Diagnóstico presuncional: _____
Por medio de la presente, y en plena capacidad de mis facultades como responsable del paciente arriba
señalado, Autorizo al Dr.: _____

Para que realice: _____
(acto o procedimiento que autoriza)

Que consiste en: _____

A quien le doy total capacidad legal para que en caso necesario solicite la participación de cualquier otro
médico que se requiera, para el diagnóstico y tratamiento de mi paciente. Me fueron explicados a mi entera
satisfacción en lenguaje entendible para mi persona, el diagnóstico, la gravedad del padecimiento, el
tratamiento que necesita y los procedimientos a realizar. Entiendo y comprendo también los beneficios de
dicho acto que son _____,
así como los riesgos médicos, quirúrgicos y anestésicos inmediatos o futuros y el pronóstico, así como sus
posibles secuelas.

Se me ha informado que podrían ocurrir complicaciones como: _____

Estoy enterado, que durante los actos o procedimientos, el proyecto inicial de atención puede cambiar,
según lo crean necesario los médicos, lo cual **ACEPTO Y AUTORIZO**. Además consiento que mi caso sea
analizado para los fines estadísticos del hospital bajo las normas bioéticas del mismo.

AUTORIZA: _____ MÉDICO: _____
(nombre y firma) (nombre y firma)

TESTIGO: _____ TESTIGO: _____
(nombre y firma) (nombre y firma)

EN CASO DE NEGAR EL CONSENTIMIENTO:

Se me ha informado que **me puedo negar** a que se realice el procedimiento requerido, y que es bajo mi absoluta
responsabilidad las consecuencias de ello; mismas que se me han explicado y que principalmente son: _____

Debido a que **no acepto** el procedimiento, libero de cualquier responsabilidad a la institución y a los Médicos, además
entiendo que no habrá consecuencias en contra de mi paciente.

NO ACEPTO EL PROCEDIMIENTO, _____
(nombre y firma)

MEDICO: _____
(nombre y firma)

TESTIGO _____ TESTIGO _____
(nombre y firma) (nombre y firma)

F465



HOSPITAL INFANTIL DE
MÉXICO FEDERICO GÓMEZ
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
SECRETARÍA DE SALUD

PROCEDIMIENTOS QUE REQUIEREN: CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACIÓN:

1. Ingreso Hospitalario.
2. Procedimientos de cirugía mayor y menor
3. Procedimientos que requieren anestesia general y local
4. Trasplantes (Consentimiento Bajo Información específico para trasplantes)
5. Investigación Clínica en seres humanos, inclusive toma de fotografías (Consentimiento Bajo Información específico para Investigación)
6. Necropsia (Consentimiento bajo Información específico para Necropsia)
7. Procedimientos Diagnósticos y Terapéuticos de alto riesgo
8. Cualquier procedimiento que entrañe mutilación
9. Catéteres centrales o de alto riesgo
10. Toma de médula ósea.

El personal de salud cuando lo estime pertinente, podrá obtener cartas de Consentimiento Bajo Información, adicionales a las previamente mencionadas.

Norma Oficial Mexicana NOM -168-SSA1-1998. Del Expediente Clínico.

ARTICULO 80.- En todo hospital y siempre que el estado del paciente lo permita, deberá recabarse a su ingreso autorización escrita y firmada para practicarle, con fines diagnóstico o terapéuticos, los procedimientos medico quirúrgicos necesarios de acuerdo al padecimiento de que se trate, debiendo informarle claramente el tipo de documento que se le presenta para su firma. Esta autorización inicial no excluye la necesidad de recabar después la correspondiente a cada procedimiento que entrañe un alto riesgo para el paciente.

ARTICULO 81.- En caso de urgencia o cuando el paciente se encuentre en estado de incapacidad transitoria o permanente, el documento a que se refiere el artículo anterior, será suscrito por el familiar más cercano en vínculo que le acompañe o en su caso, por su tutor o representante legal, una vez informado del carácter de la autorización.

Cuando no sea posible obtener la autorización por incapacidad del paciente y ausencia de las personas a que se refiere el párrafo que antecede, los médicos autorizados del hospital de que se trate, previa valoración del caso y con el acuerdo de por lo menos dos de ellos, llevaran a cabo el procedimiento terapéutico que el caso requiera dejando constancia por escrito en el expediente clínico.

ARTICULO 82. El documento en el que consiste la autorización a la que se refieren los artículos 80 y 81 de este Reglamento deberá contener

I.- Nombre de la Institución a la que pertenezca el hospital

II.- Nombre, razón o denominación social del hospital.

III.- Título del documento.

IV.- Lugar y fecha.

V.- Nombre y firma de quien otorga la autorización

VI.- Nombre y firma de los testigos.

El documento deberá ser impreso, redactado en forma clara, sin abreviaturas, enmendaduras o tachaduras,

ARTICULO 83. En caso de que deba realizarse alguna amputación, mutilación o extirpación orgánica que produzca modificación física permanente en el paciente o en la condición fisiológica o mental del mismo, el documento a que se refiere el artículo anterior deberá ser suscrito además por dos testigos idóneos designados por el Interesado o por la persona que lo suscriba.

Estas autorizaciones se ajustarán a los modelos que señalen las normas técnicas.

ANEXO II. Autorización de Hospitalización.



CIRUGÍA AMBULATORIA

**HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO
FEDERICO GÓMEZ
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
SECRETARÍA DE SALUD**

HOJA DE AUTORIZACIÓN DE HOSPITALIZACIÓN

México DF., fecha: ____/____/____

Nombre del paciente: _____ Registro: _____
Nombre del familiar, tutor o representante legal del paciente _____
Parentesco: _____ Identificación: _____
Diagnóstico presuncional: _____

Por medio de la presente y, en plena capacidad de mis facultades como responsable del paciente arriba señalado: **autorizo** a los médicos de la institución y especialistas en formación, para que se encarguen de su atención médica integral. **Acepto que sea hospitalizado** en esta institución.

Les doy total capacidad legal, para que intervengan en los actos o procedimientos que estimen convenientes para el diagnóstico y tratamiento de mi paciente de acuerdo a los procesos internos del hospital.

Se me ha informado y comprendo que durante la hospitalización de mi paciente; el proyecto de atención puede cambiar, según su evolución clínica, por lo cual acepto y autorizo a los médicos responsables del caso a que realicen los actos o procedimientos que juzguen convenientes en su atención médica, así como su posible traslado a otra unidad hospitalaria para continuar con su manejo, en caso de ser necesario.

Además me comprometo a respetar las normas y reglamentos del hospital, a traer los donadores solicitados y, en su caso, a cubrir en la caja del hospital el pago de los gastos que se generen durante la hospitalización, conforme al nivel socioeconómico asignado por la trabajadora social.

Autoriza: _____ Médico: _____
(nombre y firma) (nombre y firma)

Testigo: _____ Testigo: _____
(nombre y firma) (nombre y firma)

EN CASO DE NEGAR LA HOSPITALIZACIÓN:
Se me ha informado que no puedo negar a que se hospitalice mi paciente y, que es bajo mi absoluta responsabilidad las consecuencias de ello; mismas que se me han explicado y que principalmente son: _____
Debido a que no acepto la hospitalización, libero de cualquier responsabilidad a la institución y a los Médicos.
NO ACEPTO LA HOSPITALIZACIÓN _____
(nombre y firma)
MEDICO: _____
(nombre y firma)
TESTIGO _____ TESTIGO _____
(nombre y firma) (nombre y firma)

MP6130-005-03

466

PROCEDIMIENTOS QUE REQUIEREN: CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACIÓN:

1. Ingreso Hospitalario.
2. Procedimientos de cirugía mayor y menor
3. Procedimientos que requieren anestesia general y local
4. Trasplantes (Consentimiento Bajo Información específico para trasplantes)
5. Investigación Clínica en seres humanos, inclusive toma de fotografías (Consentimiento Bajo Información específico para Investigación)
6. Necropsia (Consentimiento Bajo Información específico para Necropsia)
7. Procedimientos Diagnósticos y Terapéuticos de alto riesgo
8. Cualquier procedimiento que entrañe mutilación
9. Catéteres centrales o de alto riesgo
10. Toma de médula ósea.
- 11.-Transfusión de sangre o sus componentes

El personal de salud cuando lo estime pertinente, podrá obtener cartas de Consentimiento Bajo información, adicionales a las previamente mencionadas.

Norma Oficial Mexicana NOM -168-SSA1-1998. Del Expediente Clínico.

ARTICULO 80.- En todo hospital y siempre que el estado del paciente lo permita, deberá recabarse a su ingreso autorización escrita y firmada para practicarle, con fines diagnóstico o terapéuticos, los procedimientos medico quirúrgicos necesarios de acuerdo al padecimiento de que se trate, debiendo informarle claramente el tipo de documento que se le presenta para su firma. Esta autorización inicial no excluye la necesidad de recabar después la correspondiente a cada procedimiento que entrañe un alto riesgo para el paciente.

ARTICULO 81.- En caso de urgencia o cuando el paciente se encuentre en estado de incapacidad transitoria o permanente, el documento a que se refiere el artículo anterior, será suscrito por el familiar más cercano en vínculo que le acompañe o en su caso, por su tutor o representante legal, una vez informado del carácter de la autorización.

Cuando no sea posible obtener la autorización por incapacidad del paciente y ausencia de las personas a que se refiere el párrafo que antecede, los médicos autorizados del hospital de que se trate, previa valoración del caso y con el acuerdo de por lo menos dos de ellos, llevaran a cabo el procedimiento terapéutico que el caso requiera dejando constancia por escrito en el expediente clínico.

ARTICULO 82. El documento en el que consiste la autorización a la que se refieren los artículos 80 y 81 de este Reglamento deberá contener

- I.- Nombre de la Institución a la que pertenezca el hospital
- II.- Nombre, razón o denominación social del hospital.
- III.-Título del documento.
- IV.-Lugar y fecha.
- V.- Nombre y firma de quien otorga la autorización
- VI.-Nombre y firma de los testigos.

El documento deberá ser impreso, redactado en forma clara, sin abreviaturas, enmendaduras o tachaduras,

ARTICULO 83. En caso de que deba realizarse alguna amputación, mutilación o extirpación orgánica que produzca modificación física permanente en el paciente o en la condición fisiológica o mental del mismo, el documento a que se refiere el artículo anterior deberá ser suscrito además por dos testigos idóneos designados por el Interesado o por la persona que lo suscriba.

Estas autorizaciones se ajustarán a los modelos que señalen las normas técnicas.

ANEXO III. Consentimiento de anestesia.



HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO FEDERICO GOMEZ
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD S.S.

CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACIÓN PARA APLICACIÓN DE ANESTESIA

FECHA/HORA _____

CARÁCTER DE LA CIRUGÍA O PROCEDIMIENTO: PROGRAMADO URGENTE
 NOMBRE: _____ EDAD: _____ REGISTRO: _____

DIAGNÓSTICO PREOPERATORIO: _____

CIRUGÍA O PROCEDIMIENTO PLANEADO: _____

En mi calidad de paciente o representante legal declaro que cuento con la explicación suficiente sobre los beneficios y riesgos del procedimiento anestésico llamado: _____ y que consiste en _____ Se me ha informado que el Hospital cuenta con personal médico calificado y especialistas en formación así como con el equipo necesario para el cuidado y manejo anestésico, sin embargo, esto no evita que puedan presentarse complicaciones derivadas de mis estado físico y/o emocional, o que se relacionan con el procedimiento a efectuar, que puede inclusive cambiar la técnica anestésica planeada. Derivado de las condiciones físicas, tipo de procedimiento y cirugía mencionados, existe la posibilidad de complicaciones desde leves hasta graves, pudiendo causar secuelas permanentes, e incluso eventos graves que lleven al fallecimiento. Para el procedimiento o cirugía programada, los riesgos de la técnica anestésica son: _____

Algunas de las posibles complicaciones mencionadas, se relacionan directamente con el tiempo de ayuno, por lo que es importante seguir las indicaciones del anestesiólogo y **AVISAR EN CASO DE QUE NO SE HAYA CUMPLIDO CON EL AYUNO INDICADO.**

En conocimiento de lo anterior, doy mi consentimiento y firmo de enterado (a), para que los médicos anestesiólogos, lleven a cabo los procedimientos anestésicos o medidas terapéuticas adicionales (Incluyendo el uso de sangre y sus derivados) que consideren necesarios para conservar el estado de salud durante la realización de la cirugía o el procedimiento médico planeado, en el entendido que puedo retractarme de ésta autorización en cualquier momento antes de iniciar la anestesia.

FIRMO DE ACEPTACIÓN Y DE QUE HE ENTENDIDO


Nombre y firma del paciente o representante legal _____ Nombre y firma del anestesiólogo que administrará el procedimiento _____

Testigo: Nombre y firma	Testigo: Nombre y firma
EN CASO DE NEGAR EL CONSENTIMIENTO:	
Se me ha informado que <u>me puedo negar</u> a que se realice el procedimiento requerido, y que es bajo mi absoluta responsabilidad las consecuencias de ello; mismas que se me han explicado y que principalmente son:	
Debido a que <u>no acepto</u> el procedimiento, libero de cualquier responsabilidad a la Institución y a los médicos, y entiendo que no habrá consecuencias en contra de mi paciente.	
NO ACEPTO EL PROCEDIMIENTO, _____ (Nombre y firma del paciente o representante legal)	
MEDICO: _____ (Nombre y firma)	
TESTIGO _____ (Nombre y firma)	TESTIGO _____ (Nombre y firma)

De acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-168-SSA 1-1998 del Expediente Clínico, publicado 14/12/98, en su Cap. 10.1.1.2.3. y la Norma Oficial Mexicana NOM-170 SSA 1 1998 de la práctica de la Anestesiología, publicado en el Diario Oficial de la Federación el día 10/01/00, Cap. 4.12 y 16.1.1.1. es presentado este documento escrito y signado por el paciente y/o representante legal, así como dos testigos mediante el cual acepta, bajo la debida información de los riesgos posibles del procedimiento anestésico.

M2480-114-01

ANEXO V. Formato de recolección de biopsia.

 HOSPITAL INFANTIL
DE MÉXICO
FEDERICO GÓMEZ

LABORATORIO DE METABOLISMO MINERAL ÓSEO
Unidad Hemato-Onco e Investigación, 4º piso. Conmutador: 5228 9917 ext: 3401 y 9179

Solicitud para estudio histomorfométrico en biopsia ósea metabólica

Nombre: _____ Edad: _____

Fecha de la toma: _____ Registro: _____

Especimen: _____

Fechas de la toma de tetraciclina 1ª. dosis: _____
2ª. dosis: _____

Servicio: _____ Ext: _____

Médico que solicita la biopsia: _____

Médico que toma la biopsia: _____

Protocolo: _____ Asistencial: _____

ANEXO VI



HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO “FEDERICO GÓMEZ”
CARTA DE REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

Título de proyecto:
DESEMPEÑO DIAGNÓSTICO DE LA DENSITOMETRÍA DUAL DE RAYOS X (DXA) Y EL ULTRASONIDO CUANTITATIVO (QUS) VERSUS LA BIOPSIA ÓSEA METABÓLICA, EN LA EVALUACIÓN DEL ESTADO ÓSEO EN PACIENTES PEDIÁTRICOS RECEPTORES DE TRASPLANTE RENAL.

McS. Lucía Méndez Sánchez.

Presente.

Por este conducto deseo informar mi decisión de retirar la participación de este protocolo de investigación, a mi hijo (a) por las siguientes razones:

_____.

*Si el padre-madre o tutor del paciente así lo desea, podrá solicitar que le sea entregada toda la información que se haya recabado sobre él y su hijo, y, también las muestras recabadas (de ser el caso y existir la posibilidad) con motivo de su participación en el presente estudio.

Firma del padre o tutor del paciente

Fecha

Testigo

Fecha

Testigo

Fecha

c.c.p El paciente.

ANECO VII. Listado de productividad académica

Nutrición
Hospitalaria



Nutr Hosp. 2015;32(4):1443-1453
ISSN 0212-1611 • CODEN NUHOEQ
S.V.R. 318

Revisión

Glutamina como coadyuvante en la recuperación de la fuerza muscular: revisión sistemática de la literatura

Sandra Elvia Hernández Valencia¹, Lucía Méndez Sánchez², Patricia Clark², Laura Moreno Altamirano³ y Juan Manuel Mejía Arangur^{2,4}

¹Instituto Nacional de Rehabilitación, Subdirección de Medicina del Deporte, México D.F. ²Departamento de Epidemiología Clínica, Hospital Infantil de México "Federico Gómez", México D.F. ³Departamento de Salud Pública, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. ⁴Comisión Nacional de Investigación Científica. Instituto Mexicano del Seguro Social, México D.F.

Resumen

Antecedentes: la pérdida de fuerza del músculo esquelético es frecuente tras una lesión traumática o en el postquirúrgico ortopédico. Además de los esquemas de ejercicio de fuerza y/o resistencia para su tratamiento, ha sido propuesto como auxiliar el uso de algunos aminoácidos como la glutamina (Gln), de manera aislada o combinada con otros nutrientes. Sin embargo, la información sobre la eficacia de la suplementación oral con Gln durante los esquemas de ejercicio de fuerza y/o resistencia en adultos con déficit de fuerza es inconsistente.

Objetivo: evaluar la solidez de la evidencia disponible del efecto de la suplementación oral con Gln sobre la fuerza muscular, junto con esquemas de ejercicio de fuerza y/o resistencia en adultos con déficit de fuerza muscular.

Métodos: se realizó una búsqueda sistemática en diferentes bases de datos, de ensayos clínicos reportados desde el año 1980 a 2014, en idioma inglés y español, sobre suplementación oral con Gln aislada o combinada con otros nutrientes, con grupo control, en adultos con déficit de fuerza, bajo esquemas de ejercicio de fuerza y/o resistencia, seguimiento menor a un año y fuerza muscular como desenlace primario.

Resultados: de 661 artículos, se identificaron seis estudios relevantes. El estudio con más participantes que evaluó la Gln aislada no sugiere cambios entre los grupos, solo una mejoría en la percepción de la debilidad muscular. Los estudios que evaluaron la Gln con otros nutrientes reportan resultados a favor de esta. No fue posible realizar un metanálisis.

GLUTAMINE AS AN AID IN THE RECOVERY OF MUSCLE STRENGTH: SYSTEMATIC REVIEW OF LITERATURE

Abstract

Background: after a traumatic injury or post surgical orthopedic, the loss of skeletal muscle strength is common. In addition to strength training schemes and/or resistance to treatment, it has been proposed as an additional treatment, the use of some amino acids such as glutamine (Gln) in isolation or combination with other nutrients. However, the information on the effectiveness of oral Gln supplementation during exercise strength schemes and / or endurance in adults with strength deficit is inconsistent.

Objective: to evaluate the strength of the evidence at hand about the effect of oral supplementation on muscle strength Gln set to strength training schemes and / or resistance in adult muscle strength deficit.

Methods: a systematic search was conducted in different databases, in clinical trials reported from the year 1980-2014, both in English and Spanish, about oral Gln supplementation alone or in combination with other nutrients, with a control group, in adults with strength deficits under exercise schemes of strength and / or endurance, tracking under a year and muscle power as the primary outcome.

Results: of 661 articles, six relevant studies were identified. The study participants in Gln isolation evaluation did not suggest changes between the groups, only an improvement in the perception of muscle weakness. Studies evaluating Gln with other nutrients, have reported results in favor of it. No meta-analysis was possible.

Correspondencia: Laura Moreno Altamirano.
Universidad Nacional Autónoma de México.
Facultad de Medicina, Departamento de Salud Pública.
Circuito interior, Ciudad Universitaria, Av. Universidad 3000,
CP: 04510, México D.F.
E-mail: lamore@unam.mx

Recibido: 27-V-2015.
Aceptado: 26-VI-2015.



Comparación de los valores internacionales del ultrasonido cuantitativo (QUS) vs. los valores de población mexicana: Revisión sistemática y meta-análisis

Rodolfo Rivas-Ruiz,*¹ Lucía Méndez-Sánchez,* Osvaldo D Castelán-Martínez,* Patricia Clark,* Gabriela Chico,* Juan Tamayo,¹ Juan O Talavera,^{2,3} Gerardo Huitrón,¹ Jorge Salmerón-Castro^{1,4}

* Hospital Infantil de México, Federico Gómez.-Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de México. ¹ Comité Mexicano para la Prevención de la Osteoporosis, México, D.F. ² Unidad de Investigación Educativa, Centro Médico Nacional S. XXI, IMSS, México, D.F. ³ Centro de Investigación en Ciencias Médicas, Universidad Autónoma del Estado de México. ⁴ Unidad de Investigación Epidemiológica y en Servicios de Salud, Instituto Mexicano del Seguro Social, Cuernavaca, Morelos, México. ⁵ Centro de Investigación de Salud Poblacional, Instituto Nacional de Salud Pública, Cuernavaca, Morelos, México.

RESUMEN

Antecedentes: Existe un creciente interés en el desarrollo de métodos diagnósticos, para evaluar la salud del hueso. Uno de los métodos propuestos es el ultrasonido cuantitativo (QUS). Sin embargo, su uso se ha visto obstaculizado por reportes de distintos valores de referencia, causando controversias. Recientemente se realizaron mediciones en niños sanos del altiplano mexicano, se desconoce si estos valores son distintos a las referencias de otras latitudes del país. **Objetivo:** Comparar los valores internacionales de referencia del Omnisense (QUS) en tibia y radio de la población pediátrica con los parámetros reportados en población mexicana. **Material y Métodos:** Se realizó una revisión sistemática de la literatura en bases de datos electrónicas (PUBMED, EMBASE, LILACS, Cochrane Library) y búsqueda manual de las referencias. Se incluyeron artículos donde se mencionaran los valores de referencia del QUS en población infantil. Los datos fueron extraídos por dos investigadores independientes. La calidad metodológica fue evaluada de forma similar. Los análisis se realizaron usando un modelo de diferencia de medias por efectos aleatorios, donde se compararon los valores de referencia entre los distintos países. **Resultados:** Se encontraron un total de 22 estudios de los cuales se incluyeron cinco estudios en el meta-análisis final donde se compararon los resultados de México versus otros valores de referencia. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los valores reportados para las poblaciones de Israel, Grecia y Portugal. La población mexicana resultó tener menor velocidad del sonido, con una diferencia de medias en promedio de 100 m/segundo ($p < 0.001$) entre todas las poblaciones, comparadas con la población europea. También encontramos diferencias de valores europeos al compararlos con los valores de referencia de la población americana. **Conclusiones:** El SOS medido por QUS en tibia y radio en población del altiplano mexicano y en la población americana es diferente de los reportes de estas mediciones para población griega, israelita y portuguesa. Por lo anterior concluimos que se precisa evaluar a la población mexicana con sus propios valores de referencia.

Palabras clave: Ultrasonido cuantitativo, valores de referencias, población pediátrica.

ABSTRACT

Background: There is growing interest in the development of diagnostic methods to assess bone health. One of the proposed methods is quantitative ultrasound (QUS). However, their use has been hampered by reports of different reference values, causing controversy. Recently were measured in healthy children of the Mexican plateau, it is unknown if these values are different references to other parts of the country. **Objective:** To compare the international reference values of Omnisense (QUS) tibia and radius in the pediatric population with the parameters reported in the Mexican population. **Material and Methods:** We conducted a systematic review of literature in electronic databases (PubMed, EMBASE, LILACS, Cochrane Library) and manual search of the references. We included articles that mention the reference values of QUS in children. Data were extracted by two independent investigators. The methodological quality was assessed similarly. Analyses were performed using a mean difference model random effects, comparing baseline values between countries. **Results:** We found a total of 22 studies which included five studies in the meta-analysis end where we compared the results of Mexico vs. other values. There were no statistically significant differences between the values reported for populations of Israel, Greece and Portugal. The Mexican population

Correspondencia: Lucía Méndez-Sánchez
Correo electrónico: luciamendezs@gmail.com

Recibido: Febrero 22, 2013.

Aceptado: Abril 10, 2013.



Boletín Médico del
Hospital Infantil de México

www.elsevier.es/bmhim



ARTÍCULO DE REVISIÓN

Deficiencia de vitamina D en la edad pediátrica.
Una oportunidad de prevención

Desirée López-González^a, Lucía Méndez-Sánchez^a,
Miguel Ángel Guagnelli^a y Patricia Clark^{a,b,*}

^a Unidad de Epidemiología Clínica, Hospital Infantil de México Federico Gómez, México D.F., México

^b Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., México

Recibido el 13 de diciembre de 2014; aceptado el 27 de enero de 2015

PALABRAS CLAVE

Deficiencia de
vitamina D;
Pediatria;
Adolescentes;
Ingesta diaria
recomendada;
Ingesta diaria
sugerida

Resumen La prevalencia de deficiencia de vitamina D en la población pediátrica ha incrementado en los últimos años y se considera que continúa subdiagnosticada y subtratada. De acuerdo con datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006, en México se ha estimado una prevalencia del 16% en niños de 2 a 12 años. La vitamina D desempeña un papel fundamental en la formación y homeostasis del hueso, y consecuentemente en el crecimiento. Su deficiencia se asocia con enfermedades como raquitismo y osteomalacia, y se ha relacionado con otros padecimientos, como obesidad, síndrome metabólico, diabetes, cáncer, infecciones de vías respiratorias y problemas del sistema inmune. En la literatura se han descrito grupos específicos de riesgo para deficiencia de vitamina D en los que el suplemento pudiera ofrecer un beneficio. Actualmente aún hay controversia en definir los niveles séricos de suficiencia, así como la dosis de suplemento. En México, la ingesta diaria sugerida de vitamina D es de 5.6 µg/día (224 UI), que resulta significativamente menor a las recomendaciones en los Estados Unidos y Europa (entre 400 y 1,000 UI). Debido al aumento en la deficiencia de vitamina D en los últimos años y a la falta de consenso con respecto a los niveles de suficiencia de vitamina D (ya que los valores de corte varían de 20 a 30 ng/ml considerados por la asociación de endocrinología), el objetivo de esta revisión fue proporcionar un panorama general del problema en la población pediátrica, así como describir aquellos grupos en riesgo y analizar las recomendaciones vigentes para el suplemento de vitamina D.

La deficiencia de vitamina D se ha considerado rara en México, y la falta de evidencia no ha permitido establecer las recomendaciones de ingesta diaria, de acuerdo con el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Sin embargo, hoy debe reconocerse como un problema de salud, meritorio de atención y acción. Sugerimos que se

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: osteoclark@gmail.com (P. Clark).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.bmhimx.2015.01.011>

1665-1146/© 2015 The Authors. Publicado por Masson Doyma México S.A. en nombre de Hospital Infantil de México Federico Gómez. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Cómo citar este artículo: López-González D, et al. Deficiencia de vitamina D en la edad pediátrica. Una oportunidad de prevención. Bol Med Hosp Infant Mex. 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmhimx.2015.01.011>



Post-Renal Transplantation Bone Health in Children Evaluated by Means of Quantitative Ultrasound and Densitometry

A.L. González-Jorge^a, S. Enciso^a, A. Reyes^c, A.M. Hernández^a, L. Ortiz^a, R. Aldana^a, F. Velásquez-Forero^a, R. Ambrosi^b, P. Clark^b, L. Méndez^b, R. Rivas-Ruiz^d, and M. Medeiros^{a,c,*}

^aLaboratorio de Nefrología y Metabolismo Mineral Óseo, Hospital Infantil de México Federico Gómez, México DF, México; ^bUnidad de Investigación en Epidemiología Clínica, Hospital Infantil de México Federico Gómez, México DF, México; ^cCentro de Estudios Económicos y Sociales en Salud, Hospital Infantil de México Federico Gómez, México DF, México; ^dCentro de Adiestramiento en Investigación Clínica, Coordinación de Investigación en Salud, Instituto Mexicano del Seguro Social, México DF, México; and ^eDepartamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México DF, México

ABSTRACT

Background. Patients with end-stage renal disease develop bone mineral disease, which is not always resolved after a successful renal transplantation; moreover, some of the immunosuppressants used to prevent graft rejection may affect bone health. The aim of this study was to evaluate bone health in post-renal transplantation children with the use of quantitative ultrasound (QUS) and dual-energy X-ray absorptiometry (DXA).

Methods. A descriptive study was performed in children >3 months after renal transplantation and with stable function of graft. Radial QUS and DXA (lumbar spine and total body less head (TBLH)) were performed on the same day.

Results. A total of 35 patients were included. Mean age was 13.9 ± 3.9 years. Ten subjects had total bone density score <2 (28.5%), 4 a lumbar spine (L1-L4) Z-score of <2 (11.4%) as well as TBLH <2, and 6 subjects had a radial QUS Z-score of <2 (17.1%), and only 2 of them had concomitant Z-score <2 with the use of DXA. There was a positive non-significant correlation between TBLH and radial QUS Z-scores (Pearson $r = 0.317$; $P = .016$) and a positive significant correlation of DXA lumbar spine and radial QUS Z-scores (Pearson $r = 0.452$; $P = .014$).

Conclusions. Despite a good correlation between TBLH and QUS Z-scores, there are subjects that can be considered normal by QUS and have osteopenia by TBLH DXA and vice versa; this could be due to the different bone areas evaluated.

MINERAL BONE DISORDER is common in patients with renal disease [1]. Renal transplantation is considered to be the best therapeutic option for children with end-stage renal disease; nevertheless, renal transplant patients with normal graft function persist with bone disease attributed to immunosuppressive drugs (steroids and calcineurin inhibitors). Children with solid organ transplantation are at higher risk of bone fractures [2].

Mineral bone status can be assessed in children and adolescents by means of dual-energy X-ray absorptiometry (DXA), which provides information on bone mineral content and bone mineral density. The skeletal sites recommended in children are total body less head (TBLH) and lumbar spine (L1-L4), and there are normative databases available

considering sex- and age-specific standard deviation scores (Z-scores) [3]. This technique is highly reproducible and represents a low radiation exposure. The preferred method to evaluate bone health in chronic kidney disease children is transiliac bone biopsy with the use of tetracycline labeling, which provides information on bone properties in bone formation, and bone resorption. Bone histomorphometry has a wide spectrum of bone disease (low, normal, and high

Funding: Fondos Federales, HIM/2014/009.

*Address correspondence to Mara Medeiros MD, PhD, Hospital Infantil de México Federico Gómez, Dr Márquez 162 Col Doctores, México, DF CP 06720, México. E-mail: medeiro.mara@gmail.com

Brochure

➤ **Importancia de la prevención de la deficiencia de vitamina D por medio de la suplementación a población vulnerable.**

Dra. Patricia Clark. Unidad de Epidemiología Clínica, Hospital Infantil Federico Gómez-Facultad de Medicina UNAM
MCs. Lucia Mendez-Sanchez. Unidad de Epidemiología Clínica, Hospital Infantil Federico Gómez-Facultad de Medicina UNAM
Dra. Desirée López González. Unidad de Epidemiología Clínica, Hospital Infantil Federico Gómez-Facultad de Medicina UNAM
Dr. Alfredo Reza Albarrán. Jefe del Servicio de Metabolismo Óseo y Mineral. Servicio de Endocrinología, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición.
Dra. Solange Heller R. Jefa del Departamento de Nutrición y Bioprogramación Instituto Nacional de Perinatología
Dr. Mario Flores. Jefe del Departamento de Epidemiología Nutricional. Instituto Nacional de Salud Pública
Dr. Luis Miguel Gutiérrez Robles. Director, Instituto Nacional de Geriátria

Título breve:
Suplementación
con vitamina D
Palabras Clave:
vitamina D, salud
ósea, niños

Generalidades de la vitamina D

La vitamina D desempeña un papel crítico para mantener la salud de los huesos, ya que es esencial para asegurar la absorción de calcio en el tracto gastrointestinal. Los niveles inadecuados de vitamina D reducen la absorción intestinal de calcio, lo cual disminuye las concentraciones séricas de calcio y desencadena la liberación compensadora de hormona paratiroidea (PTH, por sus siglas en inglés). Este hiperparatiroidismo secundario origina la movilización de calcio del hueso y causa una reducción en la densidad mineral ósea. La evidencia actual sugiere que los niveles inadecuados de vitamina D, que son muy comunes en las mujeres posmenopáusicas, aumentan el riesgo de fracturas.¹

El mecanismo primario por el cual la vitamina D3 lleva a cabo este papel (Figura 1), es induciendo a las proteínas involucradas en la absorción intestinal del calcio [1]. Sin embargo, cuando hay deficiencia de vitamina D, la absorción del calcio disminuye (de 30– 40% a 10–15%), y las menores concentraciones séricas de calcio aumentan la secreción de la hormona paratiroidea (PTH) (2). Asimismo, el incremento en la secreción de la PTH contrarresta los niveles bajos de calcio circulante aumentando la producción de vitamina D, y estas dos hormonas actúan en conjunto para mediar la reabsorción del calcio del riñón (3) y la movilización del calcio del hueso 4) para mantener las necesidades fisiológicas.

Importancia de la prevención de la deficiencia de
vitamina D por medio de la suplementación a
población vulnerable

En prensa

Vitamin D and not iron is the main nutrient deficiency in pre-school and school-aged children in Mexico City

Georgina Toussaint-Martínez de Castro MCs 1. Laboratorio de Investigación en Nefrología y Metabolismo Mineral Oseo. Hospital Infantil Federico Gómez

Miguel Angel Guagnelli MD. 2

Patricia Clark MD PhD Unidad de Epidemiología Clínica Hospital Infantil Federico Gómez- Facultad de Medicina UNAM Corresponding author

Lucia Méndez-Sánchez MSc. Unidad de Epidemiología Clínica Hospital Infantil Federico Gómez.

Desireé López-González MSc. Unidad de Epidemiología Clínica Hospital Infantil Federico Gómez.

Juan Francisco Galán Herrera MD

Martin Sánchez Ruíz MD

Abstract

Agradecimientos:

Unrestricted grant of Instituto Danone

Introduction

Although Vitamin D has been known for almost a century as a rickets preventing factor and its role in calcium absorption in the intestine is well known³, it has received a surge of attention during the last decade: in 2013 alone there were 1908 indexed papers containing the term in its title, a number that has increased steadily since the early 2000s². There are two main causes for this phenomenon: numerous reports of a widespread vitamin D deficiency around the world, including resurgence in developed countries, as well as findings in basic research suggesting so-called "extraskeletal effects", i.e. putative positive effects in the cardiovascular system, immune regulation, cancer prevention and global health, among others³.

Correlation between quantitative ultrasound and DXA is age-dependent: Longitudinal cross-sectional study of healthy subjects from 1 to 90 years of age.

**MÉNDEZ-SÁNCHEZ LUCIA, RIVAS-RUIZ RODOLFO, CLARK PATRICIA,
PANTIC IVAN, TAMAYO-OROZCO JUAN, TALAVERA JUAN O, HUITRÓN
GERARDO Y SALMERÓN-CASTRO JORGE.**

Running title

Correlation between QUS and DXA

Abstract

Quantitative Ultrasound (QUS) is a quick, inexpensive and non-radiating device for assessing bone quality. Nevertheless, there are some controversies about its correlation with DXA, and these disparities could be age dependent.

Objective: To correlate the values of the speed of sound in tibia (SoSt) and radius (SoSr), measured with QUS, with total body less head bone mineral density (TBLH) estimated by dual X-ray absorptiometry (DXA) in a healthy population from 1 to 90 years of age.

Methods

We performed a cross-sectional analysis of data from selected healthy volunteers participating in the baseline assessment of the Health Workers Cohort Study (HWCS). Complete somatometry, simultaneous DXA measurements (performed with Lunar DPX NT) and QUS measurements (performed with Sunlight Omnisense 8000P) were done in each subject. Pearson Correlation coefficients (r) were calculated to assess the possible correlations between TBLH and SoS.

Terminando de escribir

**Insuficiencia de vitamina D asociada a Cardiomiopatía dilatada en pacientes entre 0-24 meses.
Revisión Sistemática de la literatura.**

Autores:

Méndez-Sánchez Lucía, Zaragoza Grecia, Pérez Mariandrea, López Desireé, Clark Patricia.

Autor de correspondencia:

Unidad de Epidemiología clínica.
Hospital Infantil de México Federico Gómez.
Correo electrónico:

Palabras clave:

Vitamina D, cardiomiopatía dilatada, infantes, neonatos, revisión sistemática.

Resumen

Actualmente se desconocen la evidencia global de una asociación entre niveles séricos de vitamina D y la presencia de cardiomiopatía dilatada en población neonata/infantil a nivel nacional e internacional. Por lo anterior el objetivo del presente estudio fue evaluar la asociación entre los niveles séricos de vitamina D y la presencia de cardiopatías neonatales, por medio de una revisión sistemática de la literatura en las principales bibliotecas virtuales (PubMed y EMBASE), analizando reportes de casos clínicos y series de casos, como única evidencia disponible.

Los principales hallazgos que se reportaron en los pacientes fueron típicamente, raquitismo diagnosticado tanto clínica como radiológicamente, aumento del diámetro del ventrículo izquierdo así como una disminución en la fracción de eyección del ventrículo izquierdo..

El tratamiento y la dosis difieren en todos los casos, pero se puede decir que en su mayoría se trataba de complementos como vitamina D, calcio elemental y medicamentos inotrópicos positivos. Concluimos que al presentarse un caso de cardiomiopatía dilatada, se debe tomar en cuenta como parte del diagnóstico etiológico la hipocalcemia secundaria a deficiencia de vitamina D, debido a que es una de las pocas causas reversibles y su pronto diagnóstico mejora ampliamente el pronóstico de los pacientes.

**EFFECTO DE SUPLEMENTACIÓN CON VITAMINA D EN PEDIATRÍA PARA
ALCANZAR NIVELES DE SUFICIENCIA: REVISIÓN SISTEMÁTICA.**

**EFFECT OF VITAMIN D SUPPLEMENTATION IN CHILDREN TO REACH
LEVELS OF SUFFICIENCY: SYSTEMATIC REVIEW.**

Tipo de trabajo: artículo de revisión

*Méndez-Sánchez Lucia, Zaragoza Grecia, Hernández Vanessa, López Casimiro
Karen, Clark Patricia.*

*Unidad de Investigación en Epidemiología Clínica. Hospital Infantil de México,
Federico Gómez.*

Autor de correspondencia:

Nombre: **Dra. Patricia E. Clark Peralta**

Correo electrónico: patriciaclark@prodigy.com.mx

Teléfono: 52289917 Ext. 2525

Domicilio: Dr. Márquez No.162, Col. Doctores, Delegación Cuauhtémoc, México

D.F. C.P 06720



Cochrane
Library

Cochrane Database of Systematic Reviews

Calcium and vitamin D for increasing bone mineral density in premenopausal women (Protocol)

Méndez-Sánchez L, López Casimiro K, Winzenberg TM, Tugwell P, Clark P

Méndez-Sánchez L, López Casimiro K, Winzenberg TM, Tugwell P, Clark P.
Calcium and vitamin D for increasing bone mineral density in premenopausal women.
Cochrane Database of Systematic Reviews 2017, Issue 5. Art. No.: CD012664.
DOI: 10.1002/14651858.CD012664.

www.cochranelibrary.com

TABLE OF CONTENTS

HEADER	1
ABSTRACT	1
BACKGROUND	1
OBJECTIVES	3
METHODS	3
ACKNOWLEDGEMENTS	7
REFERENCES	8
APPENDICES	9
CONTRIBUTIONS OF AUTHORS	10
DECLARATIONS OF INTEREST	11
SOURCES OF SUPPORT	11
NOTES	11

[Intervention Protocol]

Calcium and vitamin D for increasing bone mineral density in premenopausal women

Lucía Méndez-Sánchez¹, Karen López Casimiro¹, Tania M Winzenberg², Peter Tugwell³, Patricia Clark¹

¹Clinical Epidemiology Unit, Children's Hospital of Mexico Federico Gomez, Mexico City, Mexico. ²Menzies Institute for Medical Research and Faculty of Health, University of Tasmania, Hobart, Australia. ³Department of Medicine, Faculty of Medicine, University of Ottawa, Ottawa, Canada

Contact address: Patricia Clark, Clinical Epidemiology Unit, Children's Hospital of Mexico Federico Gomez, Dr. Márquez 162. Col. Doctores, Mexico City, Distrito Federal, 06720, Mexico. osteoclark@gmail.com.

Editorial group: Cochrane Musculoskeletal Group.

Publication status and date: New, published in Issue 5, 2017.

Citation: Méndez-Sánchez L, López Casimiro K, Winzenberg TM, Tugwell P, Clark P. Calcium and vitamin D for increasing bone mineral density in premenopausal women. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2017, Issue 5. Art. No.: CD012664. DOI: 10.1002/14651858.CD012664.

Copyright © 2017 The Cochrane Collaboration. Published by John Wiley & Sons, Ltd.

ABSTRACT

This is a protocol for a Cochrane Review (Intervention). The objectives are as follows:

To assess the benefits and harms of calcium and vitamin D supplementation singly or in combination for reducing fractures and increasing bone mineral density in healthy premenopausal women.

BACKGROUND

Description of the condition

Osteoporosis (OP) is characterized by low bone mineral density (BMD) and impaired quality of bone, and is considered a major public health concern worldwide. The main consequence of low BMD is fragility fractures, mainly at the hip, spine and wrist (NIH 1993). BMD in later life is a function of peak bone mass (the maximum bone mass attained in a person's life) and the rate of subsequent bone loss (Hansen 1991). Premenopausal bone mass is as important as bone loss in the postmenopausal period for prediction of fracture. Fragility fractures may lead to excess mortality, morbidity, low quality of life, and chronic pain (Borgström 2013; Papaioannou 2010).

It is estimated that OP affects about 200 million people worldwide, and 75 million of them are from developed countries (Europe, Japan and USA) (Kanis 2007). In the year 2000, 9 million new fragility fractures occurred, including 1.6 million on the hip, 1.7 million in the wrist and 1.4 million on the spine (Johnell 2004). OP prevention is feasible and should be addressed throughout the life course, improving peak bone mass in childhood and early adult life and reducing age-related bone loss over adult life.

Description of the intervention

Dietary intake and supplementation therapy options for prevention and treatment of osteoporosis include Calcium and vitamin D. There are primarily obtained from two sources: food and supplements. Dairy products are a good source of dietary calcium. Regarding vitamin D, the main source in humans is the synthesis

in the skin through sun exposure, since vitamin D is only found in small quantities in certain foods. Calcium supplements are most commonly available as calcium citrate or calcium carbonate; vitamin D can be found as ergocalciferol (vitamin D₂) and cholecalciferol (vitamin D₃). A combination of both nutrients is available in different doses and presentations. Calcium and vitamin D supplements are also prescribed with anti-osteoporotic medications as they are thought to have additive effects. Clinical trials have been conducted in different age groups and populations, in order to assess the efficacy of this strategy.

There are Cochrane systematic reviews and meta-analyses of calcium and vitamin D supplementation for improving bone mineral density in children and postmenopausal women (Shea 2005; Winzenberg 2006; Winzenberg 2010). Currently, there is no known effect of calcium supplementation on femoral neck or lumbar spine BMD in children, but review authors found a small effect on total body bone mineral content (BMC) and upper limb BMD in this population (Winzenberg 2006). However, in their conclusion, the authors stated that the increase in BMD is unlikely to result in a clinically significant decrease in fracture risk (Winzenberg 2006). Another review showed that vitamin D supplementation had no effect on BMC, hip BMD and forearm BMD, but there was a trend to a small effect on lumbar spine BMD. The review concluded that these results do not support vitamin D supplementation to improve BMD in healthy children with normal vitamin D levels (Winzenberg 2010). Studies where the participants had low mean levels of vitamin D saw an effect of supplementation on BMD (Winzenberg 2010).

The review of calcium supplementation for postmenopausal women showed that calcium had a small effect on BMD when compared to placebo. Calcium reduced rates of bone loss after two or more years of treatment, but there was no effect seen on fracture risk (Shea 2005).

There remains some controversy in this field; Murad 2011 argues that a combination of both nutrients have a beneficial role in increasing bone density, muscle strength and a reduction of falls in the elderly. The United States Preventive Services Task Force (USPSTF), however, states that for primary prevention of fractures in postmenopausal women, there is some evidence of increased risk of cardiovascular damage that has led to disagreement about the balance of the benefits and harms of daily supplementation with more than 400 IU of vitamin D and more than 1000 mg of calcium (Moyer 2013).

In a systematic review (Malihi 2016) of the effect of long-term (> 24 weeks) vitamin D supplementation versus placebo, in both healthy and in different patient populations (adults aged over 18 years, men and women), the authors reported increased risks of hypercalcemias (RR = 1.54, 95% confidence interval (CI) 1.09 to 2.18, P = 0.01) and hypercalciuria (RR = 1.64, 95% CI 1.6 to 2.53, P = 0.03). However, in that review, the participants included a mix of different populations.

How the intervention might work

Calcium and vitamin D are simple and inexpensive interventions which potentially improve bone health. Calcium is needed for bone formation and is lost from the body (through urine and the renal system) each day, and needs to be replaced. Low serum calcium leads to increased parathyroid hormone (PTH) and increased bone loss. Therefore, maintaining adequate calcium intake is important. Vitamin D is essential for bone health, and its impact on bone health in adults is well accepted (IOM 2011). Vitamin D is integral to calcium homeostasis. It increases intestinal absorption of calcium. Bones are the main store of calcium in the body; as age increases intestinal absorption decreases.

In addition to the direct effects on bone, vitamin D has been associated with muscle strength and prevention of the risk of falls. As vitamin D receptors are found in different tissues, including muscle tissue, their activation leads to muscle protein synthesis. In this way, vitamin D supplements may improve muscle strength, and decrease the risk of falls (Bischoff-Ferrari 2009; Gupta 2010; Zhu 2010). Authors of a meta-analysis published in 2009 (Bischoff-Ferrari 2009) concluded that daily supplementation with more than 700 IU of vitamin D reduced the risk of falls in people over 65 years old (relative risk 0.81, 95% CI 0.71 to 0.92). This review had some heterogeneity in the studies included in the meta-analysis. However, in a meta-analysis performed by Murad, vitamin D supplementation had no effect on the risk of falls, regardless of dose and type of vitamin D used. Nevertheless, when vitamin D is co-administered with calcium, there is a reduction in the risk of falls in the elderly compared to placebo (odds ratio (OR) 0.83 95%CI 0.72 to 0.93). Heterogeneity was found across the studies despite using a random-effects model and subgroup analysis (Murad 2011).

Fracture risk is related to bone strength. Bone strength is contributed to by bone quantity (BMD) and bone quality. Bone quality takes into account structural and material properties, which cannot be assessed with BMD. Structural properties include geometry and microarchitecture; material properties are organization and composition of mineral and collagen components. It would be ideal to assess all the components of bone strength in order to have a better prediction of fracture risk. Nevertheless, BMD remains an important clinical measurement (Felsenberg 2005).

In addition, increased BMD in the context of other anti-osteoporotic treatments correlate with fracture risk reductions (Hochberg 1999) and BMD has been used as a surrogate outcome when assessing alternative dosage regimens for bisphosphonate (Rizzoli 2002; Winzenberg 2008). According to the Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health (CADTH) report, BMD assessed by dual energy X-ray absorptiometry (DXA) predicts fragility fracture risk with a power of the diagnostic test (expressed as area under the curve (AUC)) from 0.60 to 0.95. An AUC close to 1.0 means a perfect test (Dunfield 2007).

DXA will be the ideal method of measuring BMD and BMC in relevant studies, as it is the reference standard measure that is used

to define osteoporosis (Lewiecki 2016).

Why it is important to do this review

The effect of calcium and vitamin D on BMD and fractures has been studied in children and in postmenopausal women, but less is known about the effects of calcium and vitamin D in premenopausal women. In February 2013, the USPSTF published a systematic review and meta-analysis of the use of calcium and vitamin D supplements to prevent fractures in adults. The USPSTF stated that the evidence at that time was insufficient to assess the benefits and harms for prevention of fractures in premenopausal women (Moyer 2013). Osteoporotic fractures are unlikely in this age group (premenopausal women) so other clinical variables should be measured, such as BMD and BMC. Existing systematic reviews have not accounted for more recent studies (Moyer 2013), and others in process are not yet finished (USPSTF 2016). Other Cochrane reviews in this topic area have focused in other populations such children or postmenopausal women (Shea 2005; Winzenberg 2006; Winzenberg 2010).

An up-to-date review in this area is important because premenopause is a period where peak bone mass can be potentially maintained or even improved to prevent fragility fractures in the future (Shea 2005). Given that calcium and vitamin D are two important modifiable factors to potentially improve bone density, it is important to determine the benefits and harms of the different doses/combination to maintain or improve BMD and bone quality in premenopausal women.

This review will be conducted according to the guidelines recommended by Cochrane Musculoskeletal (Ghogomu 2014).

OBJECTIVES

To assess the benefits and harms of calcium and vitamin D supplementation singly or in combination for reducing fractures and increasing bone mineral density in healthy premenopausal women.

METHODS

Criteria for considering studies for this review

Types of studies

We will include randomized controlled trials (RCTs). Studies may be reported as full-text or published as abstract only. There will be no language restriction.

Types of participants

We will include trials in healthy premenopausal women aged 18 to 45 (and studies when the menopausal status is not specified but the age is reported), with or without vitamin D deficiency or calcium. Healthy women are defined as women with no known osteoporosis (OP) or osteopenia and without any chronic disease, cardiovascular condition, or autoimmune or inflammatory disease (e.g. rheumatoid arthritis, osteoarthritis, fibromyalgia, multiple sclerosis, systemic lupus erythematosus, diabetes mellitus and asthma).

We will exclude studies in pregnant and lactating women, in participants with coexisting medical conditions and with corticoid steroid-induced or other secondary causes of osteoporosis. When studies include also male participants, we will exclude them if information by sex cannot be extracted separately.

Types of interventions

We will include trials comparing calcium and vitamin D with placebo, focusing on three comparisons (regardless of type or dose of supplementation).

1. Calcium versus placebo.
2. Vitamin D versus placebo.
3. Calcium + vitamin D versus placebo.

We will conduct other subgroup analyses if needed (i.e. calcium plus vitamin D versus vitamin D alone, or calcium alone). We will exclude trials with a treatment period of less than three months.

We will exclude the following cointerventions of specific anti-osteoporosis therapy such as bisphosphonate, hormone replacement therapy, parathyroid hormone, selective estrogenic receptor modulators (SERMs), and strontium ranelate.

Types of outcome measures

Major outcomes

1. Total hip BMD.
2. Lumbar spine BMD.
3. Quality of life.
4. Vertebral fractures.
5. Non-vertebral fractures.
6. Withdrawals due to adverse events.
7. Serious adverse events (i.e., hospitalizations, or those resulting in disability or death).

Minor outcomes

1. We will collect data about all adverse events and all harm reported.

Search methods for identification of studies

Electronic searches

We will design a search strategy for the following databases.

- Cochrane Library via Wiley including CENTRAL, and Database of Reviews of Effects (DARE).
- MEDLINE via Ovid (1946 to present).
- Embase via Ovid (1947 to present).

The electronic search strategy for MEDLINE is outlined in [Appendix 1](#). We will adapt this search strategy for use with other databases. We used the 'sensitivity and precision maximising version' filter designed to identify clinical trials described by [Lefebvre 2009](#).

For assessments of adverse effects, we will search the web sites of the regulatory agencies US Food and Drug Administration-MedWatch (www.fda.gov/Safety/MedWatch/default.htm), European Medicines Evaluation Agency (www.emea.europa.eu), Australian Adverse Drug Reactions Bulletin (www.tga.gov.au/adr/aadrb.htm), and UK Medicines and Healthcare products Regulatory Agency (MHRA) pharmacovigilance and drug safety updates (www.mhra.gov.uk).

We will also conduct a search of clinicaltrials.gov and the WHO trials portal (www.who.int/ictrp/en/).

We will search all databases from their inception to the present, and we will impose no restriction on language of publication.

Searching other resources

Unpublished results

We will search clinical trial registries for unpublished data. To obtain further information, we will contact the authors of studies on clinical registers or with results given only in graphic format or reported only as abstracts. If data are not available after contacting authors, the study will be described in the evidence table, but we will not include it in the meta-analysis.

Reference list scanning

We will search the reference lists of other reviews that are related in terms of the interventions and outcomes, and also search the reference lists of the included studies of this review.

Handsearching

We will handsearch conference abstract issues of key journals (Osteoporosis International, Journal of Bone and Mineral Research, Calcified Tissue International, Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, American Journal of Clinical Nutrition, European Journal of Clinical Nutrition, Journal of Nutrition, British

Journal of Nutrition) for the past two years, to identify recent trials that have not yet been published in full.

We will search for errata or retractions from included studies published in full text on PubMed (www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed) and report the date this was done within the review.

Data collection and analysis

Selection of studies

Two review authors (LM-S and PC) will independently screen titles and abstracts of all of the potentially relevant studies we identify as a result of the search, and code them as 'retrieve' (eligible or potentially eligible/unclear) or 'do not retrieve'. We will retrieve the full-text study reports/publication and two review authors (LM-S and PC) will screen the full text and identify studies for inclusion, and identify and record reasons for exclusion of the ineligible studies. We will resolve any disagreement through discussion or, if required, we will consult a third person (TW). We will identify and exclude duplicates and collate multiple reports of the same study so that each study, rather than each report, is the unit of interest in the review. We will record the selection process in sufficient detail to complete a PRISMA flow diagram (prisma-statement.org/PRISMAStatement/Default.aspx) and 'Characteristics of excluded studies' table.

Data extraction and management

We will use a data collection form for study characteristics and outcome data, which has been piloted on at least one study in the review. One review author (LM-S) will extract study characteristics from included studies. A second review author (PC) will spot-check study characteristics for accuracy against the trial report. We will extract the following study characteristics.

1. Methods: study design, total duration of study, details of any 'run-in' period, number of study centres and location (country), study setting, withdrawals, and date of study.
2. Participants: sample size, mean age, age range, sex, ethnicity, baseline BMD, vitamin D status (if available), calcium and vitamin D intake (if available) and baseline data; inclusion criteria, and exclusion criteria.
3. Interventions: types of interventions (calcium alone, vitamin D alone or calcium plus vitamin D); comparison (versus placebo, or one of the interventions alone). If data are available we will report other alternative comparisons (i.e. calcium plus vitamin D versus vitamin D alone, or calcium alone). We will report dosage or type of vitamin D used (ergocalciferol or cholecalciferol), dosage and type of calcium supplement given, supplementation period and concomitant medications. We will exclude comparisons with other interventions, but we will report the type of comparisons found.

4. Outcomes: in all cases, we will extract both final and change from baseline values, but only the final value will be used. If data are analysed based on an intention-to-treat (ITT) or per-protocol (PP) sample, only the PP values will be used in the final analysis. For dichotomous outcomes we will extract the number of events and number of participants per treatment group. For fractures and adverse events, we will extract data on both the number of events and the number of participants sustaining at least one event (for the analysis we will use the final value).

For continuous outcomes we will extract data as follows.

- Change in BMD: at the total hip and lumbar spine; we will extract means and standard deviations of the percentage of change and the number of participants per treatment group (for the analysis we will use the final change data per treatment group).
- Quality of life: we will extract means and standard deviations and number of participants in each treatment group in units expressed by the specific scale (we will use the final change data).

Only crude results will be extracted, not adjusted results.

If multiple time points are reported, the information on all time points will be extracted. We will analyse the effect by short-term supplementation (< 12 months) and long-term supplementation (\geq 12 months), for pooling in a meta-analysis.

When hip and vertebral data are available we will conduct analyses separately by intervention, population and dosage, type of vitamin D used (ergocalciferol or cholecalciferol) and type of calcium supplement given.

5. Characteristics of the design of the trial as outlined below in the [Assessment of risk of bias in included studies](#) section. We will note in the 'Characteristics of included studies' table if outcome data were not reported in a usable way and when data were transformed or estimated from a graph.

6. Notes: The trial funding and conflicts of interest of the trial will be described.

We will resolve disagreements by consensus or by involving a third person (PT). One review author (LM-S) will transfer data into the Review Manager ([Review Manager 2014](#)) file. We will double-check that data are entered correctly by comparing the data presented in the systematic review with the study reports.

We will use specific software ([Plot Digitizer 2016](#)) to extract data from graphs or figures. These data will also be extracted in duplicate.

Assessment of risk of bias in included studies

Two review authors (LM-S and PC) will independently assess the risk of bias for each study using the criteria outlined in the *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* ([Higgins 2011](#)). Disagreements will be resolved by discussion or by involving another author (PT). We will assess the risk of bias according to the following domains.

1. Random sequence generation (selection bias).
2. Allocation concealment (selection bias).
3. Blinding of participants and personnel (performance bias).
4. Blinding of outcome assessment (detection bias).
5. Incomplete outcome data (attrition bias).
6. Selective outcome reporting (reporting bias).

We will grade each potential source of bias as high, low or unclear risk, and provide a quote from the study report together with a justification for our judgment in the 'Risk of bias' table. We will summarize the 'Risk of bias' judgments across different studies for each of the domains listed. As well, we will consider the impact of missing data on key outcomes.

In the case of a lack of important study information, we will contact authors to obtain the information needed, using open-ended questions. Where the information on risk of bias comes from unpublished data or correspondence with trial lists, we will note this in the 'Risk of bias' table.

When considering treatment effects, we will take into account the risk of bias for the studies that contribute to that outcome.

We will present the figures generated by the 'Risk of bias' tool to provide summary assessments of the risk of bias.

Assesment of bias in conducting the systematic review

We will conduct the review according to this published protocol and report any deviations from it in the 'Differences between protocol and review' section of the systematic review.

Measures of treatment effect

We will analyse dichotomous data as risk ratios or Peto odds ratios when the outcome is a rare event (approximately less than 10%), and use 95% confidence intervals (CIs). Continuous data will be analysed as mean difference (MD) or standardized mean difference (SMD), depending on whether the same scale is used to measure an outcome, and 95% CIs. We will enter data presented as a scale with a consistent direction of effect across studies.

When different scales are used to measure the same conceptual outcome (e.g. quality of life), SMDs will be calculated instead, with corresponding 95% CIs. SMDs will be back-translated to a typical scale (e.g. 0 to 10 for quality of life) by multiplying the SMD by a typical among-person standard deviation (e.g. the standard deviation of one instrument validated from the scale most used in the trials (*Health Assessment Quality, SF-36*, etc.)) as per chapter 12 of the *Cochrane Handbook* ([Schünemann 2011](#)).

In the 'Effects of interventions' results section and the 'Comments' column of the 'Summary of findings' table, we will provide the absolute per cent difference, the relative per cent change from baseline, and the number needed to treat for an additional beneficial (NNTB) or harmful (NNTH) outcome. The NNT will be provided only when the outcome shows a statistically significant difference.

For dichotomous outcomes, the NNTB will be calculated from the control group event rate and the relative risk using the Visual Rx NNT calculator (Cates 2008). The NNTB for continuous measures will be calculated using the Wells calculator.

For dichotomous outcomes, the absolute risk difference will be calculated using the risk difference statistic in RevMan software (Review Manager 2014), and the result expressed as a percentage. The relative per cent change will be calculated as the risk ratio - 1 and expressed as a percentage.

For continuous outcomes, the absolute benefit will be calculated as the improvement in the intervention group minus the improvement in the control group, in the original units expressed as a percentage.

Unit of analysis issues

Where multiple trial arms are reported in a single trial, we will include only the relevant arms. If two comparisons (e.g. calcium versus placebo and vitamin D versus placebo) are combined in the same meta-analysis, we will halve the control group to avoid double-counting. If the same comparisons (e.g. vitamin D versus different dosages of vitamin D) are combined in the same meta-analysis, we will separate by dose and comparison group. For the meta-analysis we will follow the procedures recommended in the *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* (Deeks 2011).

Dealing with missing data

We will contact investigators or study sponsors in order to verify key study characteristics and obtain missing numerical outcome data when possible (e.g. when a study is identified as abstract only, when data are not available for all participants or the data are in a graphical analysis or adjusted). When this is not possible, and the missing data are thought to introduce serious bias, we will explore the impact of including such studies in the overall assessment of results by conducting a sensitivity analysis. Any assumptions and imputations to handle missing data will be clearly described and the effect of imputation will be explored by sensitivity analyses.

For dichotomous outcomes (e.g. number of withdrawals due to adverse events), the withdrawal rate will be calculated using the number of patients randomised in the group as the denominator. For continuous outcomes (e.g. mean change in BMD), we will calculate the MD or SMD based on the number of patients analysed at that time point. If the number of patients analysed is not presented for each time point, the number of randomised patients in each group at baseline will be used.

Where feasible, we will compute missing standard deviations from other statistics such as standard errors, CIs or P values, according to the methods recommended in the *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* (Higgins 2011b). If standard deviations cannot be calculated, we will impute them (e.g. from other studies in the meta-analysis).

Assessment of heterogeneity

Clinical and methodological diversity will be assessed in terms of participants, interventions, outcomes and study characteristics for the included studies to determine whether a meta-analysis is appropriate. This will be conducted by observing these data from the data extraction tables. Statistical heterogeneity will be assessed using the I^2 and Chi^2 statistical tests.

As recommended in the *Cochrane Handbook* (Deeks 2011), the interpretation of an I^2 value of 0% to 40% might 'not be important'; 30% to 60% may represent 'moderate' heterogeneity; 50% to 90% may represent 'substantial' heterogeneity; and 75% to 100% represents 'considerable' heterogeneity. As noted in the *Cochrane Handbook*, we will keep in mind that the importance of I^2 depends on: (i) magnitude and direction of effects; and (ii) strength of evidence for heterogeneity. The Chi^2 test will be interpreted where a P value ≤ 0.10 indicates evidence of statistical heterogeneity.

If we identify substantial heterogeneity we will report it and investigate possible causes by following the recommendations in section 9.6 of the *Cochrane Handbook* (Deeks 2011).

Assessment of reporting biases

We will create and examine a funnel plot to explore possible small study biases. In interpreting funnel plots, we will examine the different possible reasons for funnel plot asymmetry as outlined in section 10.4 of the *Cochrane Handbook* and relate this to the results of the review. If we are able to pool more than 10 trials, we will undertake formal statistical tests to investigate funnel plot asymmetry, and will follow the recommendations in section 10.4 of the *Handbook* (Sterne 2011).

To assess outcome reporting bias, we will check trial protocols against published reports. For studies published after 1 July 2005, we will screen the Clinical Trial Register at the International Clinical Trials Registry Platform of the World Health Organisation (apps.who.int/trialssearch) for the a priori trial protocol. We will evaluate whether selective reporting of outcomes is present.

Data synthesis

We will undertake meta-analyses only where this is meaningful, i.e. if the treatments, participants and the underlying clinical question are similar enough for pooling to make sense.

We will use a random-effects model and perform a sensitivity analysis with a fixed-effect model.

The primary analysis for our reviews for self-reported outcomes (e.g. quality of life) will be restricted to trials at low risk of detection and selection bias.

'Summary of findings' tables

We will create a 'Summary of findings' table using the following outcomes.

Major outcomes

1. Total hip BMD.
2. Lumbar spine BMD.
3. Quality of life.
4. Vertebral fractures.
5. Non-vertebral fractures.
6. Withdrawals due to adverse events.
7. Serious adverse events (i.e., hospitalizations, or those resulting in disability or death).

Minor outcomes

1. We will collect data about all adverse events and all harm reported.

Two people (LM-S and PC) will independently assess the quality of the evidence. We will use the five GRADE considerations (study limitations, consistency of effect, imprecision, indirectness and publication bias) to assess the quality of a body of evidence as it relates to the studies which contribute data to the meta-analyses for the prespecified outcomes, and report the quality of evidence as high, moderate, low, or very low. We will consider the following criteria for upgrading the quality of evidence, if appropriate: large effect, dose-response gradient, and plausible confounding effect. We will use methods and recommendations described in sections 8.5 and 8.7, and chapters 11 and 12, of the *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* (Higgins 2011; Schünemann 2011). We will use GRADEpro software to prepare the 'Summary of findings' tables (GRADEpro GDT 2016). We will justify all decisions to down- or up-grade the quality of studies using footnotes and we will make comments to aid the reader's understanding of the review where necessary. We will provide the NNTB or NNTH, and absolute and relative per cent change in the Comments column of the 'Summary of findings' table, as described in the [Measures of treatment effect](#) section.

Subgroup analysis and investigation of heterogeneity

We will plan to carry out the following subgroup analyses for all major outcomes.

1. Dosage groups according to the results reported. We will follow the recommended dosages given by the Institute of Medicine (IOM 2011).

Vitamin D:

- ≤ 600 IU
- > 600 IU

Calcium:

- ≤ 1000 mg
- > 1000 mg

2. Types of interventions

- Calcium versus placebo
- Vitamin D versus placebo
- Calcium plus vitamin D versus placebo

3. Supplementation time

- Short term < 12 months
- Long term ≥ 12 months

4. Baseline vitamin D levels and baseline dietary calcium intake (if these are available), following the values established by the Institute of Medicine (IOM 2011).

- Sufficiency > 30 ng/ml
- Insufficiency 11 to 29 ng/ml
- Deficiency < 10 ng/ml

We will use the formal test for subgroup interactions in Review Manager (Review Manager 2014) and will use caution in the interpretation of subgroup analyses as advised in section 9.6 of the *Handbook* (Deeks 2011). The magnitude of the effects we will be compared between the subgroups by means of assessing the overlap of the confidence intervals (CIs) of the summary estimated. Non-overlap of the CIs indicates statistical significance.

Sensitivity analysis

We plan to carry out the following sensitivity analyses to investigate the robustness of the treatment effects.

1. We plan to carry out a sensitivity analysis to investigate the robustness of the treatment effects, by omitting trials where unpublished data and/or data imputed from figures or from other studies were used.

ACKNOWLEDGEMENTS

Lucía Méndez-Sánchez (LM-S) is grateful for her training in Systematic Reviews at the University of Ottawa and to the Ph.D. Program in Health Sciences from the Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) with the support of the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) as a Ph.D. student.

Special thanks to Gabriela Chico, for contributing to the registration of the review.

Special thanks to Drs Lara Maxwell and Jordi Pardo Pardo, for their contribution and comments to this protocol.

REFERENCES

Additional references

Bischoff-Ferrari 2009

Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Staehelin HB, Orav JE, Stuck AE, Theiler R, et al. Fall prevention with supplemental and active forms of vitamin D: a meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ* 2009;**339**:1–11. [DOI: 10.1136/bmj.b3692]

Borgström 2013

Borgström F, Lekander I, Ivergård M, Ström O, Svedbom A, Alekna V. The International Costs and Utilities Related to Osteoporotic Fractures Study (ICUROS)—quality of life during the first 4 months after fracture. *Osteoporosis International* 2013;**24**(3):811–23.

Cates 2008 [Computer program]

Cates C. Visual Rx. Version 3. www.nntonline.net, 2008.

Deeks 2011

Deeks JJ, Higgins JPT, Altman DG. Chapter 9: Analysing data and undertaking meta-analyses. In: Higgins JP, Green S, editor(s). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* Version 5.1.0 (updated March 2011). The Cochrane Collaboration, 2011. The Cochrane Collaboration., Available from handbook.cochrane.org.

Dunfield 2007

Dunfield L, Mierzwinski-Urban M, Hodgson A, Banks R. Diagnostic performance and cost effectiveness of technologies to measure bone mineral density in postmenopausal women. [Technology report number 94] Ottawa: Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health 2007.

Felsenberg 2005

Felsenberg D, Boonen S. The bone quality framework: determinants of bone strength and their interrelationships, and implications for osteoporosis management. *Clinical Therapeutics* 2005;**27**(1):1–11.

Ghogomu 2014

Ghogomu EA, Maxwell LJ, Buchbinder R, Rader T, Pardo Pardo J, Johnston RV, et al. Updated method guidelines for Cochrane musculoskeletal group systematic reviews and meta-analyses. *Journal of Rheumatology* 2014 Feb;**41**(2):194–205.

GRADEpro GDT 2016 [Computer program]

GRADE Working Group, McMaster University. GRADEpro GDT. Version accessed 4 November 2016. Hamilton (ON): GRADE Working Group, McMaster University, 2014.

Gupta 2010

Gupta R, Sharma U, Gupta N, Kalaivani M, Singh U, Guleria R. Effect of cholecalciferol and calcium supplementation on muscle strength and energy metabolism in vitamin D deficient Asian Indians: a randomised, controlled trial. *Clinical Endocrinology* 2010;**73**(4):445–51.

Hansen 1991

Hansen MA, Overgaard K, Riis BJ, Christiansen C. Role of peak bone mass and bone loss in postmenopausal osteoporosis: 12-year study. *BMJ* 1991;**303**:961–4.

Higgins 2011

Higgins JPT, Altman DG, Sterne JAC. Chapter 8: Assessing risk of bias in included studies. In: Higgins JP, Green S, editor(s). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* Version 5.1.0 (updated March 2011). The Cochrane Collaboration, 2011. Available from handbook.cochrane.org. The Cochrane Collaboration.

Higgins 2011b

Higgins JPT, Deeks JJ, Altman DG. Chapter 16: Special topics in statistics. In: Higgins JP, Green S, editor (s). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* Version 5.1.0 (updated March 2011). The Cochrane Collaboration, 2011 Available from handbook.cochrane.org.

Hochberg 1999

Hochberg MC, Ross PD, Black D, Cummings SR, Genant HK, Nevitt MC, et al. Larger increases in bone mineral density during alendronate therapy are associated with a lower risk of new vertebral fractures in women with postmenopausal osteoporosis. Fracture Intervention Trial Research Group. *Arthritis and Rheumatism* Jun 1999;**42**(6):1246–54.

IOM 2011

Institute of Medicine. *Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D*. Washington (DC): National Academies Press, 2011. [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK56070/]

Johnell 2004

Johnell O, Kanis JA. An estimate of the worldwide prevalence, mortality and disability associated with hip fracture. *Osteoporosis International* 2004;**15**(11):897–902.

Kanis 2007

Kanis JA, on behalf of the World Health Organization Scientific Group (2007). Assessment of osteoporosis at primary health-care level. Technical Report. World Health Organization Collaborating Centre for Metabolic Bone Diseases, University of Sheffield, UK 2007:337.

Lewiecki 2016

Lewiecki EM, Binkley N, Morgan SL, Shuhart CR, Camargos BM, Carey JJ, et al. Best practices for dual-energy X-ray absorptiometry measurement and reporting: International Society for Clinical Densitometry Guidance. *Journal of Clinical Densitometry* 2016;**19**(2):127–40. [PUBMED: 27020004]

Malihi 2016

Malihi Z, Wu Z, Stewart AW, Lawes CM, Scragg R. Hypercalcemia, hypercalciuria, and kidney stones in long-term studies of vitamin D supplementation: a systematic review and meta-analysis. *American Journal of Clinical Nutrition* 2016;**104**(4):1034–51.

Moyer 2013

Moyer VA, on behalf of the U.S. Preventive Services Task Force. Vitamin D and calcium supplementation to prevent fractures in adults: U.S. Preventive Services Task Force recommendation statement. *Annals of Internal Medicine* 2013 May;**158**(9):691–6.

Murad 2011

Murad MH, Elamin KB, Abu-Elnoor NO, Elamin MB, Alkatib AA, Fatourechi MM, et al. Clinical review: the effect of vitamin D on falls: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2011;**96**(10):2997–3006.

NIH 1993

National Institutes of Health. Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. *American Journal of Medicine* 1993;**94**:646–50.

Papaioannou 2010

Papaioannou A, Morin S, Cheung A, Atkinson S, Brown JP, Feldman S, et al. 2010 clinical practice guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis in Canada: summary. *Canadian Medical Association Journal* 2010;**182**(17):1829–30.

Plot Digitizer 2016 [Computer program]

Free Software Foundation. Plot Digitizer [Plot Digitizer]. Version Accessed 14 November 2016. Not available: Free Software Foundation, Created: June 3, 2001; Modified: October 24, 2015. [plotdigitizer.sourceforge.net]

Review Manager 2014 [Computer program]

Nordic Cochrane Centre, The Cochrane Collaboration. Review Manager (RevMan). Version 5.3. Copenhagen: Nordic Cochrane Centre, The Cochrane Collaboration, 2014.

Rizzoli 2002

Rizzoli R. Two-year results of once-weekly administration of alendronate 70 mg for the treatment of postmenopausal osteoporosis. *Journal of Bone and Mineral Research* 2002;**17**(11):1988–96.

Schünemann 2011

Schünemann HJ, Oxman AD, Vist GE, Higgins JPT, Deeks JJ, Glasziou P, et al. Chapter 12: Presenting results and 'Summary of findings' tables. In: Higgins JP, Green S, editor(s). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* Version 5.1.0 (updated March 2011). The Cochrane Collaboration, 2011.. The Cochrane Collaboration, Available from handbook.cochrane.org.

Shea 2005

Shea BJ, Adachi JD, Cranney A, Griffith L, Guyatt G, Hamel C, et al. Calcium supplementation on bone loss in postmenopausal women. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2005, Issue 4. [DOI: 10.1002/14651858.CD004526.pub2]

Sterne 2011

Sterne JAC, Egger M, Moher D. Chapter 10: Addressing reporting biases. In: Higgins JP, Green S, editor (s). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* Version 5.1.0 (updated March 2011). The Cochrane Collaboration, 2011.. The Cochrane Collaboration, Available from handbook.cochrane.org.

USPSTF 2016

United States Preventive Services Task Force. Final Research Plan for Vitamin D, Calcium, or Combined Supplementation for the Primary Prevention of Fractures in Adults: Preventive Medication. www.uspreventiveservicestaskforce.org/Page/Document/final-research-plan/vitamin-d-calcium-or-combined-supplementation-for-the-primary-prevention-of-fractures-in-adults-preventive-medication (accessed 18 April 2017).

Winzenberg 2006

Winzenberg TM, Shaw KA, Fryer J, Jones G. Calcium supplementation for improving bone mineral density in children. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2006, Issue 2. [DOI: 10.1002/14651858.CD005119.pub2]

Winzenberg 2008

Winzenberg T, Jones G. Chapter 16: Calcium and other nutrients during growth. In: Editors (Wiley-Blackwell, UK) 2013 editor(s). *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*. 8th Edition. American Society for Bone and Mineral Research, 2008:82–86.

Winzenberg 2010

Winzenberg TM, Powell S, Shaw KA, Jones G. Vitamin D supplementation for improving bone mineral density in children. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2010, Issue 10. [DOI: 10.1002/14651858.CD006944.pub2]

Zhu 2010

Zhu K, Austin N, Devine A, Bruce D, Prince RL. A randomised controlled trial of the effects of vitamin D on muscle strength and mobility in older women with vitamin D insufficiency. *Journal of the American Geriatrics Society* 2010;**58**(11):2063–8.

* Indicates the major publication for the study

APPENDICES

Appendix I. MEDLINE search strategy

Ovid MEDLINE(R) 1946 to present

Strategy:

1. exp vitamin d/
2. vitamin d.tw.
3. vitamin d2.tw.
4. vitamin d3.tw.
5. exp Ergocalciferols/
6. ergocalciferol\$.tw.
7. exp Cholecalciferol/
8. cholecalciferol.tw.
9. hydroxycholecalciferol.tw.
10. calcitriol.tw.
11. dihydroxyvitamin D3.tw.
12. alphacalcidol.tw.
13. Calcium, Dietary/ or Calcium/
14. calcium.tw.
15. Calcium carbonate/
16. Calcium citrate/
17. or/1-16
18. exp Osteoporosis/
19. (bone adj3 loss).tw.
20. (bone adj3 mineral).tw.
21. bone mineral densit\$.tw.
22. bmd.tw.
23. bmc.tw.
24. osteop\$.tw.
25. Fractures, Bone/
26. exp Osteoporotic Fractures/
27. fractur\$.tw.
28. or/18-27
29. randomized controlled trial.pt.
30. controlled clinical trial.pt.
31. randomized.ab.
32. placebo.ab.
33. clinical trials as topic.sh.
34. randomly.ab.
35. trial.ti.
36. or/29-35
37. exp animals/ not humans.sh.
38. 36 not 37

CONTRIBUTIONS OF AUTHORS

- Conceiving, designing and coordinating the review: Lucia Méndez-Sánchez (LM-S), Patricia Clark (PC), Tania Winzenberg (TW), Peter Tugwell (PT).
- Designing protocol, search strategies and undertaking searches: LM-S, PC, TW, PT.
- Editor of English language in the protocol: TW.
- Screening search results and retrieved papers against inclusion criteria: LM-S, PC.
- Appraising quality of papers: LM-S, PC.
- Extracting data from papers: LM-S, PC, PT.
- Writing to authors of papers for additional information: LM-S, PC, PT.
- Data management for the review and entering data into RevMan: LM-S, PC, PT.
- Analysis and interpretation of data: LM-S, PC, TW, PT.
- Providing a research perspective: PC, TW, PT.
- Writing the review: LM-S, PC, TW, PT.
- Providing general advice on the review: LM-S, PC, TW, PT.
- Performing previous work that was the foundation of the current review: LM-S, PC, TW, PT.

DECLARATIONS OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

SOURCES OF SUPPORT

Internal sources

- National Council of Science and Technology (CONACYT), Mexico.
CONACYT funded the training of Lucía Méndez-Sánchez at University of Ottawa

External sources

- No sources of support supplied

NOTES

This protocol is based on a template developed by Cochrane Musculoskeletal's editorial base.



Trabajo Original

Pediatría

Vitamin D, not iron, is the main nutrient deficiency in pre-school and school-aged children in Mexico City: a cross-sectional study

La vitamina D, y no el hierro, es la principal deficiencia nutricional en niños preescolares y escolares en la ciudad de México: un estudio transversal

Georgina Toussaint-Martínez de Castro¹, Miguel Ángel Guagnelli², Patricia Clark², Lucía Méndez-Sánchez², Desireé López-González², Juan-Francisco Galán-Herrera³ and Martín Sánchez-Ruiz⁴

¹Laboratorio de Investigación en Nefrología y Metabolismo Mineral Óseo. Hospital Infantil Federico Gómez. México City. ²Unidad de Epidemiología Clínica. Hospital Infantil Federico Gómez. Facultad de Medicina UNAM. México City. ³Centro de Investigación Farmacológica y Biotecnológica (CIFBIOTEC) Médica Sur. Hospital General Valle de Chalco Solidaridad Xico "Dr. Fernando Quiroz Gutiérrez" (I.S.E.M.). ⁴Hospital General de Ecatepec "Las Américas" (I.S.E.M). Estado de México.

Abstract

Introduction: In 2012, the Mexican National Health Survey (ENSANUT 2012) showed a moderate prevalence rate of vitamin D deficiency, around 16%, in a national representative sample of children. A decreasing prevalence of anemia during the last 15 years has been observed in Mexico. The aim of this study was to determine the levels of vitamin D in children 3-8 years old in four different locations within the metropolitan area of Mexico City and to compare them to levels of iron and zinc as references of nutritional status.

Methods: One hundred and seventeen healthy children aged 3-8 years attending four hospitals in Mexico City were invited to participate. All children received medical and nutritional evaluation, and blood samples were obtained.

Results: Children were selected in four hospitals between April and August 2008. More than half (51.3%) were boys; their average age was 5.5 ± 1.6 years. The prevalence of subjects with deficient levels of 25-OH-vitamin D (< 50 nmol/L) was 24.77%. None of the children had haemoglobin levels below the anaemia threshold, and zinc determination revealed 8.26% of individuals with deficient levels (< 65 µg/dL). These data confirm the findings reported in ENSANUT about the sustained reduction of anaemia prevalence among preschool and schoolchildren and the rising rates of vitamin D deficiency in the same population. Similar to other studies, we found a link between socioeconomic status and micronutrient deficiency, these being markers of better nutrition, and vitamin D is remarkably related to the quality of the diet. This finding has not been considered in our population before.

Conclusions: There is evidence of a sustained decrease of anaemia in Mexican children due to general enrichment of foods and focus on vulnerable populations, while vitamin D deficiency seems to have increased. More studies are needed to obtain more information on vitamin D levels at different ages and definition of susceptible groups in order to investigate the possibility of general population measures such as enrichment, which have proven to be effective.

Key words:

Vitamin D. Iron.
Deficiency. Children.
Anaemia.

Resumen

Introducción: en 2012 la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) mostró una prevalencia moderada de deficiencia de vitamina D, alrededor del 16%, en una muestra de niños representativa del país. A su vez, la anemia carencial ha disminuido durante los últimos 15 años en México. El objetivo del presente estudio fue determinar los niveles de vitamina D en niños de 3 a 8 años de edad en cuatro diferentes regiones dentro del área metropolitana de la Ciudad de México y compararlos con los niveles de hierro y zinc como referentes del estado nutricional.

Métodos: ciento diecisiete niños sanos de 3 a 8 años de edad que regularmente asisten a cuatro diferentes hospitales en la Ciudad de México fueron invitados a participar. Todos los niños recibieron una evaluación médica y nutricional, y se obtuvieron muestras de sangre.

Resultados: se reclutaron niños en los cuatro hospitales entre abril y agosto del 2008. Más de la mitad (51,3% fueron niños, su edad promedio fue de $5,5 \pm 1,6$ años. La prevalencia de sujetos con niveles deficientes de 25-OH-vitamina D (< 50 nmol/l) fue de 24,77%. Ninguno de los niños tuvo niveles de hemoglobina por debajo del umbral de la anemia y la determinación de zinc reveló que 8,26% de los individuos tenían niveles deficientes (< 65 µg/dl). Estos datos confirman los hallazgos reportados en el ENSANUT acerca de la reducción sostenida en la prevalencia de anemia en escolares y preescolares, pero también muestran que se eleva la deficiencia de vitamina D en esta población. De forma similar a otros estudios, encontramos un vínculo entre el estatus socioeconómico y la deficiencia de micronutrientes en tanto que estos son marcadores de mejor estado nutricional y la vitamina D se relaciona notablemente con la calidad de la dieta. Estos hallazgos no se han considerado previamente en nuestra población.

Conclusiones: existen datos que sugieren una disminución progresiva de la anemia en niños mexicanos debido a una fortificación general de los alimentos y el enfoque en población vulnerable, mientras que la deficiencia de vitamina D parece haber incrementado. Se requieren más estudios para obtener más información acerca de los niveles de vitamina D en distintos grupos de edad y definir a los grupos susceptibles para investigar la posibilidad de llevar a cabo medidas de impacto en la población general como enriquecimiento de alimentos, que ha probado ser efectiva en otros nutrimentos.

Palabras clave:

Vitamina D. Hierro.
Deficiencia. Niños.
Anemia.

Received: 02/11/2015
Accepted: 01/02/2016

Toussaint-Martínez de Castro G, Guagnelli MA, Clark P, Méndez-Sánchez L, López-González D, Galán-Herrera JF, Sánchez-Ruiz M. Vitamin D, not iron, is the main nutrient deficiency in pre-school and school-aged children in Mexico City: a cross-sectional study. Nutr Hosp 2016;33:794-800

DOI: <http://dx.doi.org/10.20960/nh.372>

Correspondence:

Patricia Clark. Faculty of Medicine, UNAM. Hospital Infantil Federico Gómez. Dr. Márquez 162, Cuahatemoc, Doctores. C.P. 06720 Mexico City, Mexico
e-mail: patriciaclark@prodigy.net.mx

INTRODUCTION

Although vitamin D has been known for almost a century as a rickets-preventing factor, and its role in calcium absorption in the intestine is well known (1), it has received a surge of attention during the last decade: In 2015 alone, there were 4350 indexed papers containing the words vitamin D in its title, a number that has increased steadily since the early 2000s (2). There are two main causes for this phenomenon: Numerous reports of a widespread vitamin D deficiency around the world, including a resurgence in developed countries as well as findings in basic research, suggest so-called extraskeletal effects (i.e., putative positive effects in the cardiovascular system, immune regulation, cancer prevention and global health, among others) (3).

Although these latter findings are a subject of intense debate and research, vitamin D deficiency is a matter of great concern because of the implications for bone health and calcium metabolism, besides possible effects on other systems. Children and pregnant women are among the most susceptible groups for developing vitamin D deficiency; a number of reports on the re-emergence of once-forgotten rickets, cases of neonatal seizures due to hypocalcemia caused by vitamin D deficiency, and cases of the metabolic syndrome in newborns are the hallmark of the vulnerability of this group (4). On the opposite end of the life cycle, osteoporosis is a matter of concern in societies with an ever-growing group of older people because of its impact on life quality, morbidity, and mortality. Vitamin D deficiency in early life may have long-term consequences in the maximal bone peak mass that could predispose an individual to premature onset of osteoporosis (5).

Vitamin D deficiency in Latin America is being addressed regionally (6). Brazil and Mexico, being the most populous countries, generate most of the information available (7). In a national representative sample of preschool children, the 2006 Mexican National Health Survey found that schoolchildren and adolescents had relatively low prevalence rates of vitamin D deficiency, around 16%. However, the metropolitan area of Mexico City presents the lowest levels of vitamin D in children. Its altitude (2140 m above sea level), high pollution levels (241 days with unacceptable air quality during 2011), and reduced time of outdoor activities for most of the population lead to the assumption that vitamin D levels may be lower than previously described. Additionally, the current obesity epidemic among the pediatric population in our country is related to a high prevalence of vitamin D deficiency, and an inverse association between serum 25-OH vitamin D concentration and obesity has been described (8).

Such deficiency contrasts with the decreasing prevalence of anaemia during the last 15 years in Mexico, achieved mainly due to the widespread availability of enriched milk for low-income families (*Liconsa*) (9), social assistance programs (such as *Oportunidades* focused on minorities and indigenous groups), and a greater awareness of iron deficiency among the general population (10). Worldwide, however, iron deficiency is known to be the most widespread micronutrient deficiency; 25% of preschool children suffer from anaemia, and 33% are zinc deficient (11).

Some consequences of iron deficiency during childhood include growth retardation, reduced school achievement, impaired motor, and lowered cognitive development (12). With this background in mind, the present study's aim was to determine the levels of vitamin D in children 3-8 years old in four different locations within the metropolitan area of Mexico City and to compare it to levels of iron and zinc as references of nutritional status.

SUBJECTS AND METHODS

STUDY SETTINGS AND LOCATION

The study was conducted between April 12, 2008 and August 5, 2008. The sample studied were healthy siblings of patients at four hospitals in the metropolitan area of Mexico City: (1) Hospital Infantil de México Federico Gómez in the center; (2) CIBIOTEC Médica Sur in the southwest; (3) Hospital General Valle de Chalco in the southeast; and (4) Hospital General de Ecatepec "Las Américas" in the northeast. The population covered by each of these centers correspond roughly to the different socioeconomic levels (SEL) defined by the National Institute of Statistics and Geography (13) as follows in decreasing order: Médica Sur (high, a private practice center), Las Américas (medium-low), and Chalco (low). Hospital Infantil de México Federico Gómez (National Children's Hospital) is a reference hospital and represents a pooled population from a wide area, corresponding to a medium-low to low level.

SELECTION OF STUDY POPULATION

Healthy children from both genders attending the 4 health care facilities, aged 3-8 years with the following criteria were invited and included to participate: Children with a Z-score (WHO) between -1.9 and 1.9 (bounds included), written consent from parents for their child to participate in the study, PCR within normal range and with full clinical history and examination.

VARIABLES AND DATA MEASUREMENTS

Once the children were selected, a clinical history and anthropometric data were taken. A sample of 10 ml blood was drawn (one tube for immediate processing and complete blood count, the rest for centrifugation, freezing at -70°C) to determine iron and zinc; related biomarkers (haemoglobin, transferrin, and C-reactive protein) and 25-OH-vitamin D ferritin were measured by quantitative electrochemiluminescence method (ECLIA) (14), hemoglobin concentration by spectrophotometry (15), transferrin by immunoturbidimetry (16), zinc by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry technique (ICP-AES) (17), C-reactive protein by highly sensitive assay (CRP) (18), and 25-OH-vitamin D by RIA with a Liaison kit from DiaSorin.

Anthropometric measurements were taken on calibrated scales. Children were classified with Z-score BMI (OMS) between

-1.9 and 1.9 (bounds included), excluding malnourished or obese individuals. C-reactive protein results were used to rule out inflammation as a cause of anaemia related to chronic or acute disease when it was below 5 mg/L.

Distribution of study parameters was summarized depending on the type of variable in question. The number of subjects and the number of missing data were presented where relevant.

STATISTICAL METHODS

Descriptive statistics for each parameter are presented and included for:

- *Continuous data*: mean (arithmetic or geometric), standard deviation (SD), standard error of the mean (SEM), range (minimum-maximum), median and quartiles, and confidence intervals.
- *Qualitative data*: number and frequency.

Summary tables of the study parameters were prepared for each analysis in the population.

ETHICS

The protocol was submitted for approval to the Research and Ethics Committee at each of the four hospitals. Written consent was obtained from one or both of the parents for their child to take part in the study.

RESULTS

DEMOGRAPHIC AND OTHER BASELINE CHARACTERISTICS

A total of 117 children who fulfilled the inclusion criteria were selected in the four hospitals (33, 30, 29, and 25 subjects from centers 1 through 4 respectively). The subjects were recruited between April and August, all of them sunny months of the year at longitude 19 degrees north, Mexico city's location.

There were 60 (51.3%) boys and 57 (48.7%) girls in the study, and the average age was 5.5 ± 1.6 years. This report includes 109 samples; 8 samples were excluded due to differences in processing the samples (Fig. 1).

FLOW DIAGRAM OF THE INDIVIDUALS SELECTED FOR THE STUDY

The population's anthropometric data were: for boys, height 111.6 ± 10.8 cm, weight 20.0 ± 4.7 , and ages 5.3 ± 1.6 years. Girls had a height of 112.7 ± 11.5 cm, weight of 20.3 ± 5.1 kg, and were aged 5.7 ± 1.7 years. The gender and center averages were very similar, and a homogeneous sample was assumed. Figure 2 shows the distribution of the 117 subjects according to

the center and their gender, the only relevant observation being a preponderance of boys in center 3 and girls in center 4; however, the total sample was balanced.

SUBJECTS' DISTRIBUTION ACCORDING TO THE CENTER AND THEIR GENDER

In table I, the demographic characteristics of the children are shown. The mean height and weight of children were 112.1 ± 11.2 cm and 20.2 ± 4.9 kg respectively, with a BMI of 15.8 ± 1.7 kg/m². The mean Z-score (BMI) was 0.007 ± 0.999 : -0.13 ± 0.86 in center 1, 0.04 ± 0.79 in center 2, 0.23 ± 1.06 in center 3, and -0.10 ± 1.29 in center 4. As can be observed,

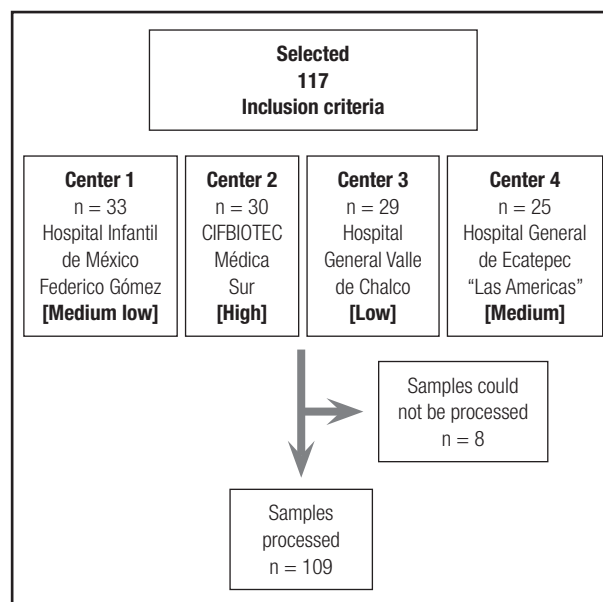


Figure 1.

Flow diagram of the individuals selected for the study.

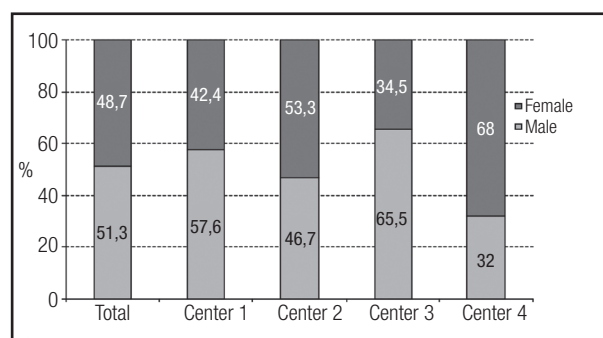


Figure 2.

Subjects' distribution according to the center and their gender.

Table I. Demographic data

		Center 1 <i>n</i> = 33	Center 2 <i>n</i> = 30	Center 3 <i>n</i> = 29	Center 4 <i>n</i> = 25	Total <i>n</i> = 117
Age (years)	<i>n</i>	33	30	29	25	117
	Mean ± SD	5.8 ± 1.5	5.2 ± 1.5	5.3 ± 1.8	5.7 ± 1.8	5.5 ± 1.6
	Median	6	5	5	6	5
Weight (kg)	<i>n</i>	33	30	28	25	116
	Mean ± SD	20.11 ± 3.97	19.59 ± 4.33	20.40 ± 5.60	20.58 ± 5.82	20.15 ± 4.87
	Median	20.3	19.5	20.1	18.9	19.8
Height (cm)	<i>n</i>	33	30	28	25	116
	Mean ± SD	113.3 ± 9.7	111.2 ± 10.1	110.9 ± 11.9	113.1 ± 13.6	112.1 ± 11.2
	Median	116	113	112	114	113
Body mass index (kg/m ²)	<i>n</i>	33	30	28	25	116
	Mean ± SD	15.50 ± 1.18	15.70 ± 1.37	16.33 ± 2.12	15.82 ± 2.01	15.82 ± 1.69
	Median	15.6	15.6	15.6	15.3	15.5

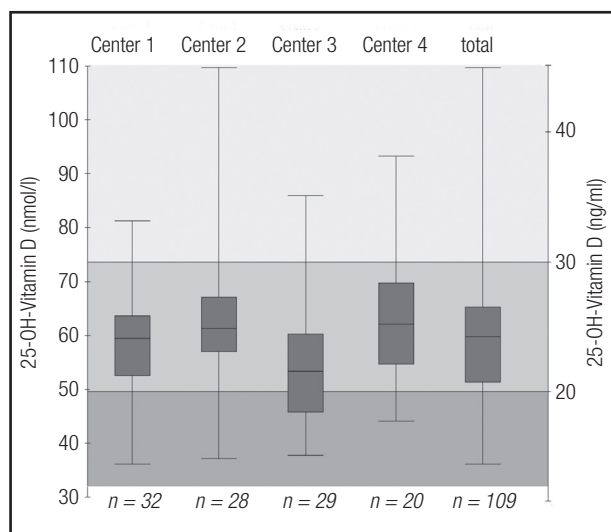


Figure 3.
Vitamin D levels by center and total.

there were no significant differences between the four samples in these parameters.

Table II shows the results of serum ferritin, haemoglobin, serum transferrin, C reactive protein, plasma zinc, and levels of 25 OH-vitamin D. As can be observed, the sample presented adequate levels of iron, indicating that there was no anaemia. Zinc determination revealed 8.26% of individuals with deficient levels (below 65 µg/dL).

The determination of vitamin D levels as shown in figure 3 were found to be below 20 ng/mL in 24.7% of the children.

DISCUSSION

Our results showed that from the 109 patients whose samples were processed, nutrients related to iron sufficiency levels such as ferritin, haemoglobin, and transferrin were normal. It is noteworthy that the concentration levels of vitamin D showed that 24.7% of the children had vitamin D deficiency with levels below 20 ng/ml as defined by the Institute of Medicine. Deficient levels of zinc, another relevant nutrient, was detected in 8.2 % of the sample.

Our data confirm the findings reported in the latest National Nutrition Survey in Mexico (ENSANUT 2012), in which a sustained reduction of anaemia prevalence among preschool and school-children has been observed since 1999, while increasing rates of vitamin D deficiency are occurring in the same population.

Vitamin D deficiency –defined as levels below 20 ng/ml by the Institute of Medicine (19)– turns out in our study to be higher than previously described by the 2012 National Nutrition Survey in Mexican children (20) and confirms the findings of a recent survey that found lower levels of vitamin D, particularly in preschoolers 2–5 years old, obese children, and those living in urban areas (8). Although the prevalences in the different studies that looked at the pediatric population in Mexico are different, all of them are consistent in the finding that an important proportion of these children have deficient levels of vitamin D. Some of the known reasons for finding a wide range in the prevalence figures are the different laboratory techniques used for determination of vitamin D as well as seasonal changes (21). Elizondo-Montemayor (8) reported a prevalence figure of 20.2% in their sample of Mexican children, and in the present study, a prevalence of 24.4% is reported; both studies used RIA with a Liaison kit from DiaSorin and yielded similar figures. The 2006 Mexican National Health Survey Study used the 25-(OH) vitamin D direct ELISA kit immunodiagnostics AG and reported a lower prevalence (16%), which agrees with the

Table II. Biological data in total and by center

		Center 1 n = 33	Center 2 n = 30	Center 3 n = 29	Center 4 n = 25	Total n = 117
<i>Serum Ferritin (ug/L)</i>	<i>n</i>	32	28	29	20	109
	Mean ± SD	48.2 ± 30.6	40.9 ± 17.3	45.0 ± 26.8	47.0 ± 20.6	45.2 ± 24.7
	SEM	5.4	3.3	5.0	4.6	2.4
	95% CI	37.6 ; 58.8	34.5 ; 47.2	35.2 ; 54.8	37.9 ; 56.0	40.6 ; 49.9
	Median	42	36	43	42	41
	Q1 ; Q3	28 ; 55	29 ; 50	28 ; 53	34 ; 51	29 ; 53
	Min. ; Max.	3 ; 150	14 ; 82	15 ; 150	22 ; 109	3 ; 150
	Missing	1	2	0	5	8
<i>Hemoglobin Conc (g/L)</i>	<i>n</i>	32	28	29	20	109
	Mean ± SD	139.4 ± 9.5	137.6 ± 6.7	142.2 ± 15.0	138.1 ± 7.1	139.4 ± 10.4
	SEM	1.7	1.3	2.8	1.6	1.0
	95% CI	136.2 ; 142.7	135.1 ; 140.1	136.7 ; 147.7	134.9 ; 141.2	137.5 ; 141.4
	Median	140	138	142	136	139
	Q1 ; Q3	132 ; 146	133 ; 142	133 ; 151	134 ; 144	133 ; 146
	Min. ; Max.	121 ; 159	123 ; 149	115 ; 196	127 ; 151	115 ; 196
	Missing	1	2	0	5	8
<i>Serum Transferrin (ug/mL)</i>	<i>n</i>	32	28	29	20	109
	Mean ± SD	2886.9 ± 456.2	2772.5 ± 467.7	2729.0 ± 295.0	2518.5 ± 280.5	2747.9 ± 408.1
	SEM	80.6	88.4	54.8	62.7	39.1
	95% CI	2728.8 ; 3044.9	2599.2 ; 2945.8	2621.6 ; 2836.3	2395.5 ; 2641.5	2671.3 ; 2824.5
	Median	2905	2740	2780	2510	2770
	Q1 ; Q3	2670 ; 3085	2395 ; 3195	2590 ; 2880	2390 ; 2660	2460 ; 3050
	Min. ; Max.	2040 ; 3780	1910 ; 3520	2130 ; 3280	1930 ; 3110	1910 ; 3780
	Missing	1	2	0	5	8
<i>C-Reactive Protein (mg/L)</i>	<i>n</i>	32	28	29	20	109
	Mean ± SD	2.28 ± 3.17	3.98 ± 6.04	4.22 ± 8.91	2.68 ± 2.95	3.31 ± 5.90
	SEM	0.56	1.14	1.65	0.66	0.57
	95% CI	1.18 ; 3.38	1.74 ; 6.22	0.98 ; 7.47	1.38 ; 3.97	2.20 ; 4.42
	Median	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
	Q1 ; Q3	1.5 ; 1.5	1.5 ; 2.8	1.5 ; 1.5	1.5 ; 1.5	1.5 ; 1.5
	Min. ; Max.	1.5 ; 19.0	1.5 ; 30.0	1.5 ; 46.0	1.5 ; 11.0	1.5 ; 46.0
	Missing	1	2	0	5	8
<i>Plasma Zinc Concentration (umol/L)</i>	<i>n</i>	32	28	29	20	109
	Mean ± SD	12.38 ± 1.49	12.64 ± 2.62	13.25 ± 1.63	11.28 ± 1.31	12.48 ± 1.95
	SEM	0.26	0.50	0.30	0.29	0.19
	95% CI	11.86 ; 12.90	11.67 ; 13.61	12.65 ; 13.84	10.70 ; 11.85	12.11 ; 12.84
	Median	12.5	12.2	13.5	11.3	12.2
	Q1 ; Q3	11.3 ; 13.6	11.0 ; 14.4	11.9 ; 14.4	10.7 ; 12.3	11.2 ; 13.8
	Min. ; Max.	9.2 ; 15.1	7.0 ; 17.0	10.7 ; 17.3	8.7 ; 13.9	7.0 ; 17.3
	Missing	1	2	0	5	8
<i>25-OH-Vitamin D (nmol/L)</i>	<i>n</i>	32	28	29	20	109
	Mean ± SD	57.51 ± 10.84	62.25 ± 13.62	55.24 ± 13.16	63.12 ± 12.87	59.15 ± 12.82
	SEM	1.92	2.57	2.44	2.88	1.23
	95% CI	53.75 ; 61.26	57.21 ; 67.29	50.45 ; 60.03	57.48 ; 68.76	56.74 ; 61.56
	Median	59.1	60.9	52.9	61.7	59.4
	Q1 ; Q3	52.1 ; 63.2	56.6 ; 66.7	45.4 ; 59.9	54.3 ; 69.4	50.9 ; 64.9
	Min. ; Max.	35.7 ; 80.9	36.7 ; 109.3	37.4 ; 85.6	43.7 ; 92.9	35.7 ; 109.3
	Missing	1	2	0	5	8

finding that ELISA has a large variability in its results and lower sensitivity than other methods.

Although there were no statistically significant differences due to the small sample, it was observed that there were different vitamin D levels in group 3, which had the greatest number of children below the deficiency line and below the rest of the groups. Geographically, group 3 corresponds to Chalco County, which represents the lowest-income population within the sample. A number of studies have noted the link between socioeconomic status and the deficiency of micronutrients (22) as markers of better nutrition, and vitamin D is closely related to the quality of the diet (23). In certain populations such as migrants and dark-skinned people living in northern countries, this used to be attributed to the higher needs of solar radiation for the skin to synthesize vitamin D, but socioeconomic status and quality of nutrition seem to have equally important roles (24). Therefore, our findings might be included in this theory. This finding has not been considered in our population before, and further studies are needed to ascertain whether socioeconomic level need be included in this type of study in order to consider what role socioeconomic disparities play in vitamin D deficiency.

There are many reasons for the recent global resurgence of vitamin D deficiency and they have been summarized extensively (25). There is a concern, not only about new cases of rickets and metabolic disease of the bone in the newborn or the possible alterations on other systems, but also about the degree of skeletal mineralization that may predispose one to fractures in childhood and to later development of early osteoporosis with its associated costs and risks (26). Vitamin D deficiency and its impact on bone health have already been described in pregnant mothers, newborns, and preschool children in all five continents (27). Controversy exists about the optimal levels of vitamin D in the literature that is beyond the scope of this study, but if we were to use the criteria proposed by the Endocrine Society (28) (vitamin sufficiency defined as levels above 30 ng/ml), the figures of insufficiency in our sample would be 63% (i.e., between 20 and 30 ng/ml), and only 12% would have sufficient levels.

Factors such as air pollution, use of sunblock, and little time spent outdoors partly explain the prevalence of vitamin D deficiency in sunny cities (29). Supplementation was eliminated in many countries after several cases of intoxication during the 1950s in the United Kingdom (30) and is being reinstated in a modest and slow fashion worldwide. However, as data regarding Vitamin D deficiency have appeared, the WHO in 2006 issued recommendations on food enrichment including it (11), and many countries have recently changed their supplementation policies successfully, including the United States (31), France (32), Ireland (33), Australia and New Zealand (34), among others.

The dietary allowance for optimal bone health in infants and children up to 1 year of age, according to the Endocrine Society (28) is at least 400 IU/day vitamin D; children 1 year and older need at least 600 IU/day. The detected prevalence of vitamin D deficiency could be related to a failure to meet such allowance and supplementation or enrichment may be needed.

In a systematic review, De-Regil LM (35) showed that intermittent iron supplementation is efficacious to improve haemoglobin

concentrations and reduce the risk of anaemia or iron deficiency in children younger than 12 years of age when compared with a placebo or no intervention. Given the prior success on controlling iron and zinc deficiencies, vitamin D enrichment seems a logical next step in food supplementation to improve the nutritional status of Mexican children. Although still controversial, supplementing deficient children may improve bone mineral density during childhood and the teens (36). As with any preventive measure done on a large scale, safety and cost effectiveness are always a concern and need to be carefully monitored.

Besides the inherent limitations of the cross-sectional design, our study might not represent the whole population of Mexico since the sample was only from Mexico City. However, according to INEGI, Mexico City is included in the central megalopolis of Mexico, representing about one-fourth of the Mexican general population (37). Nonetheless, further studies are needed in northern or southern populations of our country.

ACKNOWLEDGMENTS

The present study was funded by an unrestricted grant from the Instituto Danone.

REFERENCES

1. DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr* 2004;80(6 Supl.):1689S-96S.
2. PubMed. 2015 [30/12/2015]; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=vitamin+D>.
3. Holick MF. Vitamin D: extraskeletal health. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2010;39(2):381-400, table of contents.
4. Thandrayen K, Pettifor JM. Maternal vitamin D status: implications for the development of infantile nutritional rickets. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2010;39(2):303-20, table of contents.
5. Clark P, et al. Epidemiology of osteoporosis in Mexico. Present and future directions. *Rev Invest Clin* 2013;65(2):183-91.
6. Latin America Regional Audit. in IOF Regionals - 1st Latin America Osteoporosis Meeting. Sao Paulo, Brazil: International Osteoporosis Foundation; 2012.
7. Brito A, et al. Less than adequate vitamin D status and intake in Latin America and the Caribbean: a problem of unknown magnitude. *Food Nutr Bull* 2013;34(1):52-64.
8. Elizondo-Montemayor L, et al. Serum 25-hydroxyvitamin d concentration, life factors and obesity in Mexican children. *Obesity (Silver Spring)* 2010;18(9):1805-11.
9. Rivera JA, et al. Effectiveness of a large-scale iron-fortified milk distribution program on anemia and iron deficiency in low-income young children in Mexico. *Am J Clin Nutr* 2010;91(2):431-9.
10. Villalpando S, et al. The prevalence of anemia decreased in Mexican preschool and school-age children from 1999 to 2006. *Salud Publica Mex* 2009;51 (Supl. 4):S507-14.
11. Allen LDB, Dary O, Hurrell R, editos. Guidelines on food fortification with micronutrients. WHO-FAO: Geneva; 2006.
12. Grantham-McGregor S, Ani C. A review of studies on the effect of iron deficiency on cognitive development in children. *J Nutr* 2001;131(2S-2):649S-666S; discussion 666S-668S.
13. Geografía I.N.d.E.y. Regiones Socioeconómicas de México. 2014 [cited 2014 29/09/2014]; Available at: <http://sc.inegi.gob.mx/niveles/index.jsp>.
14. Blackmore S, et al. Automated immunoassay methods for ferritin: recovery studies to assess traceability to an international standard. *Clin Chem Lab Med* 2008;46(10):1450-7.
15. NCCLS. Reference procedure for the quantitative determination of hemoglobin in blood. Vilanova, PA; 1984.

16. Rifai N, Gubar K, Silverman LM. Immunoturbidimetry: an attractive technique for the determination of urinary albumin and transferrin. *Clin Biochem* 1987;20(3):179-81.
17. Rahil-Khazen R, et al. Validation of inductively coupled plasma atomic emission spectrometry technique (ICP-AES) for multi-element analysis of trace elements in human serum. *Scand J Clin Lab Invest* 2000;60(8):677-86.
18. Rifai N, Tracy RP, Ridker PM. Clinical efficacy of an automated high-sensitivity C-reactive protein assay. *Clin Chem* 1999;45(12):2136-41.
19. Ross AC, et al. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Washington (DC); 2011.
20. Flores M, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D levels among Mexican children ages 2 y to 12 y: a national survey. *Nutrition* 2013;29(5):802-4.
21. Mithal A et al. Global vitamin D status and determinants of hypovitaminosis D. *Osteoporos Int* 2009;20(11):1807-20.
22. Kant AK, Graubard BI. Ethnic and socioeconomic differences in variability in nutritional biomarkers. *Am J Clin Nutr* 2008;87(5):1464-71.
23. Darmon N, Drewnowski A. Does social class predict diet quality? *Am J Clin Nutr* 2008;87(5):1107-17.
24. Weishaar T, Vergili JM. Vitamin D status is a biological determinant of health disparities. *J Acad Nutr Diet* 2013;113(5):643-51.
25. Hossein-Nezhad A, Holick MF. Vitamin D for health: a global perspective. *Mayo Clin Proc* 2013;88(7):720-55.
26. Cooper C. et al. Developmental origins of osteoporotic fracture: the role of maternal vitamin D insufficiency. *J Nutr* 2005;135(11):2728S-34S.
27. Garza-Gisholt AR-R, Clark P. Maternal diet and vitamin D during pregnancy and association with bone health during childhood. Review of the literature. *Bol Med Hosp Infant Mex* 2012;69(2):7.
28. Holick MF, et al. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96(7):1911-30.
29. Baiz N, et al. Gestational exposure to urban air pollution related to a decrease in cord blood vitamin d levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97(11):4087-95.
30. Hathcock JN, et al. Risk assessment for vitamin D. *Am J Clin Nutr* 2007; 85(1):6-18.
31. Rovner AJ, O'Brien KO. Hypovitaminosis D among healthy children in the United States: a review of the current evidence. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2008;162(6):513-9.
32. Vidailhet M., et al. Vitamin D: still a topical matter in children and adolescents. A position paper by the Committee on Nutrition of the French Society of Paediatrics. *Arch Pediatr* 2012;19(3):316-28.
33. Recommendations for a National Policy on Vitamin D Supplementation for Infants in Ireland, F.S.A.o. Ireland, Editor. Food Safety Authority of Ireland: Dublin; 2007.
34. Munns C, et al. Prevention and treatment of infant and childhood vitamin D deficiency in Australia and New Zealand: a consensus statement. *Med J Aust* 2006;185(5):268-72.
35. De-Regil LM, et al. Intermittent iron supplementation for improving nutrition and development in children under 12 years of age. *Cochrane Database Syst Rev* 2011(12):CD009085.
36. Winzenberg T, et al. Effects of vitamin D supplementation on bone density in healthy children: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2011; 342:c7254.
37. Flores-González S. La megalópolis de la región Centro de México: una aproximación a su análisis. BUAP-Colegio de Tlaxcala; 2002.



Boletín Médico del Hospital Infantil de México

www.elsevier.es/bmhim



ARTÍCULO DE REVISIÓN

Deficiencia de vitamina D en la edad pediátrica. Una oportunidad de prevención

Desirée López-González^a, Lucía Méndez-Sánchez^a,
Miguel Ángel Guagnelli^a y Patricia Clark^{a,b,*}

^a Unidad de Epidemiología Clínica, Hospital Infantil de México Federico Gómez, México D.F., México

^b Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F., México

Recibido el 13 de diciembre de 2014; aceptado el 27 de enero de 2015

PALABRAS CLAVE

Deficiencia de
vitamina D;
Pediatria;
Adolescentes;
Ingesta diaria
recomendada;
Ingesta diaria
sugerida

Resumen La prevalencia de deficiencia de vitamina D en la población pediátrica ha incrementado en los últimos años y se considera que continúa subdiagnosticada y subtratada. De acuerdo con datos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006, en México se ha estimado una prevalencia del 16% en niños de 2 a 12 años. La vitamina D desempeña un papel fundamental en la formación y homeostasis del hueso, y consecuentemente en el crecimiento. Su deficiencia se asocia con enfermedades como raquitismo y osteomalacia, y se ha relacionado con otros padecimientos, como obesidad, síndrome metabólico, diabetes, cáncer, infecciones de vías respiratorias y problemas del sistema inmune. En la literatura se han descrito grupos específicos de riesgo para deficiencia de vitamina D en los que el suplemento pudiera ofrecer un beneficio. Actualmente aún hay controversia en definir los niveles séricos de suficiencia, así como la dosis de suplemento. En México, la ingesta diaria sugerida de vitamina D es de 5.6 µg/día (224 UI), que resulta significativamente menor a las recomendaciones en los Estados Unidos y Europa (entre 400 y 1,000 UI). Debido al aumento en la deficiencia de vitamina D en los últimos años y a la falta de consenso con respecto a los niveles de suficiencia de vitamina D (ya que los valores de corte varían de 20 a 30 ng/ml considerados por la asociación de endocrinología), el objetivo de esta revisión fue proporcionar un panorama general del problema en la población pediátrica, así como describir aquellos grupos en riesgo y analizar las recomendaciones vigentes para el suplemento de vitamina D.

La deficiencia de vitamina D se ha considerado rara en México, y la falta de evidencia no ha permitido establecer las recomendaciones de ingesta diaria, de acuerdo con el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Sin embargo, hoy debe reconocerse como un problema de salud, meritorio de atención y acción. Sugerimos que se

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: osteoclark@gmail.com (P. Clark).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.bmhimx.2015.01.011>

1665-1146/© 2015 The Authors. Publicado por Masson Doyma México S.A. en nombre de Hospital Infantil de México Federico Gómez. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Cómo citar este artículo: López-González D, et al. Deficiencia de vitamina D en la edad pediátrica. Una oportunidad de prevención. Bol Med Hosp Infant Mex. 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmhimx.2015.01.011>

KEYWORDS

Vitamin D deficiency;
Pediatrics;
Adolescents;
Recommended daily
intake;
Suggested daily
intake

lleven a cabo estudios prospectivos en nuestro país, donde se establezca la relación entre la deficiencia sérica de vitamina D y la pobre mineralización ósea.

© 2015 The Authors. Publicado por Masson Doyma México S.A. en nombre de Hospital Infantil de México Federico Gómez. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Vitamin D deficiency in childhood: an opportunity for prevention

Abstract The prevalence of vitamin D deficiency in the pediatric population has increased in recent years and continues to be underdiagnosed and undertreated. According to data from the "ENSANUT 2006" (National Health and Nutrition Survey), the prevalence of vitamin D deficiency in Mexico was 16% in children aged 2-12 years. Vitamin D plays a critical role in the formation and bone homeostasis and consequently on growth. Its deficiency is clearly associated with diseases such as rickets and osteomalacia, and it has been linked to other diseases such as obesity, metabolic syndrome, diabetes, cancer, respiratory infections and immune system disease. Specific risk groups have been described in the medical literature for vitamin D deficiency in which supplementation may offer a benefit. Currently, there is still controversy in defining the serum levels of proficiency and dose supplementation. In Mexico, the daily suggested intake of vitamin D is 5.6 μ g (224 IU), which is significantly lower than the recommendations in the U.S. and Europe (i.e., between 400 and 1000 IU/day).

An increase in vitamin D deficiency has been reported in recent years. There is no consensus regarding the sufficiency levels of vitamin D. Cut-off values vary from 20 to 30 ng/ml. Therefore, the objective of this review was to provide an overview of the problem in the pediatric population and to describe the groups at risk, as well as to analyze the current recommendations for vitamin D supplementation.

Vitamin D deficiency was considered rare in Mexico according to the National Institute of Medical Science and Nutrition Salvador Zubirán. Lack of evidence did not help to establish the international recommended daily intake. Currently, vitamin D deficiency must be recognized as a health problem, worthy of attention and action. We suggest that prospective studies are carried out in our country where the relationship between serum vitamin D deficiency and poor bone mineralization will be established.

© 2015 The Authors. Published by Masson Doyma México S.A. on behalf of Hospital Infantil de México Federico Gómez. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. Introducción

En los últimos años se ha reportado un creciente interés en el metabolismo y la fisiología de la vitamina D. Además de ser un micronutriente esencial, se considera una prohormona involucrada en la homeostasis ósea. Se han publicado diversos estudios a nivel mundial donde se documenta un incremento en la prevalencia de déficit de vitamina D (definido como valores séricos ≤ 20 ng/ml o 50 nmol/l), del 10 al 41.6% en estudios poblacionales¹. Sin embargo, dicha condición continúa subdiagnosticada y sin recibir tratamiento. Es por esto que ha aumentado la necesidad de contar con guías nacionales sobre su suplemento, así como de la monitorización de los niveles séricos de vitamina D en población vulnerable.

El objetivo de esta revisión fue identificar los grupos en edad pediátrica en riesgo de presentar deficiencia de vitamina D, así como de las consecuencias de dicho déficit sobre la salud.

2. Fisiología

La vitamina D comprende un grupo de prohormonas identificadas a partir del descubrimiento del efecto antirraquitismo

del aceite de hígado de bacalao a principios del siglo XX². La vitamina D2 (ergocalciferol) y la vitamina D3 (colecalfiferol) son los dos precursores principales biológicamente inertes^{3,4}. La vitamina D3 se forma a partir de la exposición del 7-dehidrocolesterol en la piel a los rayos ultravioleta B solares (UVB 290 a 320 nm), y se convierte en previtamina D3. En un proceso dependiente de calor, la previtamina D3 es transformada a vitamina D. Por otro lado, la vitamina D2 se deriva de las plantas y se produce exógenamente por irradiación del ergosterol, y entra a la circulación a través de la dieta². En nuestro organismo, ambos precursores (D2 y D3) sufren una primera hidroxilación en el hígado para convertirse en 25-hidroxivitamina D [25(OH)D], metabolito que se mide en sangre para determinar los niveles séricos de vitamina D. La 25(OH)D requiere de una segunda hidroxilación a nivel renal para convertirse en 1,25-dihidroxivitamina D [1,25(OH)2D], calcitriol, el metabolito activo de esta vitamina⁵.

La vitamina D desempeña un papel fundamental para mantener los niveles séricos de calcio y fósforo. Sin esta vitamina, solamente se absorbería del 10 al 15% del calcio ingerido en la dieta y alrededor del 60% del fósforo. Por esta razón la vitamina D tiene un gran efecto en la formación y mantenimiento del hueso^{6,7}.

3. Requerimientos nutricionales para los niños sanos

En el año 2010, el comité del Institute of Medicine (IOM) actualizó las recomendaciones de ingesta de vitamina D en la población general, tanto del límite superior de toxicidad [para mantener los niveles de vitamina D séricos por debajo de 50 ng/ml (125 nmol/l)] como de la definición de deficiencia [de 20 ng/ml (40 nmol/l) para los requerimientos del 97.5% de la población sana]. Recomienda mantener los niveles séricos de vitamina D por arriba de 20 ng/ml para optimizar el pico de masa ósea, prevenir la pérdida de hueso y reducir el riesgo de fracturas por osteoporosis^{8,9}.

El reporte del IOM brinda recomendaciones de ingesta de vitamina D para niños sanos incluyendo la recomendación para los niños mayores de 1 año de 600 UI por día, con el objetivo de lograr concentraciones séricas de 25-hidroxivitamina D de 50 nmol/l. Se ha reconocido que la concentración sérica de 25(OH)D en los niños sanos está más identificada como un marcador de exposición a la vitamina D que como un valor al que se puedan atribuir beneficios específicos para la salud. Existe controversia en cuanto a la recomendación diaria de 600 UI por día; es decir, si este valor satisface las necesidades de todos los niños sanos, especialmente de aquellos que siendo sanos se encuentran en riesgo de tener valores séricos menores de 50 nmol/l. La guía se basó en una exposición solar mínima, señalando que el bloqueador solar es ampliamente utilizado en los niños. En particular, la guía sobre la ingesta nutricional de 600 UI/día incluye a los niños afroamericanos, latinos o aquellos con pigmentación cutánea oscura¹.

De acuerdo a la ESPGHAN (The European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition) los lactantes menores de un año de edad deben recibir suplemento oral de 400 UI/día bajo supervisión de un profesional de la salud. Los niños y adolescentes deben continuar con un estilo de vida saludable y una dieta con alimentos ricos en vitamina D. Sin embargo, los niños considerados en riesgo de deficiencia, aquellos de piel oscura, los que reciben poca exposición solar, así como los niños con obesidad deben recibir un suplemento oral. La ESPGHAN considera los niveles séricos de vitamina D mayores de 50 nmol/l suficientes, y los valores menores de 25 nmol/l los cataloga como deficiencia grave¹⁰.

En México, la ingesta diaria sugerida de vitamina D se encuentra en la NORMA Oficial Mexicana NOM-051-SCFI/SSA1-2010, "Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados- Información comercial y sanitaria"¹¹. En esta norma se sugiere una ingesta diaria de 5.6 µg (224 UI) de vitamina D basada en las recomendaciones del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ), la cual es significativamente menor a las recomendaciones de los Estados Unidos y Europa, es decir, entre 400 y 1,000 UI/día. Dicha recomendación se fundamenta en el oficio emitido por el INCMNSZ en 2007, donde se comenta que "no existen estudios que demuestren la necesidad de adición de vitamina D a los alimentos en la población mexicana. En México, solamente se ven casos aislados de raquitismo, y la deficiencia de calcio no se considera un problema de salud pública; por lo tanto no existe ningún programa para combatirla"¹². A partir de entonces no se

han emitido nuevas recomendaciones en el país ni se cuenta con estudios formales que documenten la ingesta promedio de vitamina D en niños mexicanos.

4. Deficiencia de vitamina D

La deficiencia de vitamina D se asocia con raquitismo en los niños y osteomalacia en los adultos. El raquitismo nutricional es una enfermedad prevenible. Su principal característica es la falta de calcio en los huesos, lo que afecta a los niños durante el crecimiento. Esta enfermedad se caracteriza por deformidades de huesos largos y ensanchamiento de las muñecas y articulaciones costo-condrales; en los lactantes causa retraso en el cierre de las fontanelas y craneotabes, así como hipotonía, hipocalcemia con crisis convulsivas y falla cardíaca^{13,14}.

Aunque la prevalencia de raquitismo había disminuido de forma importante con los suplementos dietéticos, hoy se reconoce que esta enfermedad ha resurgido en varios países, principalmente entre los grupos con poca exposición a los rayos solares UVB, los lactantes hijos de madres con bajos niveles séricos de vitamina D durante el embarazo, y aquellos alimentados exclusivamente al seno materno¹⁴.

Una ingesta adecuada de vitamina D y calcio durante la infancia reduce el riesgo de una pobre mineralización esquelética, de la pérdida de fuerza ósea, de la reducción del pico de masa mineral ósea al final de la pubertad, así como de osteoporosis¹⁵. En la década del 2000 creció el interés científico por la relación entre el déficit de vitamina D y las enfermedades crónicas no esqueléticas, como infecciones, enfermedades autoinmunes (esclerosis múltiple, artritis reumatoide), cáncer de mama, ovario, próstata, colon y recto, así como diabetes mellitus tipo II, enfermedades cardiovasculares y metabólicas. Sin embargo, no ha podido establecerse una relación causal. En el meta-análisis UMBRELLA, publicado en 2014, se presenta la evidencia basada en una revisión sistemática realizada a partir de revisiones y meta-análisis de estudios observacionales y ensayos clínicos que evalúan la asociación entre las concentraciones de vitamina D y un gran rango de enfermedades. Se reportó la asociación de las concentraciones de vitamina D con el peso al nacimiento, la presencia de caries dental en niños, las concentraciones maternas de vitamina D, el embarazo a término y las concentraciones de la hormona paratiroidea (PTH) en enfermedad renal crónica en pacientes que requerían diálisis. En contraste con otros estudios, estos hallazgos ponen en tela de juicio la eficacia de la vitamina D como única medida para la prevención de la osteoporosis o caídas. Esta revisión señala la falta de meta-análisis en relación con enfermedades autoinmunes, así como de ensayos clínicos aleatorizados sobre el suplemento con vitamina D en cáncer, cognición y enfermedades infecciosas¹⁶. Algunos estudios prospectivos sugieren que los suplementos de vitamina D que se consumen durante la infancia pueden reducir la incidencia de éstas enfermedades¹⁷.

En México se han realizado pocas investigaciones sobre la prevalencia de deficiencia de vitamina D. En los escasos reportes, las mediciones séricas de esta vitamina se han llevado a cabo con distintos métodos. Dentro de estos estudios en población mexicana es de importancia comentar el estudio multicéntrico realizado en 2008, en cuatro centros representativos de la Ciudad de México, con 117 niños

sanos de 3 a 8 años de edad, en quienes se midieron los niveles de concentración de vitamina D por radioinmunoanálisis. Se reportó una media global de 59.12 ± 12.82 nmol/l. El 25% de los niños presentó deficiencia y el 63% insuficiencia. Así mismo, el Instituto Nacional de Salud Pública analizó los datos de 1,025 niños de 2 a 12 años de edad, que participaron en la ENSANUT 2006, cuyos niveles de vitamina D se determinaron por ELISA. Se reportó una concentración sérica promedio de 25(OH)D3 de 94.6 ± 47 nmol/l. Los niños preescolares tuvieron una mayor prevalencia de deficiencia de vitamina D (24.6%) en comparación con los niños en edad escolar (10.2%). Del total de la muestra, el 16% tuvo deficiencia de vitamina D (25(OH)D3 <50 nmol/l). El 23% de los niños presentó insuficiencia (25(OH)D3 entre 50 y 75 nmol/l)¹⁸. Finalmente, en otra investigación en México, en 261 niños y niñas de 5 a 14 años, la mediana de concentración de 25(OH)D fue de 26.13 ng/ml y de PTH fue de 25 pg/ml. La prevalencia de deficiencia de 25(OH)D (< 20 ng/ml) fue del 10% (n = 26), de insuficiencia (20-29 ng/ml) fue del 60.9% (n = 159) y de suficiencia (> 30 ng/ml) del 29.1%. Al analizar los posibles factores de riesgo para la deficiencia de vitamina D, no se encontró una relación significativa con el uso de bloqueador, exposición solar y el fototipo de piel.

5. Grupos en riesgo de presentar déficit de vitamina D

5.1. Recién nacidos pretérmino

Durante el último trimestre del embarazo es cuando el producto recibe el mayor aporte de minerales al esqueleto. De acuerdo con los estudios realizados por Widdowson y colaboradores en cadáveres, se sabe que la acreción de calcio en el útero durante el tercer trimestre varía de 100 a 130 mg/kg/día, y alcanza la máxima acreción entre la semana 32 y 36 de gestación (SDG)¹⁹. Debido a esto, los recién nacidos pretérmino (< 37 SDG) cuentan con bajas reservas minerales, lo que, aunado a su bajo peso (< 2,250 g) y a enfermedades asociadas, incrementa el riesgo de padecer insuficiencia mineral y derivar en alteraciones del metabolismo óseo. El riesgo de no alcanzar el desarrollo adecuado en comparación con tablas de crecimiento de referencia es elevado²⁰. Se ha reportado que los adultos con antecedentes de prematuridad presentan una densidad ósea menor en comparación con los controles sin este antecedente²¹. Los niveles de vitamina D en la madre son determinantes en la mineralización de los productos. De acuerdo con la revisión realizado por Garza y colaboradores existe evidencia sobre la asociación entre las concentraciones maternas de vitamina D (25(OH)D) y la masa ósea del recién nacido. Las madres con deficiencia de vitamina D en el último periodo del embarazo tuvieron productos con un contenido mineral óseo menor respecto de aquellos productos de madres con niveles "plenos" de vitamina D (media $1.04 \text{ kg} \pm 0.16$ vs. $1.16 \text{ kg} \pm 0.17$, $p = 0.002$). Esta asociación entre las bajas concentraciones de 25(OH)D de la madre y la acreción mineral ósea en la infancia persiste hasta los 9 años de edad²².

No existen estudios poblacionales sobre la prevalencia de raquitismo en los recién nacidos pretérmino. Aproximadamente del 10 al 20% de los recién nacidos hospitalizados

por bajo peso (< 1,000 g) presentan signos radiográficos de raquitismo (cambios metafisarios), a pesar de las prácticas nutricionales que se lleven a cabo²³. Esta frecuencia ya es mucho menor en comparación con el 50% de incidencia descrito previamente para esta población, antes de la fortificación de la leche humana y del uso rutinario de fórmulas para prematuro con alto contenido mineral²⁴.

Las recomendaciones del IOM únicamente se refieren al suplemento en niños eutróficos para prevenir el raquitismo asociado con deficiencia de vitamina D (400 UI al día). No consideran poblaciones especiales, como los recién nacidos (RN) pretérmino. Los pretérmino tienen requerimientos minerales óseos únicos, que no pueden considerarse similares a los de los RN de término. Los lineamientos realizados en los Estados Unidos limitaban sus recomendaciones a los RN de término, por lo que la ESPGAHN describió recomendaciones enterales nutricionales para los bebés pretérmino. La ESPGHAN recomienda una ingesta de 800 a 1,000 UI/día para pretérmino, con el objetivo de mejorar las concentraciones séricas de 25(OH)D y plasmáticas de 1,25(OH)2D, y así subsecuentemente las tasas de absorción de calcio. La recomendación es la misma para lactantes pretérmino alimentados al seno materno como para aquellos alimentados con fórmula láctea²⁵.

De acuerdo con las conclusiones publicadas por Abrams en 2013, el manejo rutinario de los infantes pretérmino, especialmente aquellos de bajo peso (< 1,800 a 2,000 g), debe incluir leche humana fortificada con minerales o fórmulas diseñadas para recién nacidos pretérmino. La evaluación rutinaria del estado mineral óseo mediante métodos bioquímicos *está indicada para infantes de bajo peso* (< 1,500 g). Dichas pruebas deben realizarse 4 a 5 semanas después del nacimiento. Cuando los infantes alcanzan un peso > 1,500 g y toleran la alimentación enteral total, deben ser suplementados con vitamina D desde 400 UI/día hasta un máximo de 1,000 UI/día²⁶.

5.2. Lactantes con alimentación exclusiva al seno materno

Actualmente se ha reportado un resurgimiento del raquitismo en los lactantes alimentados al seno materno. Los bebés que son alimentados exclusivamente al seno materno y no reciben suplementos con vitamina D y una exposición solar adecuada, están en riesgo de desarrollar deficiencia de vitamina D o raquitismo¹³. El raquitismo por deficiencia de vitamina D se presenta con mayor frecuencia en lactantes de piel oscura alimentados al seno materno, hijos de madres deficientes de vitamina D, y lactancia exclusiva²⁷⁻²⁹. Estudios preliminares sugieren que los lactantes alimentados al seno materno, hijos de madres que toman suplementos con altas dosis de vitamina D₃, logran niveles de vitamina 25(OH)D circulantes similares que los lactantes que reciben suplemento oral con vitamina D₃³⁰.

El contenido de vitamina D de la leche humana depende del estado materno de vitamina D. Una mujer lactando que recibe un suplemento de 400 UI/día de vitamina D, tendrá leche con un contenido de vitamina D de 25 a 78 UI/l¹³.

La recomendación para prevenir el raquitismo infantil, tanto en Europa como en los Estados Unidos, es el suplemento con 400 UI/día de vitamina D, lo que equivale a

una cucharada cafetera de aceite de hígado de bacalao. Los lactantes alimentados exclusiva o parcialmente al seno materno deben recibir un suplemento de 400 UI/día de vitamina D, comenzando desde los primeros días de vida. Este suplemento debe continuar hasta que el lactante sea destetado y consuma al menos 1 l/día de fórmula fortificada con vitamina D o leche entera. La leche entera no debe administrarse antes de cumplir los 12 meses de edad. Para los niños entre 12 meses y 2 años de edad con sobrepeso u obesidad, o con historia familiar de obesidad, dislipidemia o enfermedad cardiovascular, se recomienda el uso de leche reducida en grasa¹³.

5.3. Obesidad

Se ha reportado que los obesos presentan menores concentraciones séricas de 25(OH)D^{31,32}. Aunque diversos estudios han mostrado que los niveles cutáneos de 7-dehidrocolesterol (precursor de la vitamina D₃) son similares en sujetos obesos como no obesos³³, se piensa que la grasa subcutánea (reservorio de vitamina D) secuestra la vitamina D sintetizada en la piel, lo que se traduce en menos liberación de vitamina D de la piel a la circulación en el sujeto obeso en comparación con los sujetos no obesos³⁴. Los niños y adultos con sobrepeso y obesidad han mostrado deficiencia de vitamina D. En México, Elizondo y colaboradores determinaron la prevalencia de deficiencia de vitamina D y su asociación con obesidad y estilo de vida en escolares de seis escuelas públicas de Monterrey³⁵. Este estudio reportó insuficiencia en el 61.2% (21 a 29 ng/ml) y deficiencia en el 20.2% (< 20 ng/ml) de una muestra de 198 sujetos. Al estratificar la muestra por índice de masa corporal (presencia o ausencia de obesidad), se encontró una diferencia significativa en las concentraciones de 25(OH)D entre los grupos: los pacientes obesos tuvieron concentraciones menores (23.05 ± 5.396 ng/ml) respecto de los sujetos sin obesidad (26.39 ± 6.066 ng/ml), con una diferencia de medias de 3.34 (IC 95% 1.73–4.95 $p=0.001$).

En los niños con obesidad, los niveles circulantes de 25(OH)D pueden ser bajos, aunque las reservas corporales no sean deficientes. Hasta este momento no se ha demostrado, por medio de ensayos clínicos, un beneficio clínico específico de la ingesta de dosis de vitamina D superiores a las recomendaciones diarias para niños sanos³⁶.

En los estudios donde se logra una pérdida de peso moderada, se ha encontrado un incremento en los niveles séricos circulantes de 25(OH)D, a pesar de mantener estable la ingesta de vitamina D, y dicho incremento ha sido proporcional a la pérdida de peso. No existe evidencia de algún efecto en la salud ósea, u otras condiciones de salud, de una ingesta de vitamina D superior a los requerimientos sugeridos en personas con obesidad³⁷.

6. Enfermedades que cursan con alteraciones en el metabolismo de la vitamina D

6.1. Insuficiencia renal crónica

Entre las alteraciones derivadas de la enfermedad renal crónica (ERC) se encuentra una menor actividad de la

1-alfa-hidroxilasa, que conduce a una disminución en la producción de calcitriol, resultando en una disminución de la absorción intestinal de calcio y excreción renal de fosfato, con consecuente hipocalcemia e hiperfosfatemia. La hipocalcemia reduce la actividad de los receptores sensibles al calcio en la glándula paratiroides y estimula la secreción de PTH. La PTH, en respuesta a los bajos niveles séricos de calcio y niveles elevados de fosfato, incrementa la reabsorción tubular de calcio y la secreción de fosfato; así mismo, estimula la enzima renal 1-alfa-hidroxilasa para producir 1,25(OH)₂D. Sin embargo, los pacientes con ERC no son capaces de producir cantidades adecuadas de 1,25(OH)₂D. Además, estos pacientes pueden presentar carencias nutricionales por una ingesta inadecuada secundaria a la hipoxia urémica y por la restricción dietética a la que son sometidos, lo que produce una cantidad inadecuada de sustratos para la conversión del calcitriol³⁸. Esta observación indica la necesidad de mantener una vigilancia de la deficiencia de vitamina D en pacientes con compromiso de la función renal, independientemente del remplazo regular con calcitriol. Las guías actuales de la Kidney Disease Outcomes Quality Initiative sugieren la medición de los niveles de 25(OH)D si los niveles séricos de PTH están por encima del rango esperado para la enfermedad renal crónica estadio II y en adelante, como un intento de retrasar el hipertiroidismo secundario y sus efectos³⁹.

Los niños con insuficiencia renal tienen un riesgo elevado de presentar alteraciones del desarrollo óseo por osteodistrofia renal con concomitante deficiencia de vitamina D. Los niveles de deficiencia de vitamina D en esta enfermedad alcanzan una prevalencia de hasta el 75% (niveles de 25(OH)D < 37.5 nmol/l) en esta población⁴⁰. Igualmente, la prevalencia de hiperparatiroidismo en la ERC es alta, así como la relación significativa entre los niveles de PTH y 25(OH)D, independientemente de los niveles de calcitriol. El optimizar los niveles de vitamina D puede brindar un beneficio adicional para prevenir o mejorar el hipoparatiroidismo en pacientes con ERC temprana, y es importante como parte del tratamiento adyuvante del niño con ERC^{41–43}.

Recientemente se han publicado múltiples guías de práctica clínica sobre el suplemento con vitamina D en niños y adultos con ERC. La guía más reciente hace hincapié en la falta de resultados que respalden el suplemento en ERC y recomiendan la corrección de la deficiencia de vitamina D utilizando las mismas estrategias que para la población general. Estudios observacionales en pacientes con ERC han asociado la deficiencia de vitamina D con mortalidad, resistencia a la insulina, anemia, inflamación y progresión de la enfermedad renal^{44–46}.

6.2. Cáncer

El desarrollo de terapias curativas para los padecimientos oncológicos pediátricos ha generado una población creciente de niños sobrevivientes en riesgo de presentar alteraciones del metabolismo óseo, ya que el tratamiento del cáncer puede interferir con la obtención del pico de masa ósea, y predisponer potencialmente al inicio prematuro de osteopenia y osteoporosis, o complicaciones más graves. Las deficiencias minerales óseas se han reportado después del tratamiento oncológico, y representan una

morbilidad que puede reducirse o prevenirse a través de cambios de estilo de vida y un diagnóstico oportuno al sospecharse como secuelas del cáncer (como el hipogonadismo)⁴⁷.

La etiología del déficit de densidad mineral ósea (DMO) en los pacientes pediátricos con cáncer es multifactorial, e incluye efectos directos e indirectos del cáncer y su tratamiento que resultan en pérdida ósea, disminución del crecimiento óseo y decremento del depósito mineral. La infiltración maligna y algunos agentes quimioterapéuticos, como el metotrexato y los glucocorticoides, pueden interferir directamente con el metabolismo mineral, reduciendo la acreción mineral ósea durante la terapia⁴⁷⁻⁴⁹. También una nutrición inadecuada y la inactividad física (resultado del cáncer y del tratamiento), así como algunos efectos secundarios del tratamiento, como endocrinopatías hipotálamo-hipofisarias e hipogonadismo primario, pueden ocasionar déficit de la DMO.

Los efectos adversos de los agentes quimioterapéuticos sobre metabolismo óseo ya se han descrito. Los agentes alquilantes pueden contribuir al déficit de DMO, y al deterioro de la función gonadal. De forma similar, la radiación puede resultar en osteopenia, causando alteraciones del eje hipotálamo-hipófisis o disfunción gonadal. Finalmente, el déficit mineral en los sobrevivientes tratados con trasplante de células hematopoyéticas puede resultar de los tratamientos descritos, así como de la radiación corporal total o de los medicamentos utilizados para mantener los injertos y evitar complicaciones, como enfermedad de injerto contra huésped o del tratamiento para las endocrinopatías. Así mismo, la predisposición genética, como ser caucásicos, y el estilo de vida pueden conferir al paciente un riesgo adicional. Los factores genéticos no son modificables. Sin embargo, el estilo de vida, por ejemplo la escasa movilidad secundaria a una intervención quirúrgica o la escasa ingesta de calcio y vitamina D, puede tener un impacto negativo en la modelación ósea y en lograr un pico de masa ósea. Por ello, estos pacientes pueden beneficiarse de una ingesta de calcio y vitamina D basada en las recomendaciones diarias⁵⁰.

En estudios que han utilizado absorción dual de rayos X se ha mostrado una reducción en la DMO durante el tratamiento de la enfermedad⁵¹. Los estudios longitudinales del contenido mineral óseo en sobrevivientes de leucemia linfoblástica aguda (LLA) en edad pediátrica (sin haber recibido radiación de cráneo) sugieren que el tratamiento de LLA no resulta en efectos perjudiciales a largo plazo en el desarrollo óseo. Sin embargo, la falta de una completa normalización de la DMO trabecular y cortical indica que estos pacientes requieren de un suplemento suficiente con vitamina D. Los niños con LLA, durante y poco después del tratamiento, presentan un riesgo seis veces mayor de fracturas vertebrales en comparación con los controles⁵².

Aún es incierto el beneficio del suplemento con vitamina D durante la quimioterapia, específicamente del calcitriol, ya que se ha reportado un modesto deterioro de la citotoxicidad de la dexametasona, así como de la inducción de apoptosis en células humanas pre-LLA⁵³.

6.3. Malabsorción de grasas

La vitamina D es una vitamina liposoluble que requiere la presencia de grasas de la dieta en el intestino para su

absorción. Es por esto que se ha documentado la deficiencia de vitamina D por algunas condiciones patológicas que se asocian con una mala absorción de grasas, como la enfermedad de Crohn, fibrosis quística (FQ), enfermedad celiaca, resección quirúrgica gástrica parcial o intestinal. Los pacientes con FQ sufren de una insuficiencia pancreática exocrina, lo cual resulta en malabsorción de vitaminas liposolubles, incluyendo la vitamina D. Los pacientes con FQ absorben menos del 50% de lo normal de vitamina D, dependiendo del grado de insuficiencia exocrina⁵⁴.

6.4. Enfermedad inflamatoria intestinal

Las enfermedades inflamatorias intestinales (EII), incluyendo la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa, son padecimientos multifactoriales caracterizados por la inflamación del intestino, malabsorción de nutrimentos y desmineralización ósea. Estudios realizados *in vivo* en modelos animales indican que la 1,25(OH)2D desempeña un papel en la fisiopatología de formas experimentalmente inducidas de EII. En ratones, se ha logrado inhibir el desarrollo de EII con esta forma activa de vitamina D⁵⁵. Algunos estudios actuales han implicado la manipulación de la inmunidad innata aberrante de la microbiota intestinal como un iniciador del daño de la inmunidad adaptativa asociado con la enfermedad de Crohn⁵⁶. Se propone que el efecto de la vitamina D en esta enfermedad puede involucrar ambas vías, la activación de la inmunidad innata junto con la supresión de la inmunidad adaptativa y la inflamación asociada. Desde hace 5 años se ha reconocido que la desmineralización ósea, incluyendo la osteopenia y la osteoporosis, ha sido resultado clínicamente significativo de la enfermedad en los pacientes^{57,58}. Múltiples estudios reportan una prevalencia superior al 30% de niveles bajos de 25(OH)D en pacientes con EII^{59,60}. En un ensayo clínico controlado se analizó la seguridad y eficacia de la repleción con vitamina D en pacientes con EII (de 5 a 21 años de edad) y niveles séricos de 25(OH)D < 50 nmol/l. En este estudio se compararon dosis orales de 2,000 UI diarias de vitamina D3 y dosis de 50,000 UI de vitamina D2 semanalmente durante 6 semanas, y se encontró que la dosis de 2,000 UI diarias durante 6 semanas elevó mejor los niveles séricos de 25(OH)D⁶⁰.

6.5. Asma

La insuficiencia y deficiencia de vitamina D es común en los niños con asma. Muchos de los factores de riesgo que se han asociado con hipovitaminosis D (como son etnicidad afroamericana y obesidad) se asocian igualmente con asma. Brehm y colaboradores reportaron una prevalencia del 35% de niveles séricos de 25(OH)D < 75 nmol/l entre una muestra de 1,024 niños con asma moderada persistente; así mismo, se asoció un mayor riesgo de requerir hospitalizaciones o acudir a los servicios de emergencia entre estos niños⁶¹.

Se ha estudiado el suplemento con vitamina D como medida de control de asma y riesgo de infecciones respiratorias agudas. En el estudio de Majak y colaboradores los pacientes que recibieron 500 UI de colecalciferol al día durante 6 meses presentaron menor riesgo de exacerbación del asma desencadenada por una infección del tracto respiratorio. Estos resultados indican un efecto benéfico del

suplemento con vitamina D en los niños deficientes de la misma con asma e infecciones respiratorias agudas⁶².

6.6. Trastornos de la alimentación

Dentro de los trastornos de la alimentación se agrupan varias entidades clínicas, como la anorexia nerviosa, bulimia nerviosa, trastornos de alimentación por alcoholismo y otros trastornos no especificados. Los trastornos de la alimentación colocan a los adolescentes y a los adultos jóvenes en riesgo de daño a la salud ósea. La baja DMO observada en aquellos que sufren trastornos de la alimentación es causada por una falla en la acreción del pico de masa ósea durante la adolescencia, así como una pérdida ósea durante los primeros años de la vida adulta^{63,64}. Los pacientes con trastornos de la alimentación y pérdida de masa ósea pueden cursar asintomáticos o padecer de dolor óseo, y presentar una alta incidencia de fracturas. Los adolescentes con trastornos de la alimentación están propensos a padecer fracturas por estrés, cifoescoliosis, y disminución de la estatura o falta de crecimiento⁶⁵. La pérdida ósea en los trastornos de la alimentación es frecuentemente irreversible y las modalidades de tratamiento limitadas. La pérdida ósea en estos trastornos puede ocurrir dentro de los primeros 12 meses del inicio de la enfermedad⁶⁶.

Muchos mecanismos influyen en la disminución de la DMO de los sujetos con trastornos de la alimentación, incluyendo una baja ingesta calórica y malnutrición, con bajos niveles séricos del factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-1); bajo peso corporal y una reserva escasa de tejido adiposo, con bajos niveles de leptina y altos niveles de péptido YY; deterioro de la función tiroidea; hipogonadismo, con disminución de los niveles de hormonas sexuales; y altos niveles de cortisol circulante⁶⁷. La restricción alimentaria combinada con ejercicio excesivo en mujeres sanas presenta efectos adversos en la formación y resorción ósea⁶⁸.

El mayor acúmulo de masa ósea en las niñas ocurre entre los 11 y 14 años de edad. Los factores ambientales con más influencia sobre dicho acúmulo de masa ósea en los adolescentes son los niveles de estrógenos, el ejercicio, el peso corporal y la nutrición. Todos estos factores se intersectan en las adolescentes con trastornos de la alimentación, delgadez excesiva y amenorrea⁶⁹. La alteración de estos factores y la interrupción de los procesos fisiológicos normales para la adquisición del hueso pueden resultar en una masa ósea menor a la esperada. El peso corporal —ajustado por la estatura e influenciado por la genética y factores ambientales— es la variable que, de forma aislada, más influye en la masa ósea⁶⁹. La delgadez excesiva durante la adolescencia conduce a una baja masa ósea durante la adultez y a menores reservas óseas, para llegar a la menopausia con una baja DMO y mayor riesgo de fracturas^{70,71}.

Los minerales, como el calcio, fósforo, magnesio y vitamina D, son nutrientes esenciales para la mineralización ósea. El metabolismo del calcio es anormal en los pacientes con trastornos de la alimentación. La biodisponibilidad de la vitamina D en sujetos con anorexia nerviosa es similar a los sujetos con peso normal, y puede no ser diferente el dosificarlos con vitamina D⁷².

No se ha podido demostrar la efectividad de administrar suplementos de calcio y vitamina D para incrementar la DMO

en la anorexia nerviosa⁷³. Sin embargo, se recomienda optimizar la ingesta de calcio y vitamina D. La deficiencia de vitamina D puede exacerbar el deterioro del metabolismo óseo en la anorexia⁷⁴. El IOM recomienda 1,300 mg/día de calcio, con límite de 3,000 mg, y vitamina D3 600 UI/día, con un límite de 4,000 UI, para edades de 9 a 18 años.

7. Tratamientos farmacológicos asociados a déficit de vitamina D

7.1. Terapia Intensiva

Se ha reportado una alta prevalencia (40-69%) de concentraciones bajas de vitamina D (< 50 nmol/l) en niños críticamente enfermos internados en servicios de terapia intensiva. Se ha observado una mayor deficiencia en niños de mayor edad y de piel oscura. Se han encontrado niveles de vitamina D significativamente reducidos en los pacientes con enfermedad grave al momento de su admisión hospitalaria. La hipocalcemia, el uso de catecolaminas y la administración de bolos de volumen se han asociado frecuentemente con la disminución de los niveles circulantes de vitamina D. A mayor gravedad y más días de estancia en las unidades de terapia intensiva, existe una mayor probabilidad de tener deficiencia de vitamina D.

No existen consensos ni lineamientos para el suplemento de vitamina D en estos pacientes. Por ello, se requiere de mayor investigación y de un protocolo de estudio sobre el suplemento en las unidades de terapia intensiva, ya que se ha observado que aquellos niños que recibieron suplemento con vitamina D o que ingirieron fórmulas suplementadas con vitamina D presentaron mejores niveles de concentración de la 25(OH)D⁷⁵⁻⁷⁷.

7.2. Uso de medicamentos anticonvulsivos

El uso a largo plazo de los medicamentos anticonvulsivos, también llamados fármacos antiepilépticos, utilizados para tratar las crisis convulsivas y el trastorno bipolar, como el fenobarbital, la fenitoína y carbamacepina así como el antibiótico rifampicina, pueden causar osteomalacia⁷⁸⁻⁸⁰. Dicho efecto adverso deletéreo es producido a través de la inducción del catabolismo de 1,25(OH)2D.

7.3. Uso crónico de esteroides

Los esteroides ejercen su efecto en el hueso a través de múltiples vías, incluyendo una disminución en la actividad osteoblástica, incrementando la resorción ósea, interfiriendo con el eje hormona de crecimiento-IGF-1, reduciendo la fuerza muscular y alterando el balance del calcio a nivel intestinal y renal⁸¹. Los niños y los adolescentes que se exponen a altas dosis de esteroides (dosis equivalentes a 900 mg/m² de prednisona), se encuentran en mayor riesgo de que disminuya su densidad ósea, y al final del tratamiento no será posible recuperar los valores normales de esta⁴⁸. Así, el uso de glucocorticoides más potentes, como la dexametasona, se ha asociado con una alta incidencia de déficit de DMO y fracturas⁸².

8. Monitorización del suplemento con vitamina D

A pesar del suplemento con 400 UI/día, los niños con déficit de vitamina D pueden continuar con esta deficiencia ya que pueden requerir dosis mayores de vitamina D para mantener niveles normales. En estos niños deben determinarse los niveles circulantes de vitamina D mediante pruebas de laboratorio (concentraciones séricas de 25(OH)D, concentraciones de PTH y determinación del estado mineral óseo). Si se inicia el suplemento con vitamina D, los niveles séricos deben monitorizarse cada 3 meses hasta que se alcancen los niveles normales. El estado mineral óseo y los niveles de PTH pueden monitorizarse cada 6 meses hasta que se normalicen.

9. Conclusiones

La infancia y la adolescencia son periodos cruciales para el desarrollo de un esqueleto sano; sin embargo, en estos periodos de la vida existen muchas condiciones mórbidas, que incluyen la deficiencia de vitamina D. Es importante que los clínicos reconozcan que existen poblaciones donde se debe recomendar un suplemento universal en poblaciones como los recién nacidos, los neonatos pretérmino y los niños alimentados exclusivamente con seno materno.

Se ha reportado un aumento en la deficiencia de vitamina D en los últimos años. No existe un consenso con respecto a los niveles de suficiencia de vitamina D, además de que los valores de corte varían de 20 a 30 ng/ml. Las recomendaciones de ingesta dietética en la literatura internacional se han adecuado a valores entre 400-1,000 UI, dependiendo del grupo etario. La deficiencia de vitamina D se ha considerado rara en México, y la falta de evidencia no ha permitido establecer las recomendaciones de ingesta diaria de acuerdo con las consideraciones del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Sin embargo, hoy debe reconocerse como un problema de salud, meritorio de atención y acción. Se sugiere que se lleven a cabo estudios prospectivos en México, donde se establezca la relación entre la deficiencia sérica de vitamina D y la pobre mineralización ósea.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Referencias

1. Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, et al. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96:53-8.
2. Wolpowitz D, Gilchrist BA. The vitamin D questions: how much do you need and how should you get it. *J Am Acad Dermatol.* 2006;54:301-17.
3. Holick MF. The use and interpretation of assays for vitamin D and its metabolites. *J Nutr.* 1990;120 suppl 11:1464-9.
4. Vieth R. Why Vitamin D is not a hormone, and not a synonym for 1,25-dihydroxy-vitamin D, its analogs or deltanoids. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2004;89-90(1-5):571-3.
5. Holick MF. The role of vitamin D for bone health and fracture prevention. *Curr Osteoporos Rep.* 2006;4:96-102.
6. Holick MF. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *J Clin Invest.* 2006;116:2062-72.
7. DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr.* 2004;80 6 Suppl:1689S-96S.
8. Townsend K, Evans KN, Campbell MJ, Colston KW, Adams JS, Hewison M. Biological actions of extra-renal 25-hydroxyvitamin D-1 α -hydroxylase and implications for chemoprevention and treatment. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2005;97(1-2):103-9.
9. Liu PT, Stenger S, Li H, Wenzel L, Tan BH, Krutzik SR, et al. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science.* 2006;311:1770-3.
10. Braegger C, Decsi T, Dias JA, Hartman C, Kolacek S, Koletzko B, et al. Practical approach to paediatric enteral nutrition: a comment by the ESPGHAN committee on nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2010;51:110-22.
11. Diario Oficial de la Federación NORMA Oficial Mexicana NOM-051-SCFI/SSA1-2010, Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas alcohólicas preenvasados- Información comercial y sanitaria. Disponible en: http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5137518&fecha=05/04/2010.
12. Instituto Nacional de Ciencias Médica y Nutrición Salvador Zubirán. Respuesta a oficio CEMAR/00111/2007. Disponible en: <http://www.cofemermir.gob.mx/mir/uploadtests/13113.66.59.2.OFRESP-INNCMSZ.pdf>.
13. Wagner CL, Greer FR; American Academy of Pediatrics Section on Breastfeeding; American Academy of Pediatrics Committee on Nutrition. Prevention of rickets and vitamin D deficiency in infants, children, and adolescents. *Pediatrics.* 2008;122:1142-52.
14. Prentice A. Nutritional rickets around the world. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2013;136:201-6.
15. Vidailhet M, Mallet E. [Vitamin D in childhood]. *Presse Med.* 2013;42:1383-90.
16. Theodoratou E, Tzoulaki I, Zgaga L, Ioannidis JP. Vitamin D and multiple health outcomes: umbrella review of systematic reviews and meta-analyses of observational studies and randomised trials. *BMJ.* 2014;348:g2035.
17. Gartner LM, Greer FR. Prevention of rickets and vitamin D deficiency: new guidelines for vitamin D intake. *Pediatrics.* 2003;111 4 Pt 1:908-10.
18. Flores M, Sánchez LM, Macías N, Lozada A, Díaz E, Barquera S. Concentraciones séricas de vitamina D en niños, adolescentes y adultos mexicanos. Resultados de la ENSANUT 2006. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública; 2011.
19. Widdowson EM, McCance RA, Spray CM. The chemical composition of the human body. *Clin Sci.* 1951;10:113-25.
20. Pieltain C, de Halleux V, Senterre T, Rigo J. Prematurity and bone health. *World Rev Nutr Diet.* 2013;106:181-8.
21. Hovi P, Andersson S, Järvenpää AL, Eriksson JG, Strang-Karlsson S, Kajantie E, et al. Decreased bone mineral density in adults born with very low birth weight: a cohort study. *PLoS Med.* 2009;6:e1000135.
22. Garza-Gisholt AC, Rivas-Ruiz R, Clark P. Maternal diet and vitamin D during pregnancy and association with bone health during childhood. Review of the literature. *Bol Med Hosp Infant Mex.* 2012;69:83-90.
23. Mitchell SM, Rogers SP, Hicks PD, Hawthorne KM, Parker BR, Abrams SA. High frequencies of elevated alkaline phosphatase activity and rickets exist in extremely low birth weight infants despite current nutritional support. *BMC Pediatr.* 2009;9:47.
24. Lyon AJ, McIntosh N, Wheeler K, Williams JE. Radiological rickets in extremely low birthweight infants. *Pediatr Radiol.* 1987;17:56-8.
25. Agostoni C, Buonocore G, Carnielli VP, De Curtis M, Darmaun D, Decsi T, et al. Enteral nutrient supply for preterm infants: commentary from the European Society of Paediatric

- Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2010;50:85–91.
26. Abrams SA. Committee on Nutrition. Calcium and vitamin D requirements of enterally fed preterm infants. *Pediatrics.* 2013;131:e1676–83.
 27. Spence JT, Serwint JR. Secondary prevention of vitamin D-deficiency rickets. *Pediatrics.* 2004;113 1 Pt 1:e70–2.
 28. Ward LM. Vitamin D deficiency in the 21st century: a persistent problem among Canadian infants and mothers. *CMAJ.* 2005;172:769–70.
 29. Binet A, Kooh SW. Persistence of vitamin D-deficiency rickets in Toronto in the 1990. *Can J Public Health.* 1996;87:227–30.
 30. Wagner CL, Hulse TC, Fanning D, Ebeling M, Hollis BW. High-dose vitamin D3 supplementation in a cohort of breastfeeding mothers and their infants: a 6-month follow-up pilot study. *Breastfeed Med.* 2006;1:59–70.
 31. Liel Y, Ulmer E, Shary J, Hollis BW, Bell NH. Low circulating vitamin D in obesity. *Calcif Tissue Int.* 1988;43:199–201.
 32. Hyldstrup L, Andersen T, McNair P, Breum L, Transbøl I. Bone metabolism in obesity: changes related to severe overweight and dietary weight reduction. *Acta Endocrinol (Copenh).* 1993;129:393–8.
 33. Need AG, Morris HA, Horowitz M, Nordin C. Effects of skin thickness, age, body fat, and sunlight on serum 25-hydroxyvitamin D. *Am J Clin Nutr.* 1993;58:882–5.
 34. Slominski A, Semak I, Zjawiony J, Wortsman J, Li W, Szczesniowski A, et al. The cytochrome P450scc system opens an alternate pathway of vitamin D3 metabolism. *FEBS J.* 2005;272:4080–90.
 35. Elizondo-Montemayor L, Ugalde-Casas PA, Serrano-González M, Cuello-García CA, Borbolla-Escoboza JR. Serum 25-hydroxyvitamin D concentration, life factors and obesity in Mexican children. *Obesity (Silver Spring).* 2010;18:1805–11.
 36. Abrams SA, Coss-Bu JA, Tiosano D. Vitamin D: effects on childhood health and disease. *Nat Rev Endocrinol.* 2013;9:162–70.
 37. Rock CL, Emond JA, Flatt SW, Heath DD, Karanja N, Pakiz B, et al. Weight loss is associated with increased serum 25-hydroxyvitamin D in overweight or obese women. *Obesity (Silver Spring).* 2012;20:2296–301.
 38. Wesseling-Perry K, Salusky IB. Chronic kidney disease: mineral and bone disorder in children. *Semin Nephrol.* 2013;33:169–79.
 39. Orita H, Akizawa T. [Outlines of K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Bone Metabolism and Disease in Chronic Kidney Disease]. *Clin Calcium.* 2004;14:693–7.
 40. Ali FN, Arguelles LM, Langman CB, Price HE. Vitamin D deficiency in children with chronic kidney disease: uncovering an epidemic. *Pediatrics.* 2009;123:791–6.
 41. Stein DR, Feldman HA, Gordon CM. Vitamin D status in children with chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol.* 2012;27:1341–50.
 42. Kalkwarf HJ, Denburg MR, Strife CF, Zemel BS, Foerster DL, Wetzsteon RJ, et al. Vitamin D deficiency is common in children and adolescents with chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2012;81:690–7.
 43. Zhang R, Naughton DP. Vitamin D in health and disease: current perspectives. *Nutr J.* 2010;9:65.
 44. Griffin LM, Denburg MR, Shults J, Furth SL, Salusky IB, Hwang W, et al. Nutritional vitamin D use in chronic kidney disease: a survey of pediatric nephrologists. *Pediatr Nephrol.* 2013;28:265–75.
 45. Mehrotra R, Kermah DA, Salusky IB, Wolf MS, Thadhani RI, Chiu YW, et al. Chronic kidney disease, hypovitaminosis D, and mortality in the United States. *Kidney Int.* 2009;76:977–83.
 46. Stefíková K, Spustová V, Krivošíková Z, Okša A, Gazdíková K, Fedelesova V, et al. Insulin resistance and vitamin D deficiency in patients with chronic kidney disease stage 2-3. *Physiol Res.* 2011;60:149–55.
 47. Warner JT, Evans WD, Webb DK, Bell W, Gregory JW. Relative osteopenia after treatment for acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Res.* 1999;45 4 Pt 1:544–51.
 48. Mandel K, Atkinson S, Barr RD, Pencharz P. Skeletal morbidity in childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol.* 2004;22:1215–21.
 49. Pfeilschifter J, Diel IJ. Osteoporosis due to cancer treatment: pathogenesis and management. *J Clin Oncol.* 2000;18:1570–93.
 50. Wasilewski-Masker K, Kaste SC, Hudson MM, Esiashvili N, Mattano LA, Meacham LR. Bone mineral density deficits in survivors of childhood cancer: long-term follow-up guidelines and review of the literature. *Pediatrics.* 2008;121:e705–13.
 51. Halton J, Gaboury I, Grant R, Alos N, Cummings EA, Matzinger M, et al. Advanced vertebral fracture among newly diagnosed children with acute lymphoblastic leukemia: results of the Canadian Steroid-Associated Osteoporosis in the Pediatric Population (STOPP) research program. *J Bone Miner Res.* 2009;24:1326–34.
 52. van der Sluis IM, van den Heuvel-Eibrink MM, Hählen K, Krenning EP, de Muinck Keizer-Schrama SM. Altered bone mineral density and body composition, and increased fracture risk in childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr.* 2002;141:204–10.
 53. Antony R, Sheng X, Ehsanipour EA, Ng E, Pramanik R, Klemm L, et al. Vitamin D protects acute lymphoblastic leukemia cells from dexamethasone. *Leuk Res.* 2012;36:591–3.
 54. Lo CW, Paris PW, Clemens TL, Nolan J, Holick MF. Vitamin D absorption in healthy subjects and in patients with intestinal malabsorption syndromes. *Am J Clin Nutr.* 1985;42:644–9.
 55. Froicu M, Weaver V, Wynn TA, McDowell MA, Welsh JE, Cantorna MT. A crucial role for the vitamin D receptor in experimental inflammatory bowel diseases. *Mol Endocrinol.* 2003;17:2386–92.
 56. Guarner F. [The intestinal microbiota and inflammatory bowel disease]. *Gastroenterol Hepatol.* 2011;34:147–54.
 57. Benchimol EI, Ward LM, Gallagher JC, Rauch F, Barrowman N, Warren J, et al. Effect of calcium and vitamin D supplementation on bone mineral density in children with inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2007;45:538–45.
 58. Sylvester FA, Wyzga N, Hyams JS, Davis PM, Lerer T, Vance K, et al. Natural history of bone metabolism and bone mineral density in children with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2007;13:42–50.
 59. Levin AD, Wadhwa V, Leach ST, Woodhead HJ, Lemberg DA, Mendoza-Cruz AC, et al. Vitamin D deficiency in children with inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci.* 2011;56:830–6.
 60. Pappa HM, Mitchell PD, Jiang H, Kassiff S, Filip-Dhima R, DiFabio D, et al. Treatment of vitamin D insufficiency in children and adolescents with inflammatory bowel disease: a randomized clinical trial comparing three regimens. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97:2134–42.
 61. Brehm JM, Schuemann B, Fuhlbrigge AL, Hollis BW, Strunk RC, Zeiger RS, et al. Serum vitamin D levels and severe asthma exacerbations in the Childhood Asthma Management Program study. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;126:52–8, e5.
 62. Majak P, Olszowiec-Chlebna M, Smejda K, Stelmach I. Vitamin D supplementation in children may prevent asthma exacerbation triggered by acute respiratory infection. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127:1294–6.
 63. Soyka LA, Grinspoon S, Levitsky LL, Herzog DB, Klibanski A. The effects of anorexia nervosa on bone metabolism in female adolescents. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999;84:4489–96.
 64. Misra M, Aggarwal A, Miller KK, Almazan C, Worley M, Soyka LA, et al. Effects of anorexia nervosa on clinical, hematologic, biochemical, and bone density parameters in community-dwelling adolescent girls. *Pediatrics.* 2004;114:1574–83.
 65. Modan-Moses D, Yaroslavsky A, Novikov I, Segev S, Toledano A, Miterany E, et al. Stunting of growth as a major feature of anorexia nervosa in male adolescents. *Pediatrics.* 2003;111:270–6.

66. Wong JC, Lewindon P, Mortimer R, Shepherd R. Bone mineral density in adolescent females with recently diagnosed anorexia nervosa. *Int J Eat Disord*. 2001;29:11–6.
67. Zuckerman-Levin N, Hochberg Z, Latzer Y. Bone health in eating disorders. *Obes Rev*. 2014;15:215–23.
68. Ihle R, Loucks AB. Dose-response relationships between energy availability and bone turnover in young exercising women. *J Bone Miner Res*. 2004;19:1231–40.
69. Misra M, Klibanski A. The neuroendocrine basis of anorexia nervosa and its impact on bone metabolism. *Neuroendocrinology*. 2011;93:65–73.
70. Lucas AR, Melton LJ 3rd, Crowson CS, O’Fallon WM. Long-term fracture risk among women with anorexia nervosa: a population-based cohort study. *Mayo Clin Proc*. 1999;74:972–7.
71. Tomlinson D, Morgan SL. Eating disorders and bone. *J Clin Densitom*. 2013;16:432–8.
72. Divasta AD, Feldman HA, Brown JN, Giancaterino C, Holick MF, Gordon CM. Bioavailability of vitamin D in malnourished adolescents with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96:2575–80.
73. Attia E, Walsh BT. Anorexia nervosa. *Am J Psychiatry*. 2007;164:1805–10, quiz 1922.
74. Yager J, Devlin MJ, Halmi KA, Herzog DB, Mitchell JE 3rd, Powers P, et al. Guideline Watch (August 2012): practice guideline for the treatment of patients with eating disorders. American Psychiatric Publishing. Psychiatry online. Disponible en: http://psychiatryonline.org/pb/assets/raw/sitewide/practice_guidelines/guidelines/eatingdisorders-watch.pdf.
75. Madden K, Feldman HA, Smith EM, Gordon CM, Keisling SM, Sullivan RM, et al. Vitamin D deficiency in critically ill children. *Pediatrics*. 2012;130:421–8.
76. McNally JD, Menon K, Chakraborty P, Fisher L, Williams KA, Al-Dirbashi OY, et al. The association of vitamin D status with pediatric critical illness. *Pediatrics*. 2012;130:429–36.
77. Rippel C, South M, Butt WW, Shekerdemian LS. Vitamin D status in critically ill children. *Intensive Care Med*. 2012;38:2055–62.
78. Andress DL, Ozuna J, Tirschwell D, Grande L, Johnson M, Jacobson AF, et al. Antiepileptic drug-induced bone loss in young male patients who have seizures. *Arch Neurol*. 2002;59:781–6.
79. Pack AM, Morrell MJ. Epilepsy and bone health in adults. *Epilepsy Behav*. 2004;5 Suppl 2:S24–9.
80. Shah SC, Sharma RK, Hemangini Chitle AR. Rifampicin induced osteomalacia. *Tubercle*. 1981;62:207–9.
81. Hochberg Z. Mechanisms of steroid impairment of growth. *Horm Res*. 2002;58 Suppl 1:33–8.
82. Strauss AJ, Su JT, Dalton VM, Gelber RD, Sallan SE, Silverman LB. Bony morbidity in children treated for acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol*. 2001;19:3066–72.

Review Article

Comparison of International Reference Values for Bone Speed of Sound in Pediatric Populations: Meta-analysis

R. Rivas-Ruiz,^{1,3} L. Méndez-Sánchez,^{*2,3} O. D. Castelán-Martínez,² P. Clark,^{2,3}
 J. Tamayo,⁴ J. O. Talavera,^{1,5} G. Huitrón,⁵ and J. Salmerón-Castro^{6,7}

¹Centro de Adiestramiento en Investigación Clínica, Coordinación de Investigación en Salud, Centro Médico Nacional S. XXI, IMSS, México, D.F.; ²Unidad de Epidemiología Clínica, Hospital Infantil de México Federico Gómez, México, D.F.; ³Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F.; ⁴Comité Mexicano para la Prevención de la Osteoporosis, México, D.F.; ⁵Centro de Investigación en Ciencias Médicas, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, México; ⁶Unidad de Investigación Epidemiológica y en Servicios de Salud, Instituto Mexicano del Seguro Social, Cuernavaca, México; and ⁷Centro de Investigación de Salud Poblacional, Instituto Nacional de Salud Pública, Cuernavaca, México

Abstract

The aim of this study was to compare international reference values (RV) for tibial and radial speed of sound (SoS) assessed by quantitative ultrasound (QUS) in pediatric populations. These values were compared by age and country of origin in a systematic review with meta-analysis from studies published on QUS (Sunlight Omnisense). A search was carried out in electronic databases. Nine studies with 6963 patients were included in the meta-analysis. For the newborn populations, 3 studies (from Italy, Portugal, and Israel) were used. These studies included subjects with 27–42 wk gestational age. The mean difference (Portugal-Israel) was found to be 23.62 m/s [95% confidence interval [CI] 6.29, 40.95]. Additionally, no difference was found between Italy-Portugal ($p = 0.69$), or Italy-Israel ($p = 0.28$). In pediatric populations, we compared 8 studies from Canada, Mexico, Israel, Greece, Portugal, and Turkey. No significant differences found for SoS RV between Israel-Turkey, Israel-Greece, or Israel-Canada ($p > 0.05$). Significant differences were found in Mexico-Israel -105.29 m/s (95% CI -140.05 , -70.54) ($p < 0.001$); Mexico-Portugal -115.14 m/s (95% CI -164.86 , -65.42) ($p < 0.001$); Mexico-Greece: -239.14 m/s (95% CI -267.67 , -210.62) ($p < 0.001$); Mexico-Turkey: -115.14 m/s (95% CI -164.86 , -65.42) ($p < 0.001$); Mexico-Canada: -113.51 m/s (95% CI -140.25 , -86.77) ($p < 0.001$). This study demonstrates that there are differences in SoS-RV obtained by tibial and radial QUS in pediatric populations between Mexico and other countries (Israel, Portugal, Greece, Turkey, and Canada).

Key Words: Pediatrics; quantitative ultrasound; reference-values and meta-analysis; speed of sound.

Introduction

Osteoporosis (OP) is a major public health problem over the world (1,2). Currently, pediatric population represents a new target in the battle against low bone mass and OP. An

Received 01/11/15; Revised 04/07/15; Accepted 04/23/15.

*Address correspondence to Lucía Méndez-Sánchez, PhD, Unidad de Epidemiología Clínica, Hospital Infantil de México Federico Gómez, Dr. Márquez No. 162, Col. Doctores Del. Cuauhtémoc, C.P. 06720, Ciudad de México. E-mail: luciamendezs@gmail.com

adequate peak bone mass during childhood and adolescence could help to prevent fragility fractures and OP later in life, and therefore, establishing programs to monitor bone accretion during this period of life is mandatory. Quantitative ultrasound (QUS) is a safe, inexpensive, and non-radiation method for bone density assessment. QUS correlates with dual-energy X-ray absorptiometry (3,4). QUS has raised great expectations due to its safety features (radiation-free), low cost, portability, ease of use, and simple logs, making this technology an attractive method to be used in pediatric populations

where dual-energy X-ray absorptiometry could be impractical (5,6).

Several studies have demonstrated that QUS is able to independently assess the risk for fragility fracture, bone accretion, and follow-up monitoring in pediatric populations (7,8).

Clinical utilization of QUS relies on population-based reference values (RV) to distinguish between normal and abnormal populations. It could be used to recommend changes in life style, especially during the age of bone accretion (9,10).

Nevertheless, some authors argue that there are differences in bone characteristics between countries due to the interaction of genetics, metabolic, and environmental factors and that this phenomenon can be explained based on evidence of differences in bone growth across different populations (11–14).

The RV of the Sunlight QUS equipment is based on a paper in Israeli population (15); nevertheless, other authors have published their own local RV, reporting some differences (16,17). Recently, we reported RV for Mexican population (18), which indeed has different ethnic and genetic background compared with those recently published for European population. Therefore, the goal of the present meta-analysis was to compare the RV reported in the literature with those for the Mexican population looking for differences across studies and trying to demonstrate the importance of using local RV based on similar population backgrounds to obtain reliable measurements.

Methods

A systematic review was performed focusing on healthy pediatric populations (from newborn to 18 yr). We included articles with measurements of bone SoS (tibial SoS and/or radius SoS) using the Sunlight Omnisense QUS equipment.

Literature Survey

The search was conducted electronically and manually from the following databases: PubMed (1965 to November 2013), Embase (1988 to November 2013), LILACS (1990 to May 2012), ARTEMISA (review of the 13th edition up to June 2013). The MeSH terms used were “Reference Standards”(Mesh) or “Reference Values”(Mesh) and “bone and bones” (Mesh) and “speed of sound” (txt). Adaptations required for the different databases were used. References of all identified studies as well as major reviews were inspected for more studies. Additionally, the first or corresponding author of each included study was contacted for complementary information or information regarding unpublished data.

Evidence Quality Evaluation

Standardized methods as described by the Ibero-American Cochrane Collaboration were used to prepare the protocol, applying inclusion criteria, assessing the quality of publications and extracting information. The quality of publications was determined using the GRADE system (19). Two of the authors, in a double-blind, independent manner, extracted relevant information and assessed its quality in formats a priori-designed for this purpose. Any disagreement was resolved by discussion and analysis of the information. Level of agreement between investigators was high (Kappa of 0.91 [$p < 0.001$]).

Inclusion and Exclusion Criteria

Only cross-sectional studies reporting tibial and/or radius SoS measured by QUS (Sunlight Omnisense) in pediatric populations (≤ 18 yr) were selected. Also articles in English, Spanish, French, Italian, or Portuguese were included. If assessment of age, SoS mean, or standard deviation was not possible, the study was discharged.

Table 1
Characteristics of the Population Included in the Meta-analysis

Author, year	Reference	Country	N	Girls	Boys	Age (min-max)
Teitelbaum, 2006	19	Israel	233	NA	NA	25–42 wk
Pereira-da-Silva, 2011	18	Portugal	158	74	84	26–41 wk
Pedrotti 2007 up	29	Italy	212			33–41 wk
Zadik, 2003	22	Israel	1085	595	490	0–18 yr
Anjumanara, 2006	25	Turkey	463	234	229	1–16 yr
Christoforidis, 2009	21	Greece	1549	814	735	4–18 yr
Baptista, 2011	24	Portugal	430	213	217	9–13 yr
Klentrou, 2011	20	Canada	595	NA	595	14–23 yr
Rivas-Ruiz, 2014	23	Mexico	1586	772	814	1–75 yr
Total	9	7	6963	3030	3488	

NA, not available data; up, unpublished data sent by the author.

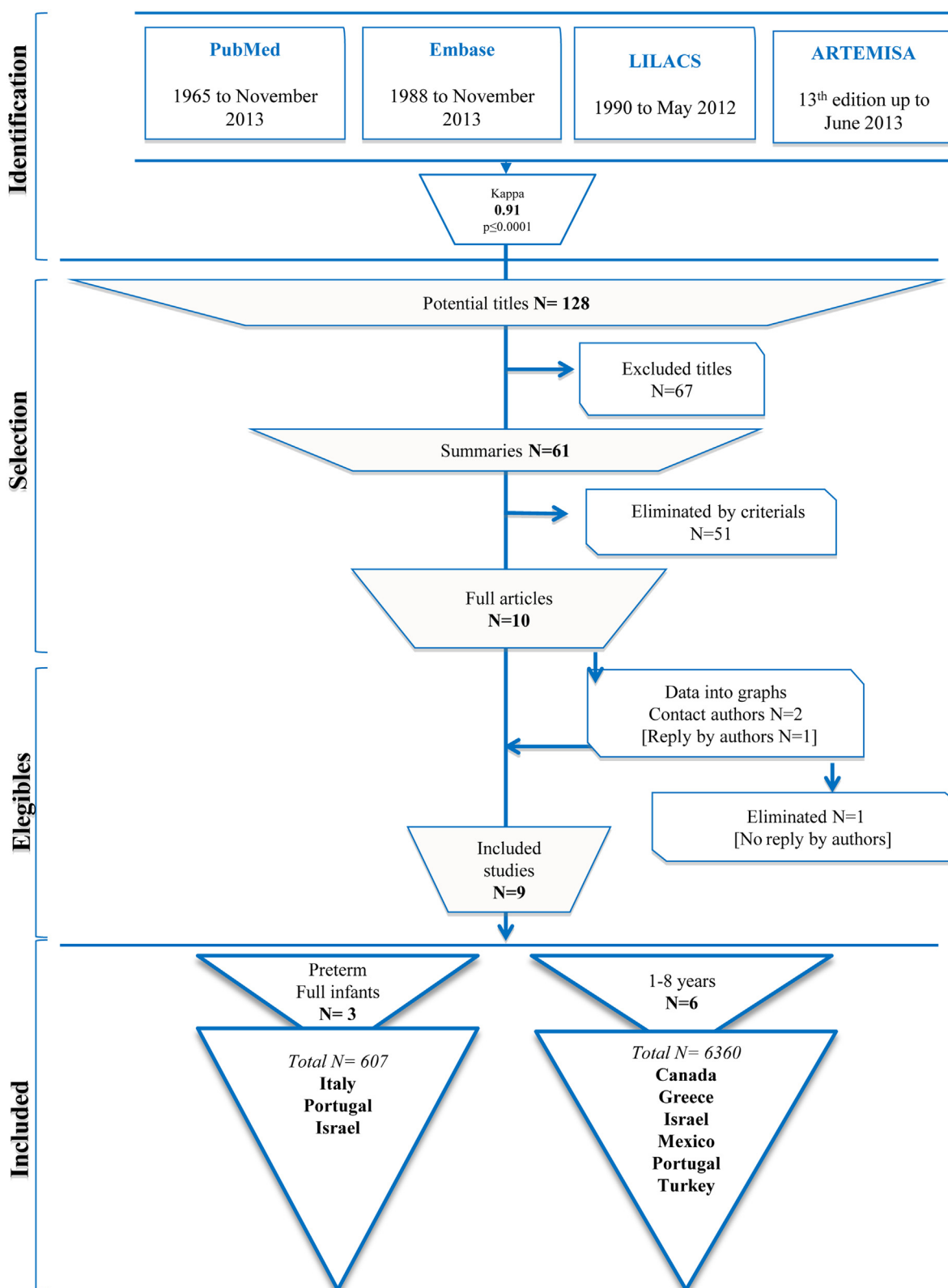


Fig. 1. Flow chart. The initial search strategy yielded 128 potential titles to be included in this review. After careful/strict review of the summaries of each article, 67 were excluded because they covered topics not related to our review questions or examined a population of individuals older than 18 yr. After thorough review of the remaining 61 studies, 51 additional

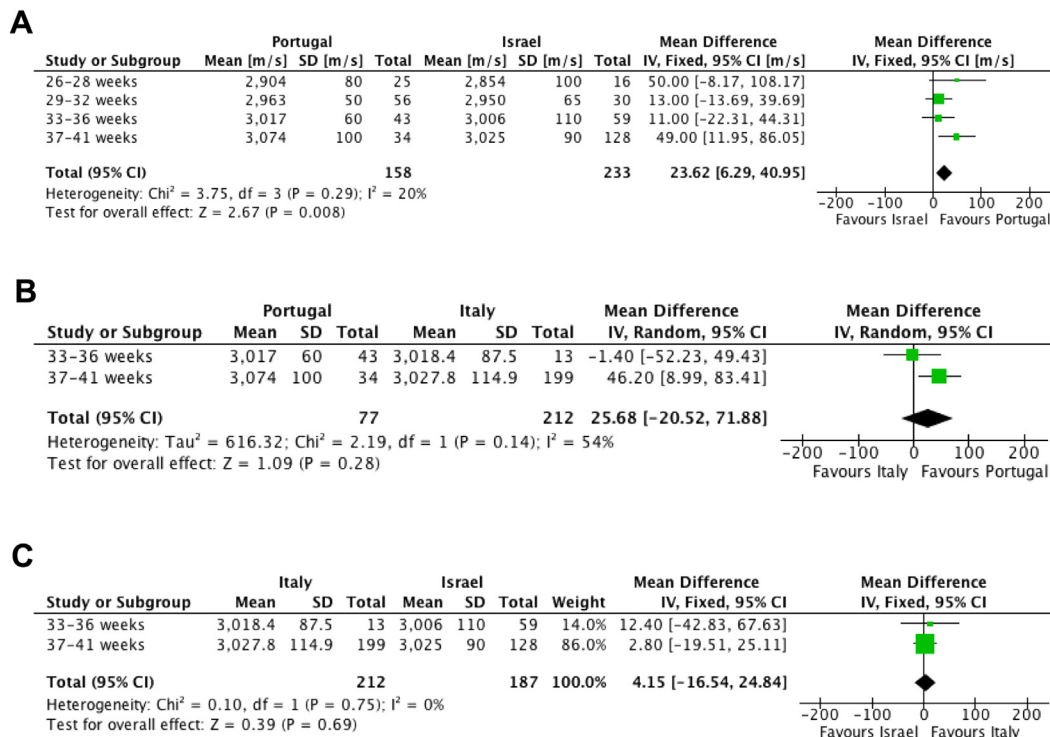


Fig. 2. Comparison of speed of sound in tibia in a newborn population. (A) Portugal vs Israel, (B) Portugal vs Italy, and (C) Italy vs Israel.

Data Extraction

The data collected from the studies was age, gender, QUS parameters, date of publication, and country where the study was conducted (Table 1).

Statistical Analysis

A meta-analytic technique of the selected studies was used including all available populations with QUS parameters (SoS: tibial and/or radius). SoS mean difference was estimated between countries and stratified by gender and by each year of life (age) from 1 to 18 yr. For the analysis, a weighted mean difference, with 95% confidence interval (CI) was used, also a chi-square test was used. Heterogeneity across studies was determined by the I-squared statistic, which describes the percentage of total variation across studies that is caused by heterogeneity rather than chance (20). All statistical analyses were performed using the Review

Manager (RevMan) version 5.1. In all cases, a p value < 0.05 was considered as statistically significant.

Results

Description and Quality of Studies

The initial search strategy yielded 128 potential titles to be included in this review. After careful/strict review of the summaries of each article, 67 were excluded by pre-specified criteria because they covered topics not related to our review questions or examined a population of individuals older than 18 yr. After thorough review of the remaining 61 studies, 51 additional studies were discarded (Fig. 1; flow chart) leaving 10 articles for further analysis. Two articles one from Italy (Pedrotti et al) (16) and other from the United States (Pettinato et al) (21) report reference data with graphs but without extractable information. We contacted both authors

studies were discarded because they were narrative reviews of the evidence (2 articles); used bone measurements other than tibial or radial SOS, such as measurements at the phalanges or calcaneus with other parameters like Ad-SOS, BUA, or QUI (41 articles); lacked sufficient consistency and/or yield between what was described in the objectives and what was reported in the analysis, or did not contain sufficient extractable raw data to contribute to the goals of our review (8 articles); leaving 10 articles for further analysis. Two articles one from Italy (Pedrotti et al (16)) and other from the United States (Pettinato, et al (21)) report reference data with graphs but without extractable information. We contacted both authors via e-mail but only one (Pedrotti et al) sent the raw data. Finally, 9 studies from 7 different countries with raw reference data sorted by age were included in the meta-analysis. A total of 6963 patients from 9 studies were included. SOS, speed of sound; Ad-SoS, amplitude-dependent speed-of-sound; BUA, broadband ultrasound attenuation; QUI, quantitative ultrasound index.

via e-mail but only one (16) sent the raw data. Finally, 9 studies from 7 different countries with raw reference data sorted by age were included in the meta-analysis (see flow chart). A summary of the characteristics of studies included in our meta-analysis is shown in Table 1.

Finally a total of 6963 patients from 9 studies were included.

Preterm and Term Infants

Three studies from Italy (16), Portugal (22), and Israel (23) that included preterm and full-term infants were used. These studies included 607 healthy newborn infants from 27 to 41 wk of gestational age. Differences were found at the SoS tibia only in full-term infants 49 m/s (95% CI 11.95, 86.05) ($p = 0.001$), as shown in Fig. 2 A. In general, the neonatal population from Portugal showed higher SoS when compared with the Israeli population with a mean difference of 23.62 m/s (95% CI 6.29, 40.95) ($p = 0.008$) faster in the Portuguese population. The heterogeneity between populations were non-significant ($I^2 = 20\%$, $p = 0.29$).

In the comparison between Portugal and Italy newborn subjects (Fig. 2 B), no differences were found in the group of

newborns aged 33–36 gestational weeks ($p > 0.05$). The newborn population of Portugal had no differences with the Italian population, with a mean difference of 25.68 m/s (95% CI -20.52 , 71.88) ($p = 0.28$). We also found that these populations were different as showed by results on heterogeneity ($I^2 = 54\%$, $p = 0.14$) and when the analysis was made with random effects. Finally, no differences were found in the comparison between Italy and Israel ($p = 0.69$), shown in Fig. 2 C.

Infants From 1 to 18 Yr

In the population aged 1–18 yr, 7 studies were found including a total of 6360 healthy subjects, of which 56.4% were female. The studies were conducted in the following countries: Israel (15), Turkey (17), Mexico (18), Canada (24), Greece (25), and Portugal (26). Only the studies from Mexico and Israel reported complete data for infants between 1 and 18 yr. The rest of the studies measured only a subset of infant age ranges and the Canadian study included only females (24). All studies measured tibial and radial SoS, and the overall results between populations sorted by gender are presented in Table 2. A comparison of RV between Mexico and other countries showed that Mexican participants had

Table 2

Comparison of the Reference Values of Speed of Sound Found in the Meta-analysis, Between Mexico and Other Countries

Country	Age	Participants	Mean difference (m/s) (95% CI)	<i>p</i>
a. Mean difference of speed of sound in tibia between México and other reference data				
Girls				
Israel	1–18	1364	−105.29 (−140.05, −70.54)	<0.001 ^a
Turquía	1–16	760	−105.61 (−154.58, −56.63)	<0.001 ^a
Grecia	4–18	1488	−239.14 (−267.67, −210.62)	<0.001 ^a
Portugal	9–13	418	−130.13 (−150.80, −109.46)	<0.001 ^b
Canadá	14–18	864	−114.45 (−130.46, −98.43)	<0.001 ^a
Boys				
Israel	1–18	1299	−61.54 (−118.33, −4.74)	0.03 ^a
Turquía	1–16	755	−115.14 (−164.86, −65.42)	<0.001 ^a
Grecia	4–18	1409	−146.73 (−167.75, −125.71)	<0.001 ^a
Portugal	10–13	387	−160.09 (−180.93, −139.26)	<0.001 ^b
b. Mean difference of speed of sound in radio between México and other reference data				
Girls				
Israel	1–18	1376	−138.95 (−157.41, −120.48)	<0.001 ^a
Turquía	1–16	806	−92.93 (−122.40, −63.47)	<0.001 ^a
Grecia	4–18	1548	−150.77 (−160.52, −141.01)	<0.001 ^b
Portugal	9–13	418	−132.49 (−150.91, −114.07)	<0.001 ^b
Canadá	14–18	864	−173.55 (−196.21, −150.88)	<0.001 ^a
Boys				
Israel	1–18	1232	−145.36 (−168.21, −122.51)	<0.001 ^a
Turquía	1–16	778	−97.01 (−134.23, −59.78)	<0.001 ^a
Grecia	4–18	1400	−157.53 (−172.84, −142.21)	<0.001 ^a
Portugal	9–13	379	−173.11 (−192.53, −153.69)	<0.001 ^b

CI, confidence interval.

^aRandom effects.

^bFixed effects.

slower SoS than other countries being all statistically significant ($p < 0.03$ to $p < 0.001$). The smallest mean differences were found in the comparison with Israel (-105.29 m/s [95% CI -140.05 , -70.54]) and the greatest difference was found against the Greek population (-239.14 m/s [95% CI -267.67 , -210.62]) on Table 2a. Similar results were found at the radio, Table 2b. The mean differences were found in the comparison with Turkey (-92.93 m/s [95% CI -122.40 , -63.47]), and the difference was found with the Canadian population (-173.55 m/s [95% CI -196.21 , -150.88]).

In Table 3, the actual RV for Israeli population (15) are compared with those for all other populations. We found scarce differences in the female population at the tibia in comparison with the Turkish population (14.65 m/s [95% CI 0.22, 29.08] $p < 0.05$) and when compared with Portuguese population (25.94 m/s [95% CI 4.50, 47.37] $p < 0.02$), in Table 3a. There were no statistically significant differences with Greece and Portugal, and no differences were found in the male population as well.

In Table 3b, we show the comparison between the actual RV in radio between Israel vs other populations. We found scarce differences between Turkey 49.92 m/s (95% CI 33.32, 66.53), and with Canada -42.72 m/s [95% CI -57.78 , -27.65], both statistically significantly. Fig. 3A shows the forest-plot of the comparison of tibial SoS in Mexican girls vs Israeli girls; no differences were found until 6 yr, and afterward, the Israeli

girls show higher SoS than the Mexican girls; finally, the results favor Israel with -105.29 m/s (95% CI -140.05 , -70.54). We also found heterogeneity among populations with an I^2 of 89%; therefore, populations were analyzed using mean differences by random effects.

Fig. 3 shows the forest-plot with the comparison between Mexico and Israeli population. The comparison in tibial (Fig. 3A) and radial (Fig. 3B) SoS shows similar results, with no differences until 6 yr between Mexican and Israeli girls. After this age, the comparison of the tibial and radial SoS favors the Israeli population. Same comparison is presented for males in Fig. 3C and D; a high heterogeneity ($I^2 = 96\%$) was found, with differences favoring Mexican boys during the first 3 yr, no differences at 4 yr, and after 4 yr Israeli boys show higher SoS than the Mexican boys at the tibia (Fig. 3C). Results favor Israel with an overall effect of $p = 0.03$ with a mean difference of -61.54 m/s (95% CI -118.33 , -4.74). Fig. 3D shows the forest-plot of the radial SoS, with difference at all ages favoring Israeli boys (except in the 2-yr boys). The overall effect favors the Israeli population ($p = 0.001$), with a mean difference of -145.36 m/s (95% CI -168.21 , -122.51).

The comparison of mean SoS from the different countries included in this analysis is shown in Fig. 4. We compared each country against all other (forest-plot not shown) and found no differences between countries with the exception

Table 3
Comparison of the Reference Values of Speed of Sound Found in the Meta-analysis

Comparison	Age	Participants	Mean difference (m/s) (95% CI)	<i>p</i>
a. Mean difference of speed of sound on tibia whit reference data countries				
Girls				
Israel vs Turkei	1–16	658	14.65 (0.22, 29.08)	<0.05 ^a
Israel vs Greece	4–18	2184	-11.83 (-28.23 , 4.57)	<0.16 ^b
Israel vs Portugal	9–13	375	25.94 (4.50, 47.37)	<0.02 ^a
Israel vs Canada	14–18	765	11.01 (-5.23 , 27.25)	<0.18 ^a
Boys				
Israel vs Turkey	1–16	577	6.28 (-15.67 , 28.23)	<0.57 ^b
Israel vs Greece	4–18	1140	-3.65 (-22.77 , 15.47)	<0.61 ^b
Israel vs Portugal	9–13	347	62.13 (18.61, 105.66)	<0.005 ^b
b. Mean difference of speed of sound on radio whit reference data countries				
Girls				
Israel vs Turkey	1–16	629	47.83 (32.40, 63.26)	<0.001 ^a
Israel vs Greece	4–18	1268	-0.92 (-11.71 , 9.86)	0.87 ^a
Israel vs Portugal	9–13	366	19.69 (1.12, 38.26)	0.04 ^a
Israel vs Canada	14–18	744	-42.72 (-57.78 , -27.65)	<0.001 ^a
Boys				
Israel vs Turkey	1–16	547	49.92 (33.32, 66.53)	<0.001 ^a
Israel vs Greece	4–18	1104	9.93 (-2.25 , 22.12)	0.11 ^a
Israel vs Portugal	9–13	311	18.41 (-2.73 , 39.56)	0.09 ^a

^aFixed effects.

^bRandom effects.

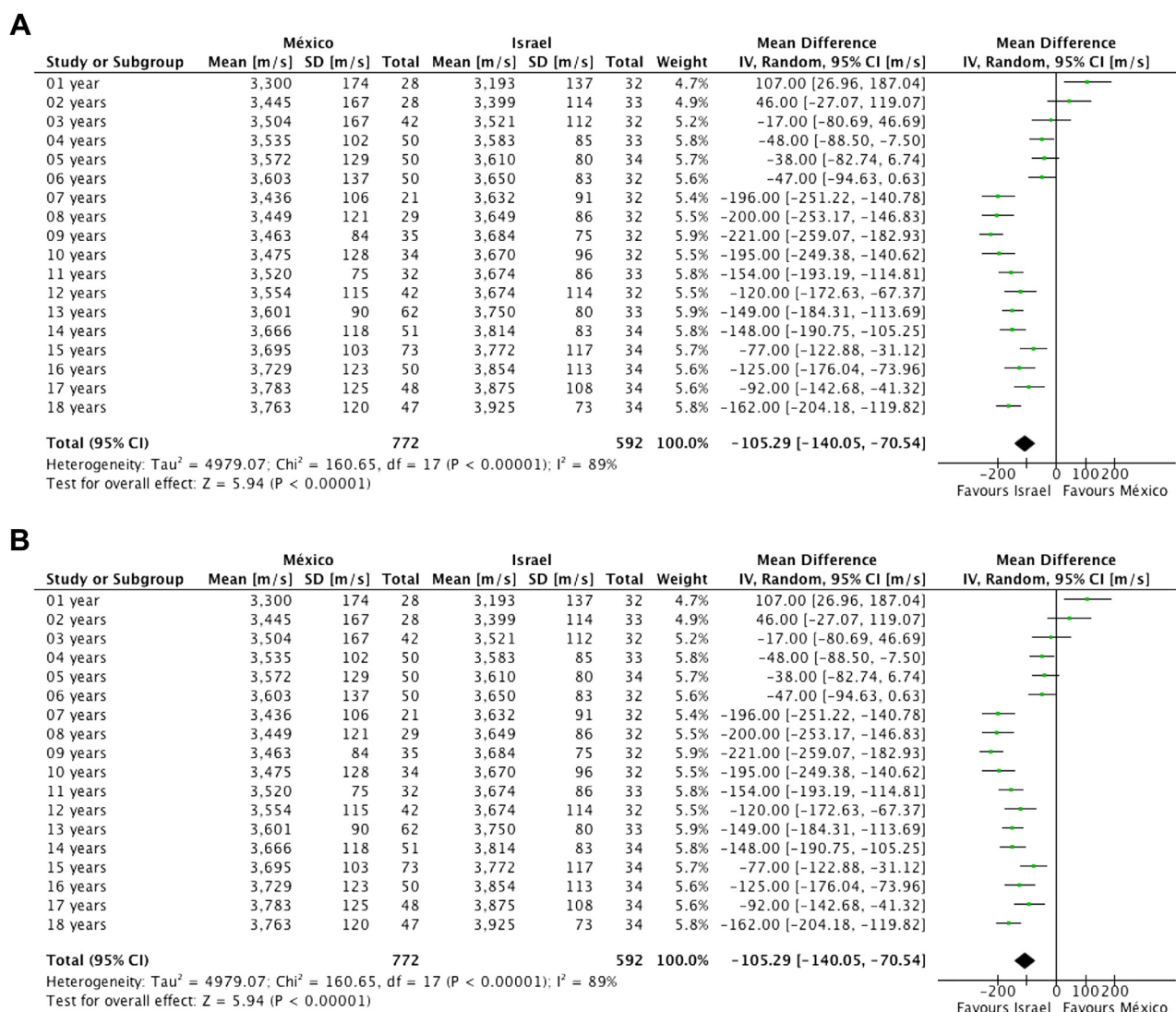


Fig. 3. Forest plot of the comparison between Mexico and SOS reference values from the Israeli population. **(A)** Forest plot of the comparison of tibial SOS in females. **(B)** Forest plot of the comparison of radial SOS in females. **(C)** Forest plot of the comparison of tibial SOS in males. **(D)** Forest plot of the comparison of radial SOS in males. SOS, speed of sound.

of Mexico, where slower SoS was found after 4 yr in the 2 sites and between genders.

Discussion

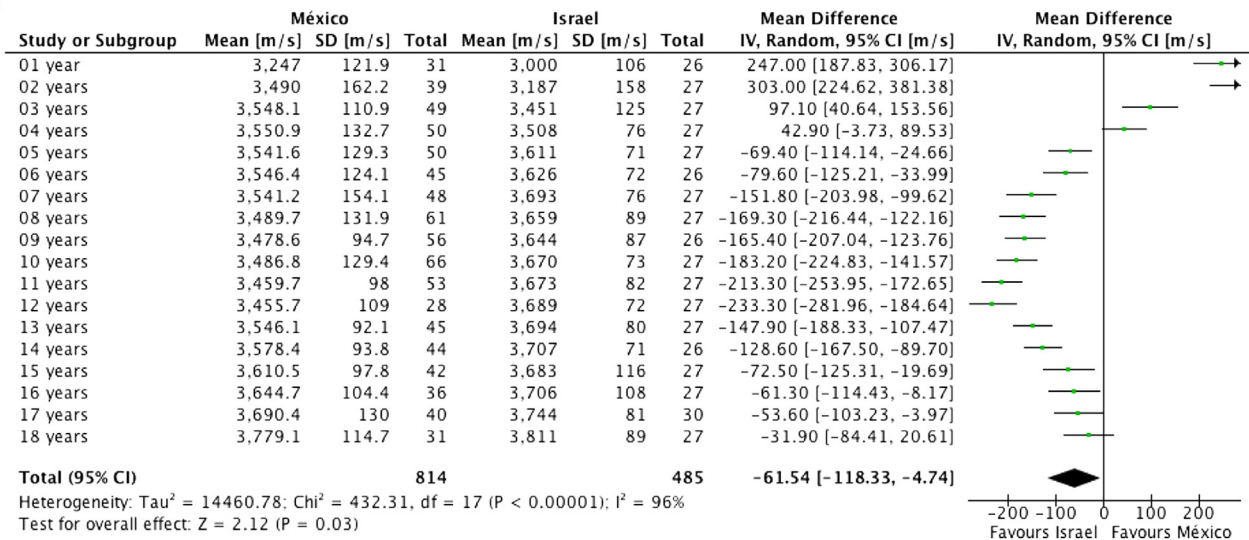
The main results of this analysis indicate that RV published for QUS in different populations vary between countries. Israel, Turkey, Greece, Portugal, and Canada have very similar RV, with no statistically significant differences between them. Clearly, these differences did not even reach 100 m/s of the SOS; therefore, they cannot be considered clinically significant. A very different scenario is found with the Mexican RV: statistically significant differences were found in all measured parameters, in both girls and boys, as well

as both anatomical sites, except for Israel vs Mexico boys at the tibia, the differences above 100 (m/s) ($p = 0.001$) were considered clinically significant.

Many authors have mentioned that their populations are different from others (16,20–23); previously, in México, Tamayo et al published RV for areal bone mineral density among a healthy Mexican population (12), where they observed differences between the given normal data and the Mexican reference data. However, our study is the first that has analyzed meta-analytical techniques and show comparisons between SoS-RV in different populations (the precision and the magnitude as shown in Tables 1 and 2).

The fact that the Mexican population has a significant lower SoS (18) could be explained by several hypotheses,

C



D

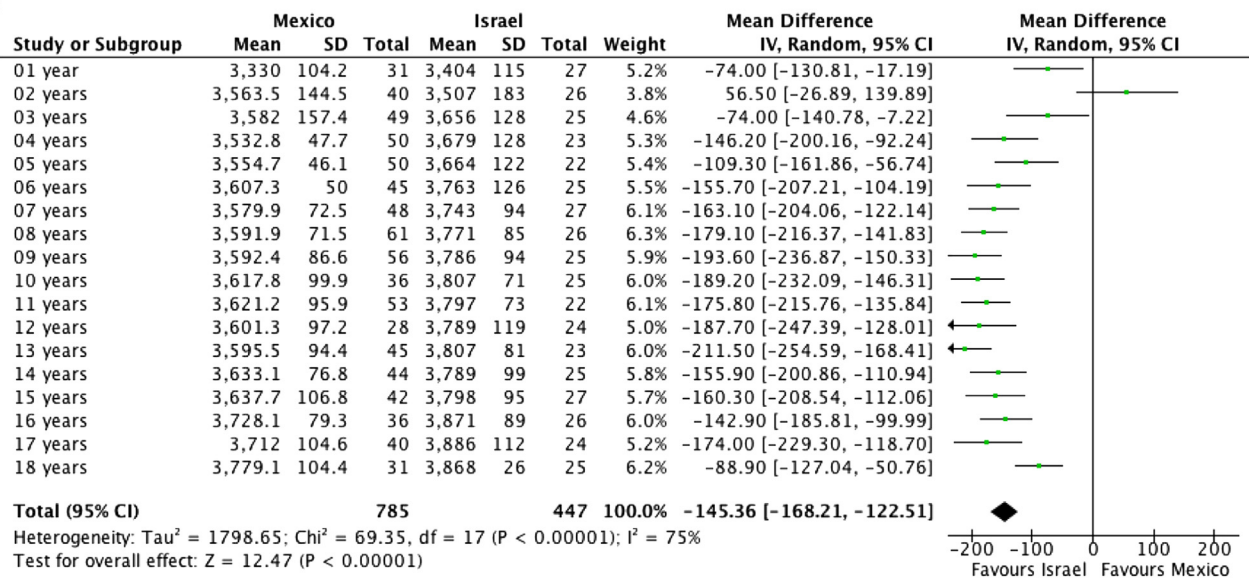


Fig. 3. Continued

ranging from the genetic factors to the influence of environmental (27) and/or cultural factors (28): exposure to sun, diet (29), and physical activity (30).

As we previously comment, genetic factors, although relevant, are out of the scope of this study. Nevertheless, no clear association of bone mass with specific genetic factors in Mexican Mestizo has been published, either alone or in comparison with other countries.

Limitations of this type of meta-analysis include the comparison of the mean and the standard deviation between groups of different age, instead of individual raw data obtained direct from the patients. But this type of analysis has been used in other robust and common analysis such as Student's *t*-test,

and in both analysis, the basic algebraic structure shows the difference between 2 means weighted by their dispersion (31).

In summary, the present study shows a significant difference in the SoS-RV obtained by QUS (Sunlight Omnisense) from the tibia and the radius in pediatric populations between Mexico and other countries (Israel, Portugal, Greece, Turkey, and Canada); however, no differences were found between all the other countries. Therefore, European and Canadian populations may use the Zadick reference data, whereas Mexicans have to use the specific RV developed for their population. The significant differences found between countries might be explained by differences in genetic background as well as in lifestyle factors.

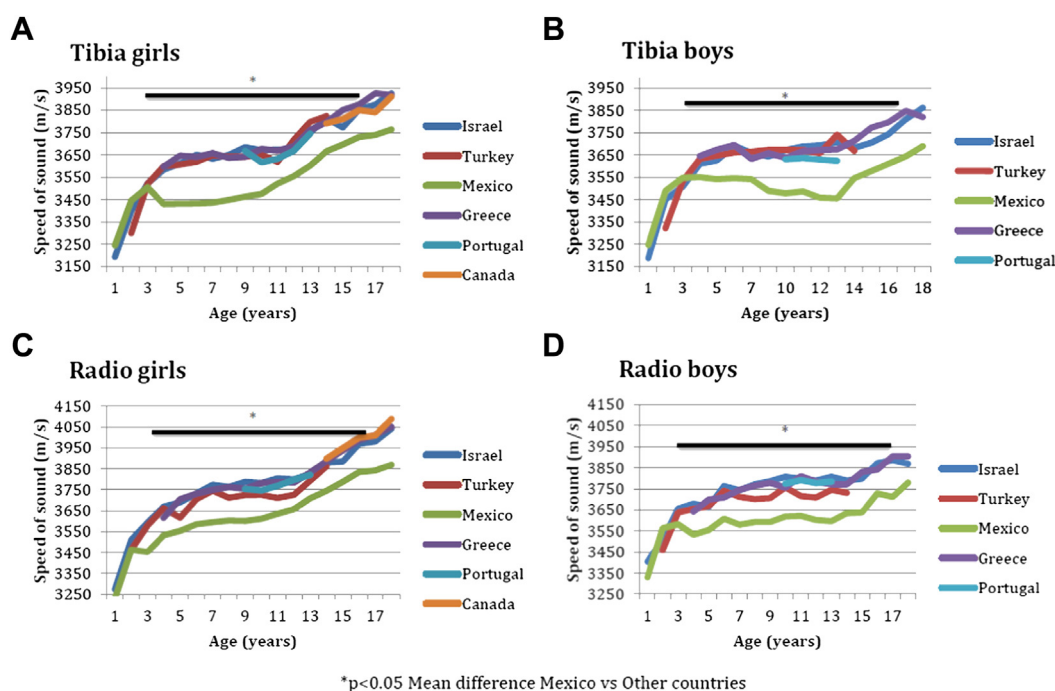


Fig. 4. Comparison of the mean SOS data of all countries in this meta-analysis. SOS, speed of sound.

References

- Hernlund E, Svedbom A, Ivergard M, et al. 2013 Osteoporosis in the European Union: medical management, epidemiology and economic burden. A report prepared in collaboration with the International Osteoporosis Foundation (IOF) and the European Federation of Pharmaceutical Industry Associations (EFPIA). *Arch Osteoporos* 8(1–2):136.
- Carlos F, Clark P, Galindo-Suarez RM, Chico-Barba LG. 2013 Health care costs of osteopenia, osteoporosis, and fragility fractures in Mexico. *Arch Osteoporos* 8(1–2):125.
- Cole ZA, Dennison EM, Cooper C. 2009 The impact of methods for estimating bone health and the global burden of bone disease. *Salud Publica Mex* 51(Suppl 1):S38–S45.
- Bauer JS, Link TM. 2009 Advances in osteoporosis imaging. *Eur J Radiol* 71(3):440–449.
- Tromp AM, Smit JH, Deeg DJ, Lips P. 1999 Quantitative ultrasound measurements of the tibia and calcaneus in comparison with DXA measurements at various skeletal sites. *Osteoporos Int* 9(3):230–235.
- Di Iorgi N, Calandra E, Secco A, et al. 2010 Quantitative ultrasound detects bone changes following bone marrow transplantation in pediatric subjects with hematological diseases: a longitudinal study. *J Endocrinol Invest* 33(7):478–482.
- Binkley TL, Berry R, Specker BL. 2008 Methods for measurement of pediatric bone. *Rev Endocr Metab Disord* 9(2):95–106.
- Wang Q, Nicholson PH, Timonen J, et al. 2008 Monitoring bone growth using quantitative ultrasound in comparison with DXA and pQCT. *J Clin Densitom* 11(2):295–301.
- Dib L, Arabi A, Maalouf J, et al. 2005 Impact of anthropometric, lifestyle, and body composition variables on ultrasound measurements in school children. *Bone* 36(4):736–742.
- Cvijetic S, Baric IC, Bolanca S, et al. 2003 Ultrasound bone measurement in children and adolescents. Correlation with nutrition, puberty, anthropometry, and physical activity. *J Clin Epidemiol* 56(6):591–597.
- Lazcano-Ponce E, Tamayo J, Díaz R, et al. 2009 Correlation trends for bone mineral density in Mexican women: evidence of familial predisposition. *Salud Publica Mex* 51(Suppl 1):93–99.
- Tamayo J, Díaz R, Lazcano-Ponce E, et al. 2009 Reference values for areal bone mineral density among a healthy Mexican population. *Salud Publica Mex* 51(Suppl 1):S56–S83.
- Barrett-Connor E, Siris ES, Wehren LE, et al. 2005 Osteoporosis and fracture risk in women of different ethnic groups. *J Bone Miner Res* 20(2):185–194.
- Clark P, de la Pena F, Gomez Garcia F, et al. 1998 Risk factors for osteoporotic hip fractures in Mexicans. *Arch Med Res* 29(3):253–257.
- Zadik Z, Price D, Diamond G. 2003 Pediatric reference curves for multi-site quantitative ultrasound and its modulators. *Osteoporos Int* 14(10):857–862.
- Pedrotti L, Mora R, Bertani B, et al. 2007. Ultrasound bone densitometry in children and adolescents; Italian reference curves with multi-site device (Omnisense). *Pediatr Med Chir* 29(4):194–201.
- Omar A, Turan S, Bereket A. 2006 Reference data for bone speed of sound measurement by quantitative ultrasound in healthy children. *Arch Osteoporos* 1(1–2):37–41.
- Rivas-Ruiz R, Clark P, Talavera JO, et al. 2014 Bone speed of sound throughout lifetime assessed with quantitative ultrasound in a Mexican population. *J Clin Densitom*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jocd.2013.11.002>. [Epub ahead of print].
- Atkins D, Best D, Briss PA, et al. 2004 Grading quality of evidence and strength of recommendations. *BMJ* 328(7454):1490.
- Higgins JP, Thompson SG, Deeks JJ, Altman DG. 2003 Measuring inconsistency in meta-analyses. *BMJ* 327(7414):557–560.

21. Pettinato AA, Loud KJ, Bristol SK, et al. 2006 Effects of nutrition, puberty, and gender on bone ultrasound measurements in adolescents and young adults. *J Adolesc Health* 39(6): 828–834.
22. Pereira-da-Silva L, Costa AB, Pereira L, et al. 2011. Reference values for bone strength assessed by quantitative ultrasound early after birth in term and preterm neonates. *Acta Med Port* 24(4): 561–564.
23. Teitelbaum JE, Rodriguez RJ, Ashmeade TL, et al. 2006 Quantitative ultrasound in the evaluation of bone status in premature and full-term infants. *J Clin Densitom* 9(3): 358–362.
24. Klentrou P, Ludwa IA. 2011 Quantitative bone ultrasound measurements in young females 14–23 years of age. *J Womens Health (Larchmt)* 20(5):677–683.
25. Christoforidis A, Papadopoulou E, Dimitriadou M, et al. 2009 Reference values for quantitative ultrasonography (QUS) of radius and tibia in healthy greek pediatric population: clinical correlations. *J Clin Densitom* 12(3):360–368.
26. Baptista F, Fragoso I, Branco J, et al. 2011 Reference data for bone speed of sound in Portuguese girls and boys aged 9–13 years. *J Clin Densitom* 14(4):484–491.
27. Kanis JA, Oden A, McCloskey EV, et al. 2012 A systematic review of hip fracture incidence and probability of fracture worldwide. *Osteoporos Int* 23(9):2239–2256.
28. Cvijetic S, Baric IC, Satalic Z, et al. 2014 Influence of nutrition and lifestyle on bone mineral density in children from adoptive and biological families. *J Epidemiol* 24(3):209–215.
29. Flores M, Macias N, Rivera M, et al. 2009 Energy and nutrient intake among Mexican school-aged children, Mexican National Health and Nutrition Survey 2006. *Salud Publica Mex* 51(Suppl 4):S540–S550.
30. Lazcano-Ponce E, Tamayo J, Cruz-Valdez A, et al. 2003 Peak bone mineral area density and determinants among females aged 9 to 24 years in Mexico. *Osteoporos Int* 14(7):539–547.
31. Rivas-Ruiz R, Castelán-Martínez OD, Pérez-Rodríguez M, et al. 2014 Investigación clínica XXIII. Del juicio clínico a los meta-análisis. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 52(5):558–565.

Biologic therapies and bone loss in rheumatoid arthritis

C. A. F. Zerbini¹ · P. Clark² · L. Mendez-Sanchez² · R. M. R. Pereira³ · O. D. Messina⁴ · C. R. Uña⁴ · J. D. Adachi⁵ · W. F. Lems⁶ · C. Cooper^{7,8,9} · N. E. Lane^{10,11} · on behalf of the IOF Chronic Inflammation and Bone Structure (CIBS) Working Group

Received: 2 August 2016 / Accepted: 7 September 2016
© International Osteoporosis Foundation and National Osteoporosis Foundation 2016

Abstract

Introduction Rheumatoid arthritis (RA) is a common systemic autoimmune disease of unknown cause, characterized by a chronic, symmetric, and progressive inflammatory polyarthritis. One of the most deleterious effects induced by the chronic inflammation of RA is bone loss. During the last 15 years, the better knowledge of the cytokine network involved in RA allowed the development of potent inhibitors of the inflammatory process classified as biological DMARDs. These new drugs are very effective in the inhibition of inflammation, but there are only few studies regarding their role in bone protection. The principal aim of this review was to show the evidence of the principal biologic therapies and bone loss in RA, focusing on their effects on bone mineral density, bone turnover markers, and fragility fractures.

Methods Using the PICOST methodology, two coauthors (PC, LM-S) conducted the search using the following MESH terms: rheumatoid arthritis, osteoporosis, clinical trials, TNF- antagonists, infliximab, adalimumab, etanercept, certolizumab, golimumab, IL-6 antagonists, IL-1 antagonists, abatacept, tocilizumab, rituximab, bone mineral density, bone

markers, and fractures. The search was conducted electronically and manually from the following databases: Medline and Science Direct. The search period included articles from 2003 to 2015. The selection included only original adult human research written in English. Titles were retrieved and the same two authors independently selected the relevant studies for a full text. The retrieved selected studies were also reviewed completing the search for relevant articles. The first search included 904 titles from which 253 titles were selected. The agreement on the selection among researchers resulted in a Kappa statistic of 0.95 ($p < 0.000$). Only 248 abstracts evaluated were included in the acronym PICOST. The final selection included only 28 studies, derived from the systematic search. Additionally, a manual search in the bibliography of the selected articles was made and included into the text and into the section of “small molecules of new agents.”

Conclusion Treatment with biologic drugs is associated with the decrease in bone loss. Studies with anti-TNF blocking agents show preservation or increase in spine and hip BMD and also a better profile of bone markers. Most of these studies were performed with infliximab. Only three epidemiological

✉ C. A. F. Zerbini
criszerb@uol.com.br

¹ Centro Paulista de Investigação Clínica, Rua Moreira e Costa, 342—Ipiranga, São Paulo, SP 04266-010, Brazil

² Hospital Infantil Federico Gómez—Faculty of Medicine UNAM, Ciudad de México D.F, Mexico

³ Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil

⁴ IRO Clinical Research Center Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

⁵ Actavis Chair for Better Bone Health in Rheumatology, Hamilton, ON, Canada

⁶ Amsterdam Rheumatology and Immunology Centre, VU University Medical Centre, Amsterdam, The Netherlands

⁷ MRC Lifecourse Epidemiology Unit, Southampton, UK

⁸ Faculty of Medicine, University of Southampton, Southampton, UK

⁹ University of Oxford, Oxford, UK

¹⁰ Center for Musculoskeletal Health, Sacramento, CA, USA

¹¹ UC Davis Health System, University of California, Sacramento, CA, USA

studies analyzed the effect on fractures after anti-TNF blocking agent's treatment. IL-6 blocking agents also showed improvement in localized bone loss not seen with anti-TNF agents. There are a few studies with rituximab and abatacept. Although several studies reported favorable actions of biologic therapies on bone protection, there are still unmet needs for studies regarding their actions on the risk of bone fractures.

Keywords Antirheumatic agents · Bone fractures · Monoclonal antibodies · Osteoporosis · Rheumatic diseases

Introduction

Rheumatoid arthritis (RA) is a common systemic autoimmune disease of unknown cause, characterized by a chronic, symmetric, and progressive inflammatory polyarthritis [1]. Affected patients often experience inflammatory signs in the joints of the hands, wrists, and feet, but many other joints may be involved including the temporo-mandibular joints, elbows, shoulders, hips, knees, and ankles. A mono-articular involvement may occur initially, but the articular signs of inflammation usually become symmetrical. Many patients complain of joint stiffness early in the morning that can last for more than 1 h. The duration of this sensation is in direct proportion with the degree of the articular inflammation. Although considered primarily a disease of the joints, many extra-articular manifestations can develop during RA clinical course.

One of the most deleterious effects induced by the chronic inflammation of RA is bone loss [2, 3].

Bone loss in rheumatoid arthritis

Bone loss often occurs in chronic inflammatory diseases and can be diagnosed in rheumatoid arthritis, ankylosing spondylitis, inflammatory bowel diseases, systemic lupus erythematosus, psoriasis, and many others [4]. During the development of chronic inflammation, a large amount of body energy is diverted to the activated immune system, and this leads to signs and symptoms that may enhance bone loss (Fig. 1). Anorexia, malnutrition, muscle wasting, cachexia, and depression are directly or indirectly related to this persistent allocation of energy to the cytokine network activation. Decreased functional capacity and lack of exercises associated with joint pain and deformities impair the development of a healthy life and also contribute to progressive bone loss. An excellent and comprehensive review of the evolutionary and adaptive aspects of bone loss in chronic diseases and the concept of sick behavior can be found in a recent publication by Straub et al. [6].

The use of corticosteroids during RA treatment, even as a small dose of prednisone 5 mg/day or equivalent for more than 3 months, is associated with a fast and persistent loss of bone [7]. After the initiation of oral glucocorticoid therapy, bone loss progresses quickly in the initial 3–6 months and fractures may occur in the first 6 months of treatment. Bone loss occurs mainly at the trabecular bone leading to increased risk of vertebral fractures, but cortical bones may also be affected. One study showed that continuous treatment with prednisone 10 mg/day during 90 days or more increased by 17-fold the risk of vertebral fractures and by 7-fold the risk of hip fractures [8].

Three different forms of skeletal involvement can be seen in patients with RA, and they are associated with a common pathophysiologic mechanism: alteration in bone remodeling.

The first is a peri-articular bone loss or “juxta-articular osteoporosis” related to a modification in the bone remodeling favoring bone resorption. There is a loss of peri-articular cortical and trabecular bone, which usually appears at the beginning of the disease and can be easily seen in hand radiographs.

A second form of bone loss in RA is characterized by marginal bone erosion. The immediate peri-articular cortical bone is lost as a consequence of synovial membrane inflammation.

A third pattern is a generalized osteoporosis involving the skeleton as a whole, even at distant sites of joint inflammation.

The prevalence of osteoporosis in RA is high compared to aged similar controls and can become a severe co-morbidity [9]. The risk of fracture is increased at vertebral and appendicular sites of the skeleton [10, 11]. Patients affected by RA, mainly those with high disease activity, have a twofold risk of developing osteoporosis compared to the general population and almost the double risk for hip and vertebral fractures independent of the adverse effects of corticosteroids therapy on bone mass [12–15]. Risk factors for vertebral fractures in RA include high inflammatory disease activity (high CRP), the presence of bone erosions, and long disease duration [6, 16, 17]. In addition, risk factors for generalized osteoporosis in RA subjects include long disease duration [18] and/or increased levels of biochemical markers of bone and cartilage degradation [19].

The fracture risk assessment tool FRAX, the most frequently used tool to determine fracture risk worldwide, has RA as one of the seven most important risk factors for fragility fractures [20].

The persistence of chronic inflammation in postmenopausal women, the main population affected by RA, adds a risk factor for the loss of bone mass and fractures in an already susceptible individual. RA patients have more loss of bone mass in peripheral bones than in the axial skeleton, which is in contrast with the characteristic vertebral bone loss seen in postmenopausal women [21]. Accelerated loss of bone mineral density in the hands has been associated with progressive joint disease in the hands and feet at the beginning of the disease [22].

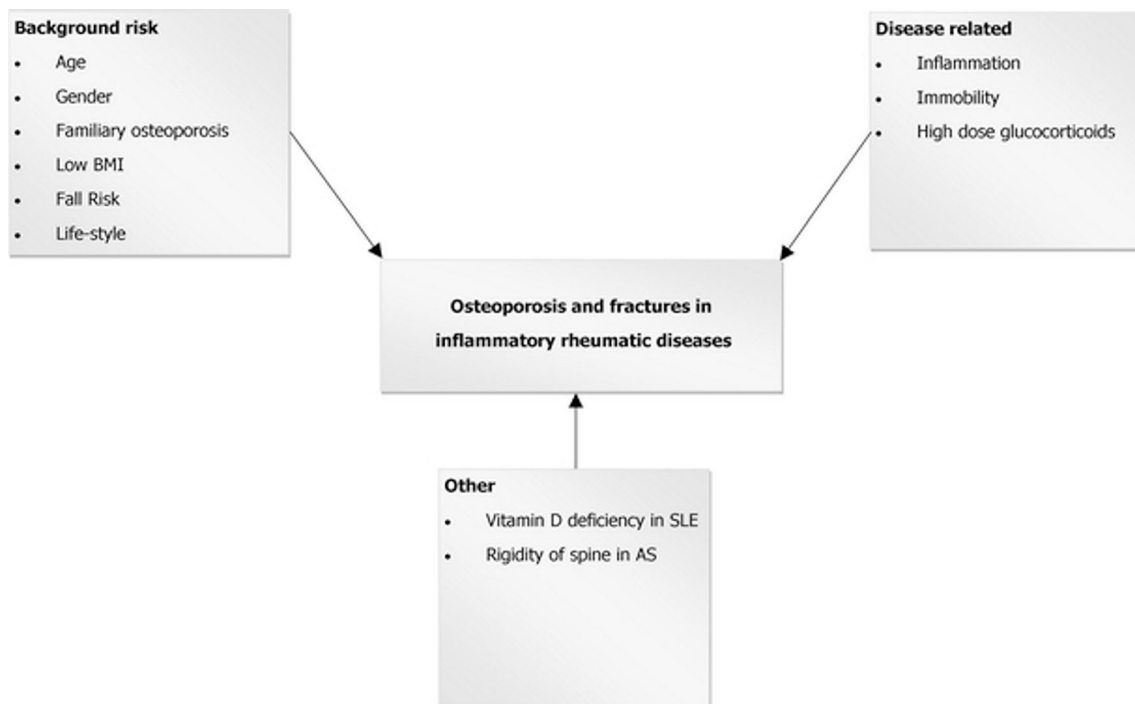


Fig. 1 Risk factors for osteoporosis and fractures in inflammatory rheumatic diseases. *AS* ankylosing spondylitis, *BMI* body mass index, *SLE* systemic lupus erythematosus [5]; with permission of W.F. Lems

Although disease duration and activity are the most important variables regarding the risk of systemic osteoporosis, bone loss may also occur in a preclinical phase, before the appearance of the first clinical symptoms [23, 24], which can only be disclosed by laboratory markers of inflammation such as C-reactive protein [25]. More recently, a link was described between the development of anti-citrullinated antibodies and bone loss leading to the speculation that early events of autoimmunity in RA may already be associated with adverse effects on bone, even before a clinical diagnosis is made [26] (see below).

Mechanisms of bone destruction in RA

The concomitant occurrence of inflammation and bone loss seen in RA is also present in other systemic inflammatory diseases with involvement of the immune system such as spondyloarthritides (ankylosing spondylitis, psoriatic arthritis) and inflammatory bowel diseases (Crohn's disease and ulcerative colitis). In these conditions, the close tie between inflammation and bone loss is directly linked to the interactions between cells of the immune system and those of bone. The study of these interactions has led to the development of the new field of research named Osteoimmunology [27, 28]. In the last 20 years, the advances in this field have provided to a better understanding of the molecular and cellular pathways linking the immune system and bone, allowing the development of new and better therapeutic approaches.

The health and maintenance of bones depend on the remodeling process characterized by coupled and balanced activities of bone resorption and bone formation. All forms of osteoporosis in inflammatory diseases are mediated by an imbalance in bone remodeling in favor of reabsorption. Osteoclasts, the bone-resorbing cells, are stimulated by inflammatory cytokines in different phases of their lifespan promoting bone loss in different parts of the skeleton.

Osteoclasts are large multinucleated cells, members of the monocyte/macrophage family, with the particular property of degrading the organic and inorganic parts of bone tissue. The presence, in the inflamed synovium, of a large amount of mononuclear cells favors the local development of osteoclasts from which they are derived. The production of local and systemic cytokines, mainly M-CSF, IL-17, TNF- α , IL-1, and IL-6, stimulates the recruitment of osteoclast precursors and regulates osteoclast formation and function. Pro-inflammatory cytokines regulate osteoclastogenesis by mediating some initial steps in its development. Early and non-specific differentiation of the monocytic cell to an early osteoclast precursor depends, in part, of macrophage proliferation and the survival cytokine M-CSF [29]. TNF- α may induce the expression of special receptors in the surface of monocytic cells promoting their differentiation in osteoclasts [30]. The activation of the receptor activator of nuclear factor- κ B (RANK) on the early osteoclast precursor membrane by RANK ligand (RANKL) allows the commitment of the cell to the mature osteoclast. RANKL is the key molecule involved in the control of the osteoclast differentiation. This

molecule is mainly produced by osteoblasts and osteocytes but may be also expressed by other cells including activated T and B cells, chondrocytes, and synovial fibroblast-like cells. RANKL binds to the RANK in osteoclast precursors and mature cells leading to its differentiation and resorbing action. The inflammatory cytokines are important stimulators of RANKL synthesis, and its overwhelming production during the inflammatory process exceeds the production of its physiologic inhibitor and decoy receptor osteoprotegerin (OPG). The imbalance of RANKL/OPG ratio is directly responsible for bone loss in rheumatoid arthritis and other inflammatory diseases. Inflammatory cytokines can also influence osteoblastic function.

Osteoblasts are bone-forming cells that synthesize bone matrix, mainly type 1 collagen, but also other types of collagens in small amounts and other proteins like osteocalcin, osteopontin, thombospondin, sialoprotein, and osteoprotegerin. The differentiation and function of osteoblasts are stimulated by the Wntless (Wnt) proteins, which can induce the OPG production, thereby reducing the stimulus for reabsorption promoted by RANKL. TNF- α is a potent inducer of the protein dickkopf-1 (Dkk1), an inhibitor of the Wnt signal found in high serum levels of RA patients [31, 32]. The elevated production of Dkk-1 induced by TNF- α reduces the Wnt-induced production of OPG, which results in an increase in the RANKL/OPG ratio and an acceleration of osteoclast resorption leading to bone loss.

The TH17 subset of T cells is also implicated in the osteoclast-mediated bone resorption associated with RA synovial inflammation. These cells have the capacity to produce RANKL, TNF- α , and IL-17, a cytokine with the capacity to induce RANKL in mesenchymal cells and thus enhance osteoclast development [33, 34].

The progressive bone loss at sites of synovial inflammation is the result of an orchestrated production and action of different cytokines. IL-1 and IL-6 produced by T cells and activated macrophages have the capacity to up-regulate RANKL, increasing the survival and the resorbing activity of the osteoclasts [35–37]. A study in postmenopausal women with RA showed that IL-6 trans-signaling was predictive of the RANKL/OPG ratio [38]. IL-6 secreted by osteocytes undergoing apoptosis may regulate the adhesion of osteoclast precursors by enhancing the expression of the vascular endothelial adhesion molecule ICAM-1 [39].

Osteocytes comprise 90 to 95 % of all bone cells in adult skeleton and can live for decades in the mineralized bone tissue [40]. Osteocytes are descendants of osteoprogenitor mesenchymal cells through differentiation of osteoblasts. Osteocytogenesis, which is the transformation of osteoblasts in osteocytes, is an active process that includes the action of metalloproteinases on the cleavage of collagen and other bone matrix proteins as fibrin and fibronectin [41]. Osteocytes have their cell bodies encased in lacunae throughout the

mineralized matrix and are connected to each other and other bone cells through a large network of dendritic processes traveling inside canaliculi (very small channels). Osteocytes have many functions in the bone metabolism: (1) they can act as a sensor of mechanical loading through their large channels network; (2) they behave as an endocrine cell, secreting many soluble factors with paracrine and endocrine actions, as the regulation of phosphate homeostasis through the production of FGF23; and (3) they play an important role as a regulator of bone remodeling through modulation of both osteoblast and osteoclast activity. They may stimulate bone formation and mineralization through the phosphate-regulating neutral endopeptidase on the chromosome X (PheX) and dentin matrix protein (DMP1) or promote their inhibition through the production of sclerostin and MEPE/OF45. Osteocytes induce osteoclast formation and activation through their death by apoptosis. Dying or apoptotic osteocytes, appearing in unloaded bone or at sites of microdamage, release apoptotic bodies expressing RANKL that can recruit and activate osteoclasts [42]. Bakker et al. made an interesting *in vitro* experiment to determine the relation between IL-6 and osteocyte mechano-sensitivity. MLO-Y4 osteocytes were incubated with/without IL-6 for 24 h. After this period, osteocytes were subjected to mechanical loading by pulsating fluid flow for 1 h. The results suggested that IL-6 is produced by shear-loaded osteocytes and that IL-6 may modulate osteocyte communication with osteoblasts [43].

Interleukins may interfere with functions of osteocytes. Estrogen deficiency increases serum levels of TNF- α and IL-1, which is reported to induce osteocyte apoptosis [40, 42]. Dkk-1 and sclerostin, which are potent inhibitors of osteoblast and bone formation, are highly expressed in osteocytes. As mentioned before, TNF- α is a potent stimulator of the production of Dkk-1, an inhibitor of the Wnt signal on osteoblasts, and is found in high serum levels of RA patients. Bakker et al. investigated the role of TNF- α and IL-1 β in the modulation of the osteocyte response to mechanical loading. Osteocytes were maintained in culture and treated with TNF- α or IL-1 β and exposed to mechanical loading by a pulsatile fluid flow technique. The cell response was measured by nitric oxide (NO) production. Both TNF- α and IL-1 β inhibited the osteocyte mechanical loading-induced NO production and IL-1 β also stimulated osteocyte apoptosis. The investigators suggested that this was a potential mechanism to explain how inflammatory cytokines could induce bone loss in RA [44]. Heiland et al. treated TNF transgenic mice with neutralizing antibodies against TNF, Dkk-1, or both, and analyzed bone architecture, gene expression of β -catenin, osteoprotegerin, and osteocalcin. They made also measurements of Dkk-1 and sclerostin in osteoblast cultures stimulated with TNF- α . Blockade of Dkk-1 completely protected the transgenic mice from inflammatory bone loss. This blockade was also associated with enhanced expression

of β -catenin, osteocalcin, and osteoprotegerin, and it neutralized TNF-induced sclerostin expression [45].

Biologic agents used in the treatment of RA may have a beneficial action on the osteocytes, and these actions may prevent inflammatory bone loss. These observations will need to be tested in clinical studies.

RA serum markers and bone loss

Most RA patients produce the immunoglobulin rheumatoid factor (RF). Testing for IgM-RF is associated with a high specificity and sensibility for RA (80 and 70 %, respectively). High serum levels of RF are associated with joint damage, radiographic progression, and systemic extra-articular features [46, 47]. RF may be negative in early RA, becoming positive as the disease progresses. Recently, diagnosis of RA has been changed to include the serologic detection of anti-citrullinated protein antibodies (ACPAs) [48]. Citrullination is the post-translational conversion of peptidyl-arginine to peptidyl-citrulline. This conversion is mediated by the calcium-dependent enzyme peptidylarginine deiminase (PAD). This enzyme is up-regulated by calcium.

ACPA-positive RA has a different profile from ACPA-negative RA. ACPA-positive RA has more aggressive clinical and radiological courses and appears to have distinct genetic associations. Indeed, it is possible that the distinction between two forms of RA will be made clearer by the positivity versus negativity for ACPAs than the same dichotomy for RF.

ACPAs and bone

Patients positive for ACPAs develop more bone erosions and more severe osteopenia than ACPAs- [49–53]. During the course of the disease, the presence of ACPAs is independently associated with severe trabecular bone loss, and this is especially seen in the hands and distal radius [54, 55].

The presence of ACPAs without signs of articular inflammation may be a clue for later appearance of RA. The set of healthy ACPAs+ individuals are considered at risk for the future development of the disease. Two questions may arise:

1. During this preclinical phase, is it possible that bone can be affected, implicating a direct effect of ACPAs on bone, independently of inflammatory mediators?

Individuals, without signs of inflammation but ACPAs+, were analyzed for the presence of bone damage. One study analyzing metacarpal bones using HRpQCT (high-resolution peripheral quantitative computed tomography) of such healthy ACPAs+ individuals showed reduced thickness and increased porosity of the cortical bone compared with controls [26].

2. How then would ACPAs interact directly with the bone inducing damage and loss?

A proposed explanation links ACPAs to the differentiation of osteoclasts and activation of bone resorption. Citrullinated vimentin, an autoantigen targeted by the ACPAs, is expressed in cells of the monocyte/macrophage lineage and also in osteoclast precursors. The binding of ACPAs to citrullinated vimentin in the surface of these cells induces differentiation of monocytes into osteoclastic lineage and also differentiation of osteoclasts. The differentiation of monocytes to osteoclasts is further enhanced by the release of TNF, after the binding of ACPAs to the cells of the osteoclast lineage. These findings may explain the bone loss seen in the RA preclinical phase and the role of ACPAs in its induction [56].

Recently, a study described a new way to explain the effects of ACPAs on bone loss independently of the inflammatory process. The study focused the role of ACPAs in osteoclast differentiation, activation, and the subsequent bone loss and destruction [57]. In vitro assays showed that protein citrullination on osteoclasts by peptidylarginine deiminases (PADs, see above) is essential for osteoclast differentiation from peripheral blood macrophage precursors and for its activation. When stimulated by ACPAs, osteoclasts produced high levels of IL-8 that had an autocrine effect on osteoclastogenesis. The neutralization of IL-8 by anti-IL-8 antibodies blocked osteoclast differentiation induced by M-CSF and RANKL. The in vivo section of the study showed that intravenous injection of ACPAs to mice was associated to a significant decrease of trabecular bone density, trabecular number, and the bone volume fraction (bone volume/tissue volume). These bone changes were reversed by subcutaneous injection of reparixin. Describing this new way of osteoclast activation by ACPAs, before the start of the RA inflammatory process, the authors stated that (1) during the differentiation and activation of the osteoclast precursors, a progressive and gradual citrullination occurred due to an increased PAD activity; and (2) circulating ACPAs binding to osteoclast precursors enhanced the osteoclasts' reabsorbing activity through an IL-8-dependent autocrine loop.

Kocijan et al. showed that patients with seropositive RA have greater alterations of trabecular bone than those with seronegative RA [54]. When compared with seronegative RA patients, those who are serum positive for RF and/or ACPAs had significant decreases in total trabecular density ($p = 0.007$) and inner trabecular density ($p = 0.007$) as evaluated by HRpQCT.

Effects of biologic DMARDs on bone

The introduction of biologic DMARDs (bDMARDs) for the treatment of RA allowed not only for the reduction of cartilage damage but also for the decrease of both localized and generalized bone loss. Several studies in RA reported beneficial effects on bone mass after treatment with bDMARDs

(Fig. 2). Most of them showed only results on bone markers and a few on BMD and fractures risk. In order to systematically for the articles needed for this review, we conducted a literature search as follows:

Studies search strategy

The aim of this review was to show the evidence of the principal biologic therapies on bone loss in rheumatoid arthritis, focusing on the effects of TNF- α inhibitors, interleukin-6 blockade, B-lymphocyte blockade, co-stimulation blockade, and biologic anti-osteoclast treatment.

An international group that included experienced authors and methodologists developed the PRISMA methodology (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses) for the report of systematic reviews fully and transparently (1). This methodology includes a structured approach of five components to help the researcher formulate relevant and precise questions about studies during the making of the review. This approach is known by the acronym "PICOS," where each letter refers to a component: the patient population or the disease being addressed (P), the interventions or exposure (I), the comparator group (C), the outcome or endpoint (O), and the study design chosen (S). The additional component "T" used by some authors means time, and it refers to the date of the publication used in the review [58].

Using the PICOST methodology, two coauthors (PC-LMS) conducted the search using the following MESH terms: – rheumatoid arthritis, osteoporosis, clinical trials, TNF- α antagonists, infliximab, adalimumab, etanercept, certolizumab, golimumab, IL-6 antagonists, IL-1 antagonists, abatacept, tocilizumab, rituximab, bone mineral density, bone markers, and fractures.

The search was conducted electronically and manually from the following database: Medline and Science Direct. The search period included articles from 2003 to 2015. The first selection included titles of original adult human research written in English.

Titles were retrieved and the same two authors independently selected the relevant studies for a full text. The retrieved selected studies were also reviewed completing the search for relevant articles.

The first search included 904 titles, of which 253 titles were selected. The agreement on the selection among researchers resulted in a Kappa statistic of 0.95 ($p < 0.000$). Only 248 abstracts evaluated were included in the acronym PICOST. The final selection included only 28 studies, derived from the systematic search. Additionally, a manual search in the bibliography of the selected articles was made and included into the text and into the section of "small molecules of new agents."

A summary of the 28 selected studies is presented in Table 1.

Fig. 2 Cytokine network and biological treatment blockade

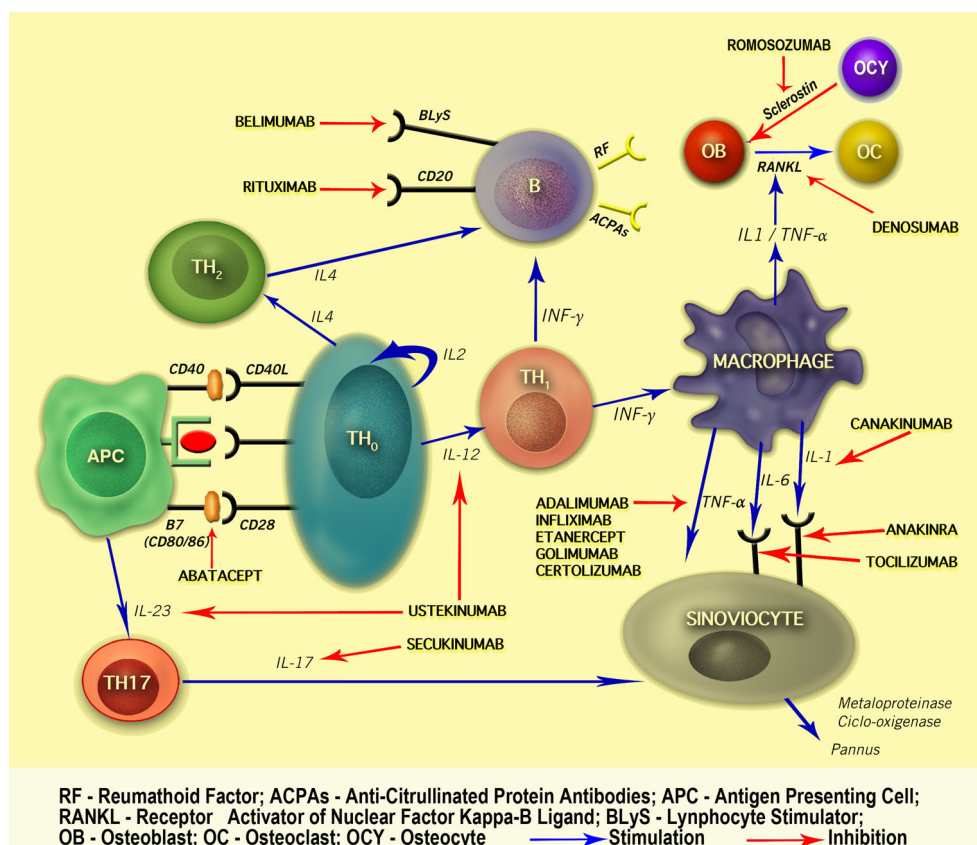


Table 1 Rheumatoid arthritis studies reporting the effects of biologic therapy on bone mass and on biological markers of bone turnover

Biological agents	Type study	Sample size	Follow-up	BMD	Hands bone mass	Bone formation markers	Bone reabsorption markers	Reference
Adalimumab	Prospective	184	4 years	Spine stabilizedHip ↓ (after 4 years)	↓ MCP	–	–	[71]
Adalimumab	Prospective	50	1 year	Spine/hip stabilized	–	–	–	[67]
Etanercept	Prospective	30	6 months	–	–	↑ BALPOPG stable	↓ DPD RANKLNTX-I stable	[87]
Infliximab	Prospective	102	1 year	Spine/hip stabilized	↓ MCP	–	↓ CTX-1↓ RANKL	[68]
Infliximab	Prospective	52	2 years	↑ Spine/hip stabilized	↓ MCP	–	–	[69]
Infliximab	Prospective open cohort	36	1 year	Non-significant↑ Spine↓ Hip	–	–	–	[73]
Infliximab	Prospective	90	1 year	Spine/hip stabilized	–	OC no change	CTX-I no change	[74]
Infliximab	Prospective randomized	342 (4 groups)	1 year	Non-significant↓ Spine/hipNo difference among groups	–	–	–	[76]
Infliximab	Prospective	36	1 year	–	–	↓ OC	↓ NTX↓ DPD	[81]
Infliximab	Prospective	48	1 year	Spine/hip stabilized	–	↑ PINP/CTX-1↑ PINP/ICTP	–	[83]
Infliximab	Prospective	68	6 weeks	–	–	↑ OC	–	[84]
Infliximab	Prospective open label	26	1 year	↑ Spine↑ Hip	–	↑ OC	↓ Crosslaps	[85]
Infliximab	Prospective	17	6 months	–	–	Stable BALP	↓ NTX-1↓ DPD	[86]
Infliximab	Prospective	43	6 months	–	–	↓ OPG	↓ RANKL	[88]
Tocilizumab	Prospective	416	6 months	–	–	↑ PINP (4 weeks)	↓ CTX-1↓ ICTP	[98]
Tocilizumab	Cohort transversal	20	–	–	↓ Large erosions	–	–	[96]
Tocilizumab	Prospective	302	1 year	–	↓ Erosions (high-risk patients)	–	–	[97]
Tocilizumab	Prospective randomized	299	6 months	–	–	–	↓ CTX-1↓ CTX-I/OC	[99]
Tocilizumab	Transversal	10	–	–	–	↑ OPG (bone marrow histology)	–	[100]
Tocilizumab	Prospective	22	2 months	–	–	–	↓ Dkk1	[103]
Adalimumab + MTX	Randomized	214 (ADA + MTX)	52 weeks	–	MCP stabilized (for ADA Group)	–	–	[70]
Anti-TNF/rituximab/tocilizumab	Prospective observational	92	Anti-TNF 0–2 yearsAnti-TNF/rituximab 2–10 years	↓ Bone lossSpine/hip for men and premenopausal women	–	–	–	[75]
EtanerceptInfliximabMTX	Prospective	11	6 months	Non-significant↑ Spine↑ Hip (TNF group)	–	↑ OC	↓ DPD/Cr	[72]
Denosumab	Prospective	10	6 months	–	↑ MCP	–	–	[115]

Table 1 (continued)

Biological agents	Type study	Sample size	Follow-up	BMD	Hands bone mass	Bone formation markers	Bone reabsorption markers	Reference
Denosumab	Prospective randomized	43 Denosumab 143 Controls	1 year	–	↓ MCP	–	–	[116]
Denosumab	Prospective randomized	143 Denosumab 75 Controls	1 year	↑ Spine/↑ hip	–	↓ P1NP	↓ CTX-I	[117]
Rituximab	Prospective	13	15 months	–	–	–	↓ DPD	[105]
Rituximab	Prospective	28	16 weeks	–	–	↑ OPG/RANKL	↓ RANKL	[106]

OC osteocalcin, BALP bone alkaline phosphatase, P1NP N-terminal propeptide of type I procollagen, CTX-I C-terminal cross-linking telopeptide of type I collagen, NTX-I N-terminal cross-linking telopeptide of type I collagen, ICTP C-terminal cross-linking telopeptide of type collagen generated by matrix metalloproteinases, DPD deoxypyridinoline, OPG osteoprotegerin, RANKL receptor activator of nuclear kappa-B ligand, Dkk1 Dickkopf-1

TNF- α inhibitors

TNF- α inhibitors were the first bDMARDs used in the treatment of RA, and they are still the most frequently prescribed. In clinical practice, there are five TNF- α antagonists approved for the treatment of RA: infliximab, adalimumab, etanercept, certolizumab, and golimumab.

There are compelling studies in animal models showing that TNF- α blockade impairs the development of osteoclast precursors and the activation of mature cells thus reducing the loss of bone [59]. In murine collagen-induced arthritis [60], and also in other models of murine autoimmune arthritis [61, 62], TNF- α deficiency or its inhibition prevented bone loss in parallel with the reduction of inflammation. In models of TNF- α transgenic mice, inflammation induced by TNF- α decreased new bone formation through Dkk-1 up-regulation and inhibition of insulin growth factor-1, Osterix, and Runx2. TNF- α inhibition leads to new bone formation [63]. The suppression of TNF-driven inflammation on bone metabolism has been described in several adult human cohorts and case-control studies. Infliximab has been the TNF antagonist most investigated regarding BMD and bone turnover markers.

The data on fractures are scarce, but three studies [64–66] using databases from health care, commercial insurance plan, and administrative health care organizations showed no difference in the risk of non-vertebral fractures in RA patients on treatment with TNF antagonists, methotrexate, or other non-biologic DMARDs.

Briefly In a population-based cohort study by Kim et al., using 12 years of health care data from a Canadian Province and a U.S. commercial insurance plan, 16,412 RA patients were divided into three treatment groups for comparison of the osteoporotic fracture risk: (1) TNF inhibitors with or without non-biologic DMARDs, (2) methotrexate without a TNF inhibitor, or (3) other non-biologic DMARDs without a TNF inhibitor or methotrexate. The study outcomes were hospitalizations for fractures of the hip, wrist, humerus, or pelvis. After a multivariate analysis, the adjusted risk of non-vertebral fractures was similar in RA patients starting a TNF inhibitor, methotrexate, or other non-biologic DMARDs [64].

Similar results were observed by Kawai et al. in a study analyzing retrospective cohorts in four large administrative databases including patients with RA, inflammatory bowel diseases, and a group composed by psoriasis, psoriatic arthritis, or ankylosing spondylitis. The results showed that the risk of combined fractures was very similar between patients treated with TNF inhibitors and non-biologic DMARDs for each disease. They also observed that among RA patients, the use of >10 mg/day of prednisone or equivalents at baseline was associated with an increase of fracture risk [65].

Coulson et al. reported data from 8419 female RA patients included in the Consortium of Rheumatology Researchers of

North America (CORRONA) registry. They analyzed many clinical factors regarding their possible influence on fracture risk and T-scores to determine if women with RA at risk for osteoporosis were adequately treated. The study results showed that postmenopausal status, low functional capacity, and prednisone use were associated with a higher risk of fracture; TNF- α monotherapy treatment was associated with decreased fracture risk. They also concluded that women with RA were inadequately treated for osteoporosis [66].

Effects of TNF- α inhibitors on BMD

Before the use of bDMARDs, a high rate of generalized bone loss was reported in RA patients. Haugeberg reported a BMD decrease of 1.7 % at the femoral neck and 2.7 % at the lumbar spine [13], and another study reported bone loss of 3.6 % at the femoral neck and 2.1 % at the lumbar spine [24].

Analysis of the available studies shows that the introduction of TNF inhibitors for the treatment of RA patients has been associated with decreases in generalized bone loss.

The effect of TNF blockade therapy on BMD was reported in an open-label prospective study with 50 RA patients on adalimumab treatment. After 1 year of follow-up, anti-TNF therapy arrested the generalized bone loss. A synergistic effect between adalimumab and prednisone was observed after a multivariate regression analysis showing that the concomitant use of prednisone explained 18.5 % of improvement on femur BMD [67].

In a cohort of 102 RA patients followed for 1 year on treatment with infliximab, clinical remission was associated with an arrest in bone loss at the lumbar spine and hip but with a 0.8 % BMD decrease at the hands, showing that, despite treatment, there was progressive localized metacarpal cortical bone loss [68]. In this regard, another study also demonstrated that despite inflammation control and preservation of BMD in the lumbar spine and hip, there was a continuous loss of bone in hands [69].

Two studies with adalimumab showed different results. Hoff et al. in a sub-analysis of the PREMIER trial showed that adalimumab plus MTX reduced metacarpal cortical bone loss independent of clinical response [70]. Krieckaert et al., in a cohort study of 184 RA patients taking adalimumab, showed that after 1 year of treatment, BMD of the hip and lumbar spine remained stable while BMD of the hands decreased significantly by 1.41 % [71]. Some studies suggest that TNF- α antagonists may induce clinical remission and halt generalized bone loss but are less effective in the absolute control of local joint inflammation associated with persistent joint damage and localized bone loss.

A 6-month study compared 20 RA patients taking anti-TNF- α therapy (etanercept or infliximab) with 10 patients taking MTX. For those on anti-TNF treatment, BMD increased by

0.2 % at lumbar spine and 0.1 % at the hip; for those not taking anti-TNF, there was a decrease by 0.8 and 0.6 % at lumbar spine and at the hip, respectively. The authors considered these BMD variations not significant. Probably it is likely that this study was underpowered to show a difference [72].

An open-label study including 36 RA patients treated for 1 year with infliximab reported a non-significant increase in the lumbar spine and a non-significant decrease in hip BMD [73].

A study compared 90 RA patients treated for 1 year with infliximab, who were non-responders to MTX, to an historical cohort of 99 RA patients (control group) who were treated with MTX in the prebiologic era. Results showed preservation of BMD at lumbar spine and at the hip in the anti-TNF-treated patients and loss of bone at both sites in the control group. The infliximab effect persisted even after models of stratification for confounding factors such as sex, age, menopause status, steroid, and/or bisphosphonate use. In this study, the protective effect of infliximab on bone was also observed in patients who did not exhibit a clinical response evaluated by the DAS-28, suggesting that the effects of TNF- α inhibition on bone metabolism may be partially independent of its action on RA activity [74]. The authors hypothesized that TNF- α antagonists, besides suppressing inflammation, may restore coupling of bone resorption and bone formation, previously disrupted in RA, halting systemic bone loss.

A recent prospective observational study analyzed bone loss in early RA patients followed for 10 years. In the first 2 years of disease activity, 18.5 % of patients were on bDMARDs and 91.3 % on synthetic DMARDs (sDMARDs). For the subsequent 8 years, 62.6 % were on bDMARDs and 89.2 % on sDMARDs. In the first 2 years, the annual rate of bone loss was significantly higher in patients under bDMARDs compared to those on sDMARDs at the femoral neck and total hip but not at the lumbar spine. For the whole 2–10-year period, no significant differences in bone loss at any site were found between the two groups. In multivariable models, the variables independently associated with BMD loss for the 0–2-year period were (1) use of bDMARDs for femoral neck, (2) cumulative dose of glucocorticoids for total hip, and (3) disease activity measured by DAS-28 for lumbar spine. For the 2–10 years' follow-up period, variables independently associated with bone loss were (1) menopause and smoking for the femoral neck and total hip and (2) female gender and rheumatoid factor for the lumbar spine. In the first 2 years, the association of bDMARDs and cumulative dose of glucocorticoids with bone loss can be interpreted as data coming from patients with more severe disease, taking into account that those two drugs behaved, in this observational study, as surrogate markers for disease activity. This study showed that a more effective suppression of inflammation, as seen in the 2–10-year period, including the use of bDMARDs, significantly reduced bone loss in RA patients [75].

The BeST study compared four different approaches to treat RA patients: (1) sequential monotherapy, (2) step up

combination therapy, (3) initial combined therapy with glucocorticoids, and (4) initial combined therapy with infliximab. BMD measurements were performed in 342 patients with recent onset RA at baseline and after 1 year. Median BMD loss after 1 year was 0.8 and 1 % of baseline at the lumbar spine and at the hip, respectively, with no differences between treatment groups even for the infliximab patients. The determinants of BMD loss in this study were joint damage at baseline, joint damage progression, and no use of bisphosphonates. The tight control of inflammation in the four treatment strategies in patients with early and active RA did not allow difference among them in the preservation of bone mass. This was also achieved by the use of antiresorptive treatment. The conclusion of this study reinforces the concept that earlier suppression of inflammation with any aggressive effective treatment strategy may avoid joint destruction and preserves BMD in RA patients [76, 77].

Effects of TNF- α inhibitors on biochemical markers of bone turnover (BTMs)

BTMs are classified in two types: markers of bone formation and markers of bone resorption. The bone formation markers include osteocalcin (OC), bone alkaline phosphatase (BALP), N-terminal propeptide of type I procollagen (PINP), and C-terminal propeptide of type I procollagen (PICP). The bone resorption markers include C-terminal cross-linking telopeptide of type I collagen (CTX-I), N-terminal cross-linking telopeptide of type I collagen (NTX-I), C-terminal cross-linking telopeptide of type I collagen generated by matrix metalloproteinases (CTP-MMP, ICTP), deoxypyridinoline (DPD), isoform 5b of tartrate-resistant acid phosphatase (TRACP5b), and helical peptide 620–633 of the alpha-1 chain [78]. Serum levels of OPG and RANKL can be measured and the RANKL/OPG ratio can be determined.

Baseline lower levels of RANKL and the RANKL/OPG ratio were described as predicting remission in RA patients treated with TNF inhibitors [79]. Anti-TNF treatment also increased synovial expression of OPG [80]. The BTMs, which were analyzed in the TNF- α antagonist RA studies, include PINP, OC, BALP, OPG, CTX-I, NTX-I, ICTP, DPD, and RANKL.

In a prospective study of 36 RA patients taking infliximab and methotrexate [81], OC, NTX-I, and DPD were measured at baseline and after 14 weeks, 6 months, and 12 months of treatment. Levels of OC and NTX-I lowered significantly at 14 weeks and levels of all BTMs were significantly lower at 6 and 12 months than the baseline levels. After a significant drop of NTX-I and DPD levels at 14 weeks, there was no further significant change for the rest of the treatment. Interestingly, the authors also measured the levels of different cytokines and found a significant correlation between levels of

IL-6 and of all BTMs at different time points, levels of IL-23 and OC before treatment and after 6 months, and levels of TNF- α and NTX at 14 weeks and DPD at 12 months. These results suggest that the changes induced by infliximab in the RA inflammatory process may promote changes in other cytokines, besides TNF, which can influence bone remodeling in different ways. In this regard, the effect in vitro of the pro-inflammatory cytokines TNF- α , IL-17, IL-6, IL-1, and IL-23 demonstrated that they have specific and characteristic properties on osteoclast development [82]. The initial decrease in the levels of bone-resorbing markers with no further drops may suggest a short-term positive effect of infliximab on bone remodeling. Chopin et al. also observed this positive effect in a study with 48 RA patients treated with infliximab for 1 year. There was an initial decrease in CTX-I at 6 and 22 weeks, returning to pretreatment levels at week 54 [83].

Vis et al. described an increase in the bone formation markers OC and PINP and a decrease of bone resorption marker ICTP after 6 weeks of treatment with infliximab in an open-label study with 68 RA patients [84]. In a follow-up of 102 RA patients taking infliximab (described before), the same authors, measuring BTMs at 14, 30, and 46 weeks, found an association between the clinical response and the decrease in the resorption markers CTX-I and RANKL [68].

After 1 year of treatment with infliximab, an increase in OC ($p < 0.01$) and a decrease in CTX-I ($p < 0.01$) compared to baseline levels were observed in a prospective open-label pilot study with 26 RA patients [85]. Similar results regarding persistent decrease in bone-resorbing markers and improvement in bone formation markers were reported in other studies [86, 87]. In a prospective study, the sera of 43 patients and 30 healthy individuals regarding OPG and RANKL levels were analyzed. For 21 patients under anti-TNF therapy, the high baseline serum levels of OPG and RANKL were normalized after 6 months of treatment [88].

Despite conflicting results, analysis of the existing data allows the conclusion that anti-TNF therapy is associated with a rapid decrease in bone resorption and a positive bone remodeling balance in RA patients. Many available studies are open label, with small sample sizes and are not controlled for confounding factors. The knowledge of differences on bone remodeling among the existing TNF inhibitors, adjustment for factors that may act on bone mass (steroids, smoking, comorbidities), and randomized long-term studies are needed for a better understanding of the impact of TNF antagonists on bone metabolism.

Interleukin-6 blockade

Interleukin-6 (IL-6) is a cytokine that has been associated with a large repertoire of functions. Classically, IL-6 is involved in protection from infection, but it is mainly associated with the

development of inflammatory process in many diseases. IL-6 promotes the liver production of acute phase reactants and has a prominent role in the maturation of B cells and plasma cells. In vitro observations showed that IL-6 induces osteoclastogenesis in a model of antigen-induced arthritis [89]. In RA patients, during the inflammatory process, cells of the monocyte/macrophage lineage differentiate into osteoclasts, which resorb bone, producing erosions. IL-6 in conjunction with IL-1 and TNF- α promotes the recruitment and proliferation of those inflammatory cells, enhancing the production of the *pannus* tissue with further destruction of cartilage and subchondral bone.

The relation of IL-6 with systemic bone loss was reported in an open study including 40 RA patients compared to 20 healthy controls matched by age and sex. IL-6 levels showed a significantly negative correlation with the T-score of spine and hip. A negative correlation was found between the T-scores and parameters of disease activity [90].

More recently, IL-6 involvement in inflammation-associated carcinogenesis and in the link between innate and adaptive immunity have been reviewed [91].

IL-6 stimulates target cells through its receptor in two ways: (1) *Classical binding*—IL-6 binds with its membrane bound receptor (IL-6R) on cell surface, or (b) *Trans-signaling*—IL-6 binds to a soluble form of IL-6R that further links to the cell membrane.

An IL-6 receptor-blocking agent (IL-6R), tocilizumab, has been used successfully to treat RA patients. This humanized anti-IL-6R has been effective in lowering the systemic and local signs of the inflammatory process measured by the reduced number of tender and swollen joints, normalization of the acute phase reactants, and reduction of the joint damage [92–94].

An in vitro study reported that murine anti-IL-6R reduced osteoclast differentiation and bone resorption in monocyte cultures stimulated with RANKL or RANKL plus TNF- α . In the same study, using human TNF- α transgenic mice as a model, IL-6R blockade strongly reduced osteoclast formation as well as bone erosion in vivo, but interestingly, it did not inhibit joint inflammation. This observation emphasizes the concept that the IL-6 inhibition of osteoclastogenesis is independent of its anti-inflammatory actions [95].

A micro-CT study analyzed bone erosions in the metacarpophalangeal joints of 20 RA patients treated with tocilizumab. Bone erosions were evaluated by the measurement of their maximal width and depth at baseline and after 1 year of treatment. Tocilizumab induced limited repair mainly in large lesions with sclerosis, reflecting its favorable action on local bone remodeling [96].

A 1-year randomized, controlled trial (SAMURAI study) showed that tocilizumab monotherapy in active RA patients reduced the progression of structural joint damage and promoted higher remission rates than the conventional DMARDs therapy [91]. In a sub-analysis of this prospective 1-year

study, RA patients were divided into high-risk and low-risk groups according to four independent predictive markers for progressive joint damage (urinary CTX-II, urinary pyridinoline/deoxypyridinone ratio, body mass index, and joint-space narrowing score). Tocilizumab monotherapy was more effective in reducing radiological progression in high-risk than in low-risk patients showing a better effectiveness in the first group [97].

In the multicenter, double-blind, placebo-controlled trial of tocilizumab in inadequate responders to methotrexate (OPTION study), patients with moderate-to-severe RA were randomized to receive tocilizumab (4 or 8 mg/kg subcutaneously) with methotrexate compared to methotrexate alone. From 623 patients included in the study, 416 were selected to investigate the effect on biochemical markers of bone and cartilage metabolism at 4, 16, and 24 weeks of treatment compared to baseline levels. Patients treated with tocilizumab showed (1) marked reduction, in a dose-dependent way, of cartilage metabolism markers (N-terminal propeptide of type IIA collagen, matrix metalloproteinase-3, and collagen helical peptide), (2) significant decreases in bone-resorbing markers (CTX-I and ICTP), and (3) an increase in the levels of bone formation markers that were significant only when the PINP levels were compared with placebo at 4 weeks. These results provided evidence for a beneficial effect on bone remodeling process in RA patients taking tocilizumab [98].

The changes in biochemical markers of bone metabolism were analyzed in a randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel group trial including 299 anti-TNF refractory RA patients. They were randomly assigned to tocilizumab (4 or 8 mg/kg IV) plus methotrexate or placebo IV plus methotrexate once a month. Both tocilizumab doses significantly reduced the levels of biochemical markers of cathepsin K-mediated bone resorption. A significant decrease in the CTX-I/OC ratio was also observed indicating an improvement in bone balance [99].

Bone marrow histological changes in response to tocilizumab treatment were observed in a study including tissues extracted from 10 RA patients submitted to total knee arthroplasty. Samples from other 10 RA patients on MTX monotherapy were used for comparison. A significant increase in the expression of osteoprotegerin was demonstrated in the tocilizumab-treated patients after comparison with the control group [100].

The effects of IL-6 blockade on serum bone markers were reported in a pilot study comparing 22 active RA patients treated with tocilizumab and 22 healthy women. After 2 months of treatment, IL-6 blockade reduced the serum levels of Dkk-1 and significantly increased the ratio of OPG/RANKL. The change in the OPG/RANKL favoring bone formation was observed in 10 patients in remission or in low disease activity but not in 12 patients without control of the disease. These results indicate that the positive IL-6 blockade

effect on bone remodeling was mediated by the reduction of the Dkk-1 influence on the Wnt signaling pathway and in the rapid and effective suppression of inflammation [101].

Despite the good results obtained with anti-cytokine therapy in the management of RA, there are still a number of patients not responsive or who cannot tolerate it. A better understanding of the RA pathology, involving the interplay among cytokines and cells, allowed the development of new therapies offering a new opportunity for all those affected by the disease. Monoclonal antibodies directed against lymphocytes and co-stimulatory antagonists are part of this effort regarding new ways to reduce the activity of RA.

Biologic therapies that target the lymphocyte

B-Lymphocyte blockade

Experimental studies proposed that B-lymphocytes might synthesize and secrete RANKL. In a knockout mice model of ovariectomy-induced osteoporosis, the deletion of RANKL in B lymphocytes partially protected from cancellous bone loss [102]. A study using cytokine mRNA profiles in the analysis of RA synovial fluid cell populations reported that B cells are a major source of RANKL [103]. These observations coupled with the known involvement of B and T lymphocytes in the RA inflammatory process led to the hypothesis that the blockade of these cells could protect RA patients from bone loss.

Rituximab is a monoclonal antibody directed against the molecule CD20 on the surface of B lymphocytes. After binding to CD20, rituximab impairs the cell function leading to its apoptosis. Firstly utilized to treat lymphomas, this B-cell blocking agent was licensed for RA therapy in 2006 showing good efficacy as a primary agent after lack of response or intolerance to anti-TNF agents [104].

In a prospective study, the influence of rituximab on markers of bone metabolism was analyzed in 13 patients with a follow-up of 15 months after the beginning of treatment. A non-significant decrease in RANKL levels and a significant decrease in deoxypyridinoline levels were observed, showing a reduction in bone resorption [105]. Another prospective study analyzed expression of bone resorption markers in synovial biopsies of 28 patients with active RA, before and after 16 weeks of rituximab treatment. The results showed a decrease in synovial osteoclast precursors and RANKL expression. In the same period, an increase in serum OPG/RANKL ratio was observed [106]. Salvin et al. reported, in a small number of RA patients, an improvement in bone mineral density after rituximab treatment. Those results were better seen in patients with low activity, classified as clinical responders [107].

Co-stimulation blockade

The first molecular interaction in the initiation of RA synovitis occurs between an antigen-presenting cell (APC) and a Th1 lymphocyte. Arthritogenic antigens linked to the Major Histocompatibility Complex (MHC) molecule are exposed in the surface of an APC, and their binding to a Th1-cell receptor (TCR) makes what is called a tri-molecular complex. Although being the main step, this antigenic stimulation is not sufficient to start the T-cell activation, which further depends also on co-stimulatory signals. The binding of the T-cell molecule CD28 to the APC CD-80 (B7)/CD86 is an important positive co-stimulatory pathway. CTLA4, produced by cytotoxic T lymphocytes, is also a ligand of CD80/86 and a natural inhibitor of the T-cell activation.

Abatacept is a soluble fusion protein formed by the extracellular domain of human CTLA4 linked to a human IgG1 Fc portion. Abatacept (CTLA4-Ig) has been successfully used to treat RA patients. Its action decreased joint symptoms and signs and reduced RA radiological progression. It is currently indicated for the treatment of moderate-to-severe RA in patients not responsive to synthetic DMARDs or anti-TNF therapy [108].

In an experimental study with murine peripheral blood mononuclear cells, Axmann et al. showed that binding of CTLA4 to osteoclast precursor cells inhibited its differentiation and maturation having an anti-osteoclastogenic effect. They also showed that CTLA4 inhibited, dose-dependently, RANKL and TNF-mediated osteoclastogenesis in vitro without the presence of T cells. These experiments explained, at least in part, the anti-erosive effect of abatacept [109]. It has also been reported that CTLA4-Ig may induce the down-regulation of key osteoclast genes as *c-Fos* and *NFATc1*, making a direct influence on the differentiation of osteoclasts and its bone-resorbing activity [110]. Bedi et al. showed, in an experiment in mice, that CTLA4-Ig prevented bone loss and bone resorption induced by PTH [111]. Recently, Bozec et al. reported that the binding of CTLA-4 to CD80/86 induced the activation of the enzyme indoleamine 2,3-dioxygenase in osteoclast precursors degrading tryptophan and promoting apoptosis. This molecular mechanism may also explain the direct action of abatacept on osteoclasts inducing its apoptosis and protecting bone mass [112].

Biologic anti-osteoclast treatment

Bone loss in RA, featured by erosions of subchondral bone, peri-articular, and systemic osteoporosis, is mainly mediated by RANKL. The blockade of its activity decreases the differentiation and development of osteoclasts preventing the resorbing process associated with inflammation.

Denosumab, a fully human monoclonal antibody anti-RANKL, has been successfully used to treat osteoporosis [113]. In the FREEDOM pivotal study, denosumab 60 mg SC every 6 months for 3 years reduced the risk of vertebral and non-vertebral fractures in postmenopausal women [114]. Deodhar et al. studied the effect of denosumab on bone loss in the hands of 56 individuals with erosive RA. Patients under methotrexate treatment received subcutaneous placebo, denosumab 60 mg, or denosumab 180 mg at 0 and 6 months. Evaluations were made regarding hand BMD, radiographs, and magnetic resonance images. Erosions were evaluated by the Rheumatoid Arthritis Magnetic Resonance Imaging Scoring System of the metacarpophalangeal joints and wrists of both hands, modified with volume-based scoring of bone erosion for each joint from 0 to 10 with increments of 0.5 (total of 21 points and maximum total erosion score of 500). After 1 year, an increase in hand BMD and a reduction in hand bone erosions were observed in the denosumab-treated patients compared to placebo. Low bone scores were also observed at 6 months on MRI for the same group of patients [115]. In a randomized prospective study post hoc analysis including 218 patients with active, erosive RA, the effects of denosumab on the metacarpal shaft cortical bone thickness were measured by digital x-ray radiogrammetry. Study subjects were given two injections of denosumab treatment or placebo at baseline and then repeated after 6 months, with continuous methotrexate treatment. Denosumab treatment prevented cortical bone loss, an effect observed for up to 12 months [116]. BMD and bone turnover markers were analyzed in a randomized, double-blind, placebo-controlled phase II study of denosumab in RA patients taking concurrent glucocorticoids or bisphosphonates. After 6 and 12 months, lumbar spine and total hip BMD increased significantly compared with placebo in denosumab-treated patients. sCTX-I and PINP were also reduced at 3 and 6 months in all subgroups of patients on denosumab. These results were observed regardless of baseline BMD and bone turnover markers or concomitant use of glucocorticoids or bisphosphonates [117].

These studies show beneficial effects of denosumab in the preservation of bone mass, particularly in juxta-articular osteoporosis. However, blockade of RANKL did not affect the inflammatory arthritis. In addition, recently Ferrari et al. reported that in preclinical and clinical RA studies, RANKL inhibitors did not significantly alter the inflammatory processes [118].

Clinicians are concerned that concomitant blockade with TNF and RANKL in the same patient may increase the risk of immunosuppression and/or infection. Curtis et al. evaluated all RA patients enrolled in Medicare during 2006–2012 for the risk of infection in those concurrently treated with a biologic agent and denosumab or zoledronic acid. The study concluded that the rate of hospitalized infection was not significantly increased for patients receiving denosumab compared with that receiving zoledronic acid [119].

Small molecules new agents

Although many new treatments have become available in the last 15 years improving RA treatment, there are patients not responsive to the available therapeutic agents and some who cannot use them because of adverse effects. In the search for new treatments, efforts have been made to find more selective immunosuppressive therapies such as those targeting cytokine intracellular signaling pathways. One of these targets, successfully inhibited, has been the Janus tyrosine kinases (JAKs) pathways.

Tofacitinib is a synthetic (not biologic) small molecule new oral drug, acting as a potent inhibitor of the JAK family of tyrosine kinases, with a high degree of selectivity for JAK 1 and JAK 3 [120]. Phase 3 studies showed that tofacitinib used alone [121] or in combination with methotrexate [122] reduced the progression of cartilage and bone destruction in RA patients. Although tofacitinib decreased the development of bone erosions, there are no, at this point, studies with primary outcomes of BMD, bone markers, or fractures.

Conclusion

We presented in this review the best evidence available regarding bone loss in RA patients. The more recent knowledge of the cytokines' interplay in the inflamed synovial membrane and its close relation to osteoclast development and activation demonstrated that the persistence of inflammation enhanced bone turnover, leading to bone erosions and systemic bone loss. Early and "aggressive" treatments were reported to be more effective in rapidly achieving a low level of inflammation and halting the progressive loss of bone.

Several new studies showed that therapies targeting specific cytokines and its signaling pathways with biologic DMARDs may protect the skeleton and should be introduced as soon as possible. Outcomes in these clinical studies were based mostly on changes in biological markers, and only a few of them reported modifications on BMD or localized osteoporosis. Only three retrospective studies reported reduction in fracture risk after anti-TNF therapy.

Some reported findings still need to be clarified.

The TNF blockade studies showed that even in RA patients not responsive to treatment, a protective effect on bone was observed suggesting the possibility that anti-TNF therapy may restore coupling of the bone remodeling independently of its anti-inflammatory action.

Another point was the lack of efficacy of TNF blockade on hand bone loss despite its preservation of BMD in lumbar spine and hip. Is it related to a lack of satisfactory local anti-inflammatory action? Interestingly, better results regarding localized bone loss were observed with anti-IL6 treatment.

Very few studies reported inhibition of bone loss after rituximab and abatacept treatment. Anti-RANKL therapy showed beneficial effects in the preservation of bone mass in RA, especially in juxta-articular osteoporosis, although this treatment cannot alter the inflammatory process. New non-biologic therapies but potent inhibitors of the cytokine network may offer future options for skeleton preservation in RA.

Although several studies reported favorable actions of biologic therapies on bone protection, there are still unmet needs for studies regarding their actions on the risk of bone fractures in RA patients. They will be developed in the near future or they are probably underway at this time.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest Consultancy fees/honoraria:

Professor Cyrus Cooper has received consultancy and honoraria from Alliance for Better Bone Health, Amgen, Eli Lilly, GSK, Medtronic, Merck, Novartis, Pfizer, Roche, Servier, Takeda, and UCB.

Dr. Cristiano Zerbinì has received grants for support of clinical research: Pfizer, Lilly, Merck, Sanofi, GSK, Amgen.

Boards and Committees: Pfizer, Lilly, Sanofi

References

- O'Dell JR (2003) Rheumatoid arthritis: clinical aspects. In: Koopman WJ, Boulware DW, Heudebert GR (eds) *Clinical primer of rheumatology*. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, pp. 97–115
- McInnes IB, Schett G (2011) The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 365:2205–2219. doi:10.1056/NEJMr1004965
- Firestein GS (2003) Evolving concepts of rheumatoid arthritis. *Nature* 423:356–361. doi:10.1038/nature01661
- Keller JJ, Kang JH, Lin HC (2013) Association between osteoporosis and psoriasis: results from the Longitudinal Health Insurance Database in Taiwan. *Osteoporos Int* 24:1835–1841. doi:10.1007/s00198-012-2185-5
- Bultink IE, Vis M, van der Horst-Bruinsma IE, Lems WF (2012) Inflammatory rheumatic disorders and bone. *Curr Rheumatol Rep* 14:224–230. doi:10.1007/s11926-012-0252-8
- Straub RH, Cutolo M, Pacifici R (2015) Evolutionary medicine and bone loss in chronic inflammatory diseases—a theory of inflammation-related osteopenia. *Semin Arthritis Rheum* 45:220–228. doi:10.1016/j.semarthrit.2015.04.014
- Grossman JM, Gordon R, Ranganath VK, Deal C, Caplan L, Chen W, Curtis JR, Furst DE, McMahon M, Patkar NM, Volkman E, Saag KG (2010) American College of Rheumatology 2010 recommendations for the prevention and treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 62:1515–1526. doi:10.1002/acr.20295
- Steinbuch M, Youket TE, Cohen S (2004) Oral glucocorticoid use is associated with an increased risk of fracture. *Osteoporos Int* 15(4):323–328. doi:10.1007/s00198-003-1548-3
- Westhovens R, Nijs J, Taelman V, Dequeker J (1997) Body composition in rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol* 36:444–448. doi:10.1093/rheumatology/36.4.444
- Dirven L, van den Broek M, van Groenendael JH, de Beus WM, Kerstens PJ, Huizinga TW, Allaart CF, Lems WF (2012) Prevalence of vertebral fractures in a disease activity steered cohort of patients with early active rheumatoid arthritis. *BMC Musculoskelet Disord* 13:125. doi:10.1186/1471-2474-13-125
- Kim SY, Schneeweiss S, Liu J, Daniel GW, Chang CL, Gameau K, Solomon DH (2010) Risk of osteoporotic fracture in a large population-based cohort of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 12:R154. doi:10.1186/ar3107
- Hoff M, Bøyesen P, Haugeberg G, Vis M, Woolf AD, Havaardsholm EA, Dijkmans BA, Kvien TK, Uhlig T, Lems WF (2010) High disease activity is a predictor of cortical hand bone loss in post-menopausal patients with established rheumatoid arthritis: a 5-year multicentre longitudinal study. *Rheumatology (Oxford)* 49:1676–1682. doi:10.1093/rheumatology/keq125
- Haugeberg G, Uhlig T, Falch JA, Halse JI, Kvien TK (2000) Bone mineral density and frequency of osteoporosis in female patients with rheumatoid arthritis: results from 394 patients in the Oslo County Rheumatoid Arthritis register. *Arthritis Rheum* 43:522–530. doi:10.1002/1529-0131(200003)43:3<522::AID-ANR7>3.0.CO;2-Y
- Lee SG, Park YE, Park SH, Kim TK, Choi HJ, Lee SJ, Kim SI, Lee SH, Kim GT, Lee JW, Lee JH, Baik SH (2012) Increased frequency of osteoporosis and BMD below the expected range for age among South Korean women with rheumatoid arthritis. *Int J Rheum Dis* 15:289–296. doi:10.1111/j.1756-185X.2012.01729.x
- van Staa TP, Geusens P, Bijlsma JW, Leufkens HG, Cooper C (2006) Clinical assessment of the long-term risk of fracture in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 54:3104–3112. doi:10.1002/art.22117
- El Maghraoui A, Reziqi A, Mounach A, Achemlal L, Bezza A, Ghozlani I (2010) Prevalence and risk factors of vertebral fractures in women with rheumatoid arthritis using vertebral fracture assessment. *Rheumatology (Oxford)* 49:1303–1310. doi:10.1093/rheumatology/keq084
- Geusens P, Lems WF (2011) Osteoimmunology and osteoporosis. *Arthritis Res Ther* 13:242. doi:10.1186/ar3375
- Tengstrand B, Hafström I (2002) Bone mineral density in men with rheumatoid arthritis is associated with erosive disease and sulfasalazine treatment but not with sex hormones. *J Rheumatol* 29:2299–2305
- Gamero P, Landewé R, Boers M, Verhoeven A, Van Der Linden S, Christgau S, Van Der Heijde D, Boonen A, Geusens P (2002) Association of baseline levels of markers of bone and cartilage degradation with long-term progression of joint damage in patients with early rheumatoid arthritis: the COBRA study. *Arthritis Rheum* 46:2847–2856. doi:10.1002/art.10616
- Kanis JA, Johnell O, Oden A, Johansson H, McCloskey E (2008) FRAX and the assessment of fracture probability in men and women from the UK. *Osteoporos Int* 19:385–397. doi:10.1007/s00198-007-0543-5
- Shibuya K, Hagino H, Morio Y, Teshima R (2002) Cross-sectional and longitudinal study of osteoporosis in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 21:150–158. doi:10.1007/s10067-002-8274-7
- Güler-Yüksel M, Klarenbeek NB, Goekoop-Ruiterman YP, de Vries-Bouwstra JK, van der Kooij SM, Gerards AH, Ronda HK, Huizinga TW, Dijkmans BA, Allaart CF, Lems WF (2010) Accelerated hand bone mineral density loss is associated with progressive joint damage in hands and feet in recent-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 12:R96. doi:10.1186/ar3025

23. Goldring SR, Gravalles EM (2000) Mechanisms of bone loss in inflammatory arthritis: diagnosis and therapeutic implications. *Arthritis Res* 2:33–37. doi:10.1186/ar67
24. Gough AK, Lilley J, Eyre S, Holder RL, Emery P (1994) Generalised bone loss in patients with early rheumatoid arthritis. *Lancet* 344:23–27. doi:10.1016/S0140-6736(94)91049-9
25. Schett G, Kiechl S, Weger S, Pederiva A, Mayr A, Petrangeli M, Oberhollenzer F, Lorenzini R, Redlich K, Axmann R, Zwerina J, Willeit J (2006) High-sensitivity C-reactive protein and risk of nontraumatic fractures in the Bruneck study. *Arch Intern Med* 166:2495–2501. doi:10.1001/archinte.166.22.2495
26. Kleyer A, Finzel S, Rech J, Manger B, Krieter M, Faustini F, Araujo E, Hueber AJ, Harre U, Engelke K, Schett G (2014) Bone loss before the clinical onset of rheumatoid arthritis in subjects with anticitrullinated protein antibodies. *Ann Rheum Dis* 73:854–860. doi:10.1136/annrheumdis-2012-202958
27. Arron JR, Choi Y (2000) Bone versus immune system. *Nature* 408:535–536. doi:10.1038/35046196
28. Takayanagi H (2009) Osteoimmunology and the effects of the immune system on bone. *Nat Rev Rheumatol* 5:667–676. doi:10.1038/nrheum.2009.217
29. Hodge JM, Collier FM, Pavlos NJ, Kirkland MA, Nicholson GC (2011) M-CSF potently augments RANKL-induced resorption activation in mature human osteoclasts. *PLoS One* 6:e21462. doi:10.1371/journal.pone.0021462
30. Lam J, Takeshita S, Barker JE, Kanagawa O, Ross FP, Teitelbaum SL (2000) TNF-alpha induces osteoclastogenesis by direct stimulation of macrophages exposed to permissive levels of RANK ligand. *J Clin Invest* 106:1481–1488. doi:10.1172/JCI11176
31. Wang SY, Liu YY, Ye H, Guo JP, Li R, Liu X, et al. (2011) Circulating Dickkopf-1 is correlated with bone erosion and inflammation in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 38:821–827. doi:10.3899/jrheum.100089
32. Liu YY, Long L, Wang SY, Guo JP, Ye H, Cui LF, Yuan GH, Li ZG (2010) Circulating Dickkopf-1 and osteoprotegerin in patients with early and longstanding rheumatoid arthritis. *Chin Med J* 123:1407–1412
33. Kotake S, Udagawa N, Takahashi N, Matsuzaki K, Itoh K, Ishiyama S, Saito S, Inoue K, Kamatani N, Gillespie MT, Martin TJ, Suda T (1999) IL-17 in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis is a potent stimulator of osteoclastogenesis. *J Clin Invest* 103:1345–1352. doi:10.1172/JCI5703
34. Yago T, Nanke Y, Ichikawa N, Kobashigawa T, Mogi M, Kamatani N, Kamatani N, Kotake S (2009) IL-17 induces osteoclastogenesis from human monocytes alone in the absence of osteoblasts, which is potently inhibited by anti-TNF-alpha antibody: a novel mechanism of osteoclastogenesis by IL-17. *J Cell Biochem* 108:947–955. doi:10.1002/jcb.22326
35. Polzer K, Joosten L, Gasser J, Distler JH, Ruiz G, Baum W, Redlich K, Bobacz K, Smolen JS, van den Berg W, Schett G, Zwerina J (2010) Interleukin-1 is essential for systemic inflammatory bone loss. *Ann Rheum Dis* 69:284–290. doi:10.1136/ard.2008.104786
36. Nakamura I, Jimi E (2006) Regulation of osteoclast differentiation and function by interleukin-1. *Vitam Horm* 74:357–370. doi:10.1016/S0083-6729(06)74015-8
37. De Benedetti F, Rucci N, Del Fattore A, Peruzzi B, Paro R, Longo M, et al. (2006) Impaired skeletal development in interleukin-6-transgenic mice: a model for the impact of chronic inflammation on the growing skeletal system. *Arthritis Rheum* 54:3551–3563. doi:10.1002/art.22175
38. Oelzner P, Franke S, Lehmann G, Eidner T, Hein G, Wolf G (2012) The balance between soluble receptors regulating IL-6 trans-signaling is predictive for the RANKL/osteoprotegerin ratio in postmenopausal women with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 32:199–206. doi:10.1007/s00296-010-1606-z
39. Cheung WY, Simmons CA, You L (2012) Osteocyte apoptosis regulates osteoclast precursor adhesion via osteocytic IL-6 secretion and endothelial ICAM-1 expression. *Bone* 50:104–110. doi:10.1016/j.bone.2011.09.052
40. Bonewald LF (2013) Osteocytes. In: Rosen CJ (ed) *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*, 8th edn. Wiley-Blackwell, Iowa, pp. 34–41
41. Holmbeck K, Bianco P, Pidoux I, Inoue S, Billingham RC, Wu W, et al. (2005) The metalloproteinase MT1-MMP is required for normal development and maintenance of osteocyte processes in bone. *J Cell Sci* 118:147–156. doi:10.1242/jcs.01581
42. Bonewald LF (2011) The amazing osteocyte. *J Bone Miner Res* 26:229–238. doi:10.1002/jbmr.320
43. Bakker AD, Kulkarni RN, Klein-Nulend J, Lems WF (2014) IL-6 alters osteocyte signaling toward osteoblasts but not osteoclasts. *J Dent Res* 93:394–399. doi:10.1177/0022034514522485
44. Bakker AD, Silva VC, Krishnan R, Bacabac RG, Blaauboer ME, Lin YC, et al. (2009) Tumor necrosis factor alpha and interleukin-1beta modulate calcium and nitric oxide signaling in mechanically stimulated osteocytes. *Arthritis Rheum* 60:3336–3345. doi:10.1002/art.24920
45. Heiland GR, Zwerina K, Baum W, Kireva T, Distler JH, Grisanti M, et al. (2010) Neutralisation of Dkk-1 protects from systemic bone loss during inflammation and reduces sclerostin expression. *Ann Rheum Dis* 69:2152–2159. doi:10.1136/ard.2010.132852
46. Lindqvist E, Jonsson K, Saxne T, Eberhardt K (2003) Course of radiographic damage over 10 years in a cohort with early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 62:611–616. doi:10.1136/ard.62.7.611
47. Lindqvist E, Eberhardt K, Bendtzen K, Heinegård D, Saxne T (2005) Prognostic laboratory markers of joint damage in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 64:196–201. doi:10.1136/ard.2003.019992
48. Kuhn KA, Kulik L, Tomooka B, Braschler KJ, Arend WP, Robinson WH, et al. (2006) Antibodies against citrullinated proteins enhance tissue injury in experimental autoimmune arthritis. *J Clin Invest* 116:961–973. doi:10.1172/JCI25422
49. de Vries-Bouwstra JK, Goekoop-Ruiterman YP, Verpoort KN, Schreuder GM, Ewals JA, Terwiel JP, et al. (2008) Progression of joint damage in early rheumatoid arthritis: association with HLA-DRB1, rheumatoid factor, and anti-citrullinated protein antibodies in relation to different treatment strategies. *Arthritis Rheum* 58:1293–1298. doi:10.1002/art.23439
50. Bukhari M, Thomson W, Naseem H, Bunn D, Silman A, Symmons D, et al. (2007) The performance of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in predicting the severity of radiologic damage in inflammatory polyarthritis: results from the Norfolk Arthritis Register. *Arthritis Rheum* 56:2929–2935. doi:10.1002/art.22868
51. Syversen SW, Goll GL, van der Heijde D, Landewé R, Lie BA, Odegård S, et al. (2010) Prediction of radiographic progression in rheumatoid arthritis and the role of antibodies against mutated citrullinated vimentin: results from a 10-year prospective study. *Ann Rheum Dis* 69:345–351. doi:10.1136/ard.2009.113092
52. Martin-Mola E, Balsa A, García-Vicuna R, Gómez-Reino J, González-Gay MA, Sanmartí R, et al. (2016) Anti-citrullinated peptide antibodies and their value for predicting responses to biologic agents: a review. *Rheumatol Int* 36:1043–1063. doi:10.1007/s00296-016-3506-3
53. Sakkas LI, Bogdanos DP, Katsiari C, Platsoucas CD (2014) Anti-citrullinated peptides as autoantigens in rheumatoid arthritis-relevance to treatment. *Autoimmun Rev* 13:1114–1120. doi:10.1016/j.autrev.2014.08.012
54. Kocijan R, Finzel S, Englbrecht M, Engelke K, Rech J, Schett G (2014) Differences in bone structure between rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis patients relative to autoantibody positivity.

- Ann Rheum Dis 73:2022–2028. doi:10.1136/annrheumdis-2013-203791
55. Stach CM, Bäuerle M, Englbrecht M, Kronke G, Engelke K, Manger B, et al. (2010) Periarticular bone structure in rheumatoid arthritis patients and healthy individuals assessed by high-resolution computed tomography. *Arthritis Rheum* 62:330–339. doi:10.1002/art.27252
 56. Harre U, Georgess D, Bang H, Bozec A, Axmann R, Ossipova E, et al. (2012) Induction of osteoclastogenesis and bone loss by human autoantibodies against citrullinated vimentin. *J Clin Invest* 122:1791–1802. doi:10.1172/JCI60975
 57. Krishnamurthy A, Joshua V, Haj Hensvold A, Jin T, Sun M, Vivar N, et al. (2016) Identification of a novel chemokine-dependent molecular mechanism underlying rheumatoid arthritis-associated autoantibody-mediated bone loss. *Ann Rheum Dis* 75:721–729. doi:10.1136/annrheumdis-2015-208093
 58. Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow G, Gøtzsche PC, et al. (2009) The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: explanation and elaboration. *PLoS Med* 6(7):e1000100. doi:10.1371/journal.pmed.1000100
 59. Charles P, Elliott MJ, Davis D, Potter A, Kalden JR, Antoni C et al (1999) Regulation of cytokines, cytokine inhibitors, and acute-phase proteins following anti-TNF-alpha therapy in rheumatoid arthritis. *J Immunol* 163:1521–1528
 60. Saidenberg-Kermanac'h N, Corrado A, Lemeiter D, deVemejoul MC, Boissier MC, Cohen-Solal ME (2004) TNF-alpha antibodies and osteoprotegerin decrease systemic bone loss associated with inflammation through distinct mechanisms in collagen-induced arthritis. *Bone* 35(5):1200–1207. doi:10.1016/j.bone.2004.07.004
 61. Hata H, Sakaguchi N, Yoshitomi H, Iwakura Y, Sekikawa K, Azuma Y et al (2004) Distinct contribution of IL-6, TNF-alpha, IL-1, and IL-10 to T cell-mediated spontaneous autoimmune arthritis in mice. *J Clin Invest* 114:582–588. doi:10.1172/JCI21795
 62. Asquith DL, Miller AM, McInnes IB, Liew FY (2009) Animal models of rheumatoid arthritis. *Eur J Immunol* 39:2040–2044. doi:10.1002/eji.200939578
 63. Matzelle MM, Gallant MA, Condon KW, Walsh NC, Manning CA, Stein GS et al (2012) Resolution of inflammation induces osteoblast function and regulates the Wnt signaling pathway. *Arthritis Rheum* 64:1540–1550. doi:10.1002/art.33504
 64. Kim SY, Schneeweiss S, Liu J, Solomon DH (2012) Effects of disease-modifying antirheumatic drugs on nonvertebral fracture risk in rheumatoid arthritis: a population-based cohort study. *J Bone Miner Res* 27:789–796. doi:10.1002/jbmr.1489
 65. Kawai VK, Grijalva CG, Arbogast PG, Curtis JR, Solomon DH, Delzell E et al (2013) Initiation of tumor necrosis factor α antagonists and risk of fractures in patients with selected rheumatic and autoimmune diseases. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 65:1085–1094. doi:10.1002/acr.21937
 66. Coulson KA, Reed G, Gilliam BE, Kremer JM, Pempueller PH (2009) Factors influencing fracture risk, T score, and management of osteoporosis in patients with rheumatoid arthritis in the Consortium of Rheumatology Researchers of North America (CORRONA) registry. *J Clin Rheumatol* 15:155–160. doi:10.1097/RHU.0b013e3181a5679d
 67. Wijbrandts CA, Klaasen R, Dijkgraaf MG, Gerlag DM, van Eck-Smit BL, Tak PP (2009) Bone mineral density in rheumatoid arthritis patients 1 year after adalimumab therapy: arrest of bone loss. *Ann Rheum Dis* 68:373–376. doi:10.1136/ard.2008.091611
 68. Vis M, Havaardsholm EA, Haugeberg G, Uhlig T, Voskuyl AE, van de Stadt RJ, Dijkmans BA et al (2006) Evaluation of bone mineral density, bone metabolism, osteoprotegerin and receptor activator of the NF κ B ligand serum levels during treatment with infliximab in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 65:1495–1499. doi:10.1136/ard.2005.044198
 69. Eekman DA, Vis M, Bultink IE, Kuik DJ, Voskuyl AE, Dijkmans BA et al (2011) Stable bone mineral density in lumbar spine and hip in contrast to bone loss in the hands during long-term treatment with infliximab in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 70:389–390. doi:10.1136/ard.2009.127787
 70. Hoff M, Kvien TK, Kälvesten J, Elden A, Kavanaugh A, Haugeberg G (2011) Adalimumab reduces hand bone loss in rheumatoid arthritis independent of clinical response: subanalysis of the PREMIER study. *BMC Musculoskelet Disord* 12:54. doi:10.1186/1471-2474-12-54
 71. Krieckaert CL, Nurmohamed MT, Wolbink G, Lems WF (2013) Changes in bone mineral density during long-term treatment with adalimumab in patients with rheumatoid arthritis: a cohort study. *Rheumatology (Oxford)* 52:547–553. doi:10.1093/rheumatology/kes320
 72. Serio B, Paolino S, Sulli A, Ferretti V, Cutolo M (2006) Bone metabolism changes during anti-TNF-alpha therapy in patients with active rheumatoid arthritis. *Ann N Y Acad Sci* 1069:420–427. doi:10.1196/annals.1351.040
 73. Vis M, Voskuyl AE, Wolbink GJ, Dijkmans BA, Lems WF; OSTRAL Study Group (2005) Bone mineral density in patients with rheumatoid arthritis treated with infliximab. *Ann Rheum Dis* 64:336–337. doi:10.1136/ard.2003.017780
 74. Marotte H, Pallot-Prades B, Grange L, Gaudin P, Alexandre C, Miossec P (2007) A 1-year case-control study in patients with rheumatoid arthritis indicates prevention of loss of bone mineral density in both responders and nonresponders to infliximab. *Arthritis Res Ther* 9:R61. doi:10.1186/ar2219
 75. Haugeberg G, Helgetveit KB, Førre Ø, Garen T, Sommerseth H, Prøven A (2014) Generalized bone loss in early rheumatoid arthritis patients followed for ten years in the biologic treatment era. *BMC Musculoskelet Disord* 15:289. doi:10.1186/1471-2474-15-289
 76. Güler-Yüksel M, Bijsterbosch J, Goekoop-Ruiterman YP, de Vries-Bouwstra JK, Hulsmans HM, de Beus WM et al (2008) Changes in bone mineral density in patients with recent onset, active rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 67:823–828. doi:10.1136/ard.2007.073817
 77. Smolen JS, Aletaha D, Bijlsma JW, Breedveld FC, Boumpas D, Burmester G et al (2010) Treating rheumatoid arthritis to target: recommendations of an international task force. *Ann Rheum Dis* 69:631–637. doi:10.1136/ard.2009.123919
 78. Szulc P, Bauer DC, Eastell R (2013) Biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. In: Rosen CJ (ed) *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*, 8th edn. Wiley-Blackwell, Iowa, p 297–306
 79. González-Alvaro I, Ortiz AM, Tomero EG, Balsa A, Orte J, Laffon A et al (2007) Baseline serum RANKL levels may serve to predict remission in rheumatoid arthritis patients treated with TNF antagonists. *Ann Rheum Dis* 66:1675–1678. doi:10.1136/ard.2007.071910
 80. Catrina AI, af Klint E, Ernestam S, Catrina SB, Makrygiannakis D, Botusan IR et al (2006) Anti-tumor necrosis factor therapy increases synovial osteoprotegerin expression in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 54:76–81. doi:10.1002/art.21528
 81. Korczowska I, Lacki JK, Hrycaj P (2013) Influence of infliximab on cytokines network and markers of bone remodeling in rheumatoid arthritis patients. *Yonsei Med J* 54:183–188. doi:10.3349/ymj.2013.54.1.183
 82. Moon SJ, Ahn IE, Jung H, Yi H, Kim J, Kim Y et al (2013) Temporal differential effects of proinflammatory cytokines on osteoclastogenesis. *Int J Mol Med* 31:769–777. doi:10.3892/ijmm.2013.1269
 83. Chopin F, Gamero P, le Henanff A, Debiais F, Daragon A, Roux C et al (2008) Long-term effects of infliximab on bone and cartilage

- turnover markers in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 67:353–357. doi:10.1136/ard.2007.076604
84. Vis M, Wolbink GJ, Lodder MC, Kostense PJ, van de Stadt RJ, de Koning MH et al (2003) Early changes in bone metabolism in rheumatoid arthritis patients treated with infliximab. *Arthritis Rheum* 48:2996–2997. doi:10.1002/art.11292
 85. Lange U, Teichmann J, Müller-Ladner U, Strunk J (2005) Increase in bone mineral density of patients with rheumatoid arthritis treated with anti-TNF-alpha antibody: a prospective open-label pilot study. *Rheumatology (Oxford)* 44:1546–1548. doi:10.1093/rheumatology/kei082
 86. Torikai E, Kageyama Y, Takahashi M, Suzuki M, Ichikawa T, Nagafusa T et al (2006) The effect of infliximab on bone metabolism markers in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)* 45:761–764. doi:10.1093/rheumatology/kei280
 87. Yasunori K, Masaaki T, Tetsuyuki N, Hayato K, Akira N (2008) Reduction of urinary levels of pyridinoline and deoxypyridinoline and serum levels of soluble receptor activator of NF-kappaB ligand by etanercept in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 27:1093–1101. doi:10.1007/s10067-008-0870-8
 88. Ziolkowska M, Kurowska M, Radzikowska A, Luszczkiewicz G, Wiland P, Dziewczopolski W et al (2002) High levels of osteoprotegerin and soluble receptor activator of nuclear factor kappa B ligand in serum of rheumatoid arthritis patients and their normalization after anti-tumor necrosis factor alpha treatment. *Arthritis Rheum* 46:1744–1753. doi:10.1002/art.10388
 89. Wong PK, Quinn JM, Sims NA, van Nieuwenhuijze A, Campbell IK, Wicks IP (2006) Interleukin-6 modulates production of T lymphocyte-derived cytokines in antigen-induced arthritis and drives inflammation-induced osteoclastogenesis. *Arthritis Rheum* 54:158–168. doi:10.1002/art.21537
 90. Abdel Meguid MH, Hamad YH, Swilam RS, Barakat MS (2013) Relation of interleukin-6 in rheumatoid arthritis patients to systemic bone loss and structural bone damage. *Rheumatol Int* 33:697–703. doi:10.1007/s00296-012-2375-7
 91. Naugler WE, Karin M (2008) The wolf in sheep's clothing: the role of interleukin-6 in immunity, inflammation and cancer. *Trends Mol Med* 14:109–119. doi:10.1016/j.molmed.2007.12.007
 92. Maimi RN, Taylor PC, Szechinski J, Pavelka K, Bröll J, Balint G et al (2006) Double-blind randomized controlled clinical trial of the interleukin-6 receptor antagonist, tocilizumab, in European patients with rheumatoid arthritis who had an incomplete response to methotrexate. *Arthritis Rheum* 54:2817–2829. doi:10.1002/art.22033
 93. Nishimoto N, Hashimoto J, Miyasaka N, Yamamoto K, Kawai S, Takeuchi T et al (2007) Study of active controlled monotherapy used for rheumatoid arthritis, an IL-6 inhibitor (SAMURAI): evidence of clinical and radiographic benefit from an x ray reader-blinded randomised controlled trial of tocilizumab. *Ann Rheum Dis* 66:1162–1167. doi:10.1136/ard.2006.068064
 94. Smolen JS, Beaulieu A, Rubbert-Roth A, Ramos-Remus C, Rovensky J, Alecock E et al (2008) Effect of interleukin-6 receptor inhibition with tocilizumab in patients with rheumatoid arthritis (OPTION study): a double-blind, placebo-controlled, randomised trial. *Lancet* 371:987–997. doi:10.1016/S0140-6736(08)60453-5
 95. Axmann R, Böhm C, Krönke G, Zwerina J, Smolen J, Schett G (2009) Inhibition of interleukin-6 receptor directly blocks osteoclast formation in vitro and in vivo. *Arthritis Rheum* 60:2747–2756. doi:10.1002/art.24781
 96. Finzel S, Rech J, Schmidt S, Engelke K, Englbrecht M, Schett G (2013) Interleukin-6 receptor blockade induces limited repair of bone erosions in rheumatoid arthritis: a micro CT study. *Ann Rheum Dis* 72:396–400. doi:10.1136/annrheumdis-2011-201075
 97. Hashimoto J, Garnero P, van der Heijde D, Miyasaka N, Yamamoto K, Kawai S, Takeuchi T, Yoshikawa H, Nishimoto N (2011) Humanized anti-interleukin-6-receptor antibody (tocilizumab) monotherapy is more effective in slowing radiographic progression in patients with rheumatoid arthritis at high baseline risk for structural damage evaluated with levels of biomarkers, radiography, and BMI: data from the SAMURAI study. *Mod Rheumatol* 21:10–15. doi:10.1007/s10165-010-0325-3
 98. Garnero P, Thompson E, Woodworth T, Smolen JS (2010) Rapid and sustained improvement in bone and cartilage turnover markers with the anti-interleukin-6 receptor inhibitor tocilizumab plus methotrexate in rheumatoid arthritis patients with an inadequate response to methotrexate: results from a substudy of the multicenter double-blind, placebo-controlled trial of tocilizumab in inadequate responders to methotrexate alone. *Arthritis Rheum* 62:33–43. doi:10.1002/art.25053
 99. Karsdal MA, Schett G, Emery P, Harari O, Byrjalsen I, Kenwright A, Bay-Jensen AC, Platt A (2012) IL-6 receptor inhibition positively modulates bone balance in rheumatoid arthritis patients with an inadequate response to anti-tumor necrosis factor therapy: biochemical marker analysis of bone metabolism in the tocilizumab RADIATE study (NCT00106522). *Semin Arthritis Rheum* 42:131–139. doi:10.1016/j.semarthrit.2012.01.004
 100. Kanbe K, Nakamura A, Inoue Y, Hobo K (2012) Osteoprotegerin expression in bone marrow by treatment with tocilizumab in rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int* 32:2669–2674. doi:10.1007/s00296-011-2021-9
 101. Terpos E, Fragiadaki K, Konsta M, Bratengeier C, Papatheodorou A, Sfikakis PP (2011) Early effects of IL-6 receptor inhibition on bone homeostasis: a pilot study in women with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 29:921–925
 102. Onal M, Xiong J, Chen X, Thostenson JD, Almeida M, Manolagas SC, O'Brien CA (2012) Receptor activator of nuclear factor kappa B ligand (RANKL) protein expression by B lymphocytes contributes to ovariectomy-induced bone loss. *J Biol Chem* 287:29851–29860. doi:10.1074/jbc.M112.377945
 103. Yeo L, Toellner KM, Salmon M, Filer A, Buckley CD, Raza K et al (2011) Cytokine mRNA profiling identifies B cells as a major source of RANKL in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 70:2022–2028. doi:10.1136/ard.2011.153312
 104. Edwards JC, Szczepanski L, Szechinski J, Filipowicz-Sosnowska A, Emery P, Close DR et al (2004) Efficacy of B-cell-targeted therapy with rituximab in patients with rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 350:2572–2581. doi:10.1056/NEJMoa032534
 105. Hein G, Eidner T, Oelzner P, Rose M, Wilke A, Wolf G et al (2011) Influence of Rituximab on markers of bone remodeling in patients with rheumatoid arthritis: a prospective open-label pilot study. *Rheumatol Int* 31:269–272. doi:10.1007/s00296-010-1560-9
 106. Boumans MJ, Thurlings RM, Yeo L, Scheel-Toellner D, Vos K, Gerlag DM et al (2012) Rituximab abrogates joint destruction in rheumatoid arthritis by inhibiting osteoclastogenesis. *Ann Rheum Dis* 71:108–113. doi:10.1136/annrheumdis-2011-200198
 107. Salvin S, Quartuccio I, Master M, Corazza I, De Marchi G, Lombardi S et al (2010) Variations in lumbar spine and femoral BMD after rituximab therapy in active rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 69(Suppl. 3):704
 108. Kremer JM, Westhovens R, Leon M, Di Giorgio E, Alten R, Steinfeld S et al (2003) Treatment of rheumatoid arthritis by selective inhibition of T-cell activation with fusion protein CTLA4Ig. *N Engl J Med* 349:1907–1915. doi:10.1056/NEJMoa035075
 109. Axmann R, Herman S, Zaiss M, Franz S, Polzer K, Zwerina J et al (2008) CTLA-4 directly inhibits osteoclast formation. *Ann Rheum Dis* 67:1603–1609. doi:10.1136/ard.2007.080713
 110. Cutolo M, Nadler SG (2013) Advances in CTLA-4-Ig-mediated modulation of inflammatory cell and immune response activation

- in rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev* 12:758–767. doi:[10.1016/j.autrev.2013.01.001](https://doi.org/10.1016/j.autrev.2013.01.001)
111. Bedi B, Li JY, Grassi F, Tawfeek H, Weitzmann MN, Pacifici R (2010) Inhibition of antigen presentation and T cell costimulation blocks PTH-induced bone loss. *Ann N Y Acad Sci* 1192:215–221. doi:[10.1111/j.1749-6632.2009.05216.x](https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.05216.x)
 112. Bozec A, Zaiss MM, Kagwiria R, Völl R, Rauh M, Chen Z et al (2014) T cell costimulation molecules CD80/86 inhibit osteoclast differentiation by inducing the IDO/tryptophan pathway. *Sci Transl Med* 6:235ra60. doi:[10.1126/scitranslmed.3007764](https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3007764)
 113. McClung MR (2013) Denosumab. In: Rosen CJ (ed) *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*, 8th ed. Wiley-Blackwell, Iowa, p 420–427
 114. Cummings SR, San Martin J, McClung MR, Siris ES, Eastell R, Reid IR et al (2009) Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 361:756–765. doi:[10.1056/NEJMoa0809493](https://doi.org/10.1056/NEJMoa0809493)
 115. Deodhar A, Dore RK, Mandel D, Schechtman J, Shergy W, Trapp R et al (2010) Denosumab-mediated increase in hand bone mineral density associated with decreased progression of bone erosion in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 62:569–574. doi:[10.1002/acr.20004](https://doi.org/10.1002/acr.20004)
 116. Sharp JT, Tsuji W, Ory P, Harper-Barek C, Wang H, Newmark R (2010) Denosumab prevents metacarpal shaft cortical bone loss in patients with erosive rheumatoid arthritis. *Arthritis Care Res (Hoboken)* 62:537–544. doi:[10.1002/acr.20172](https://doi.org/10.1002/acr.20172)
 117. Dore RK, Cohen SB, Lane NE, Palmer W, Shergy W, Zhou L et al (2010) Effects of denosumab on bone mineral density and bone turnover in patients with rheumatoid arthritis receiving concurrent glucocorticoids or bisphosphonates. *Ann Rheum Dis* 69:872–875. doi:[10.1136/ard.2009.112920](https://doi.org/10.1136/ard.2009.112920)
 118. Ferrari-Lacraz S, Ferrari S (2011) Do RANKL inhibitors (denosumab) affect inflammation and immunity? *Osteoporos Int* 22:435–446. doi:[10.1007/s00198-010-1326-y](https://doi.org/10.1007/s00198-010-1326-y)
 119. Curtis JR, Xie F, Yun H, Saag KG, Chen L, Delzell E (2015) Risk of hospitalized infection among rheumatoid arthritis patients concurrently treated with a biologic agent and denosumab. *Arthritis Rheumatol* 67:1456–1464. doi:[10.1002/art.39075](https://doi.org/10.1002/art.39075)
 120. Zerbin CA, Lomonte AB (2012) Tofacitinib for the treatment of rheumatoid arthritis. *Expert Rev Clin Immunol* 8:319–331. doi:[10.1586/eci.12.19](https://doi.org/10.1586/eci.12.19)
 121. Lee EB, Fleischmann R, Hall S, Wilkinson B, Bradley JD, Gruben D et al (2014) Tofacitinib versus methotrexate in rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 370:2377–3286. doi:[10.1056/NEJMoa1310476](https://doi.org/10.1056/NEJMoa1310476)
 122. Kremer J, Li ZG, Hall S, Fleischmann R, Genovese M, Martin-Mola E et al (2013) Tofacitinib in combination with nonbiologic disease-modifying antirheumatic drugs in patients with active rheumatoid arthritis: a randomized trial. *Ann Intern Med* 159:253–261. doi:[10.7326/0003-4819-159-4-201308200-00006](https://doi.org/10.7326/0003-4819-159-4-201308200-00006)



Revisión

Glutamina como coadyuvante en la recuperación de la fuerza muscular: revisión sistemática de la literatura

Sandra Elvia Hernández Valencia¹, Lucía Méndez Sánchez², Patricia Clark², Laura Moreno Altamirano³ y Juan Manuel Mejía Aranguré^{2,4}

¹Instituto Nacional de Rehabilitación, Subdirección de Medicina del Deporte, México D.F. ²Departamento de Epidemiología Clínica, Hospital Infantil de México "Federico Gómez", México D.F. ³Departamento de Salud Pública, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. ⁴Comisión Nacional de Investigación Científica. Instituto Mexicano del Seguro Social, México D.F.

Resumen

Antecedentes: la pérdida de fuerza del músculo esquelético es frecuente tras una lesión traumática o en el postquirúrgico ortopédico. Además de los esquemas de ejercicio de fuerza y/o resistencia para su tratamiento, ha sido propuesto como auxiliar el uso de algunos aminoácidos como la glutamina (Gln), de manera aislada o combinada con otros nutrientes. Sin embargo, la información sobre la eficacia de la suplementación oral con Gln durante los esquemas de ejercicio de fuerza y/o resistencia en adultos con déficit de fuerza es inconsistente.

Objetivo: evaluar la solidez de la evidencia disponible del efecto de la suplementación oral con Gln sobre la fuerza muscular, junto con esquemas de ejercicio de fuerza y/o resistencia en adultos con déficit de fuerza muscular.

Métodos: se realizó una búsqueda sistemática en diferentes bases de datos, de ensayos clínicos reportados desde el año 1980 a 2014, en idioma inglés y español, sobre suplementación oral con Gln aislada o combinada con otros nutrientes, con grupo control, en adultos con déficit de fuerza, bajo esquemas de ejercicio de fuerza y/o resistencia, seguimiento menor a un año y fuerza muscular como desenlace primario.

Resultados: de 661 artículos, se identificaron seis estudios relevantes. El estudio con más participantes que evaluó la Gln aislada no sugiere cambios entre los grupos, solo una mejoría en la percepción de la debilidad muscular. Los estudios que evaluaron la Gln con otros nutrientes reportan resultados a favor de esta. No fue posible realizar un metanálisis.

GLUTAMINE AS AN AID IN THE RECOVERY OF MUSCLE STRENGTH: SYSTEMATIC REVIEW OF LITERATURE

Abstract

Background: after a traumatic injury or post surgical orthopedic, the loss of skeletal muscle strength is common. In addition to strength training schemes and/or resistance to treatment, it has been proposed as an additional treatment, the use of some amino acids such as glutamine (Gln) in isolation or combination with other nutrients. However, the information on the effectiveness of oral Gln supplementation during exercise strength schemes and / or endurance in adults with strength deficit is inconsistent.

Objective: to evaluate the strength of the evidence at hand about the effect of oral supplementation on muscle strength Gln set to strength training schemes and / or resistance in adult muscle strength deficit.

Methods: a systematic search was conducted in different databases, in clinical trials reported from the year 1980-2014, both in English and Spanish, about oral Gln supplementation alone or in combination with other nutrients, with a control group, in adults with strength deficits under exercise schemes of strength and / or endurance, tracking under a year and muscle power as the primary outcome.

Results: of 661 articles, six relevant studies were identified. The study participants in Gln isolation evaluation did not suggest changes between the groups, only an improvement in the perception of muscle weakness. Studies evaluating Gln with other nutrients, have reported results in favor of it. No meta-analysis was possible.

Correspondencia: Laura Moreno Altamirano.
Universidad Nacional Autónoma de México.
Facultad de Medicina, Departamento de Salud Pública.
Circuito interior, Ciudad Universitaria, Av. Universidad 3000,
CP. 04510, México D.F.
E-mail: lamore@unam.mx

Recibido: 27-V-2015.
Aceptado: 26-VI-2015.

Conclusiones: actualmente no se dispone de suficientes datos de los efectos relacionados con la Gln sobre el déficit de fuerza muscular durante esquemas de ejercicio en adultos. Se requiere mayor investigación al respecto para responder con mayor solidez sobre este hecho.

(*Nutr Hosp.* 2015;32:1443-1453)

DOI:10.3305/nh.2015.32.4.9321

Palabras clave: *Glutamina. Fuerza muscular. Aminoácidos. Ejercicio.*

Introducción

La pérdida de fuerza del músculo esquelético es frecuente posterior a una lesión traumática o en el post quirúrgico ortopédico en pacientes adultos, debido a que los mecanismos normales del músculo tales como la longitud de tensión y la relación de fuerza-velocidad, pueden ser afectados^{1,2,3,4,5,6}. Se han establecido como tratamiento de primer elección programas de rehabilitación con esquemas de ejercicio de fuerza y/o resistencia para la recuperación de fuerza, movilidad y control neuromuscular con la finalidad de prevenir nuevas lesiones^{2,7,8,9,10,11,12}.

Sin embargo, en algunos casos, además de dichos esquemas de ejercicio, se ha empleado como estrategia nutricional el uso de complementos orales a base de aminoácidos para incrementar la tasa de síntesis proteica y evitar la degradación de proteínas musculares^{13,14}. Uno de estos aminoácidos es la Glutamina, cuya popularidad se ha incrementado entre deportistas y población general, por lo que en el año 2012 fue uno de los seis complementos más utilizados por estos^{15,16}.

La glutamina es el aminoácido no esencial más abundante en el cuerpo humano, representa más del 50% de la reserva de aminoácidos libres del músculo-esquelético, el cual es el mayor reservorio y cuantitativamente el sitio más importante para su síntesis^{17,18,19,20,21}. La glutamina circulante en el plasma deriva principalmente de la síntesis del músculo esquelético^{19,20,21,22,23}.

Debido a que la glutamina participa en la síntesis de aminoácidos, ácidos nucleídos, glucógeno y otras moléculas biológicamente importantes en el metabolismo celular^{20,21,24,25,26}, se ha considerado como posible estimulante para el anabolismo proteico, adjudicándole beneficios potenciales sobre el tejido muscular en diversas condiciones medicas^{17,18,25,27,28,29}.

Estudios en ratas con lesión muscular inducida por ejercicio, han observado elevación de las fuerzas contráctiles así como crecimiento muscular posterior a la suplementario con glutamina. Posiblemente esto se debe al incremento de miofilamentos disponibles para crear una contracción muscular³⁰. Asimismo, el incremento de los niveles de glutamina intramuscular ha sido directamente ligada con

Conclusions: nowadays there are insufficient data on the effects related to the Gln on the deficit of muscular force during exercise schemes in adults. It is required more research in this topic to respond more accurately about this fact.

(*Nutr Hosp.* 2015;32:1443-1453)

DOI:10.3305/nh.2015.32.4.9321

Key words: *Glutamine. Muscle strength. Amino acids. Exercise.*

el volumen celular³¹, el cual incrementa la síntesis proteica e incrementa el tamaño muscular dando como posible resultado el aumento de masa y fuerza muscular³².

Otra hipótesis sobre el beneficio del uso de glutamina es, que debido a la respuesta inflamatoria de las fibras musculares, se incrementa el consumo de glutamina por algunas células del sistema inmunológico, lo cual repercute en la síntesis proteica y por ende en la recuperación muscular, por lo que suministrar este aminoácido revierte este hecho. Sin embargo, el mecanismo aun no es del todo claro³².

Introducción

La pérdida de fuerza del músculo esquelético es frecuente posterior a una lesión traumática o en el post quirúrgico ortopédico en pacientes adultos, debido a que los mecanismos normales del músculo tales como la longitud de tensión y la relación de fuerza-velocidad, pueden ser afectados^{1,2,3,4,5,6}. Se han establecido como tratamiento de primer elección programas de rehabilitación con esquemas de ejercicio de fuerza y/o resistencia para la recuperación de fuerza, movilidad y control neuromuscular con la finalidad de prevenir nuevas lesiones^{2,7,8,9,10,11,12}.

Sin embargo, en algunos casos, además de dichos esquemas de ejercicio, se ha empleado como estrategia nutricional el uso de complementos orales a base de aminoácidos para incrementar la tasa de síntesis proteica y evitar la degradación de proteínas musculares^{13,14}. Uno de estos aminoácidos es la Glutamina, cuya popularidad se ha incrementado entre deportistas y población general, por lo que en el año 2012 fue uno de los seis complementos más utilizados por estos^{15,16}.

La glutamina es el aminoácido no esencial más abundante en el cuerpo humano, representa más del 50% de la reserva de aminoácidos libres del músculo-esquelético, el cual es el mayor reservorio y cuantitativamente el sitio más importante para su síntesis^{17,18,19,20,21}. La glutamina circulante en el plasma deriva principalmente de la síntesis del músculo esquelético^{19,20,21,22,23}.

Debido a que la glutamina participa en la síntesis de aminoácidos, ácidos nucleídos, glucógeno y

otras moléculas biológicamente importantes en el metabolismo celular^{20,21,24,25,26}, se ha considerado como posible estimulante para el anabolismo proteico, adjudicándole beneficios potenciales sobre el tejido muscular en diversas condiciones medicas^{17,18,25,27,28,29}.

Estudios en ratas con lesión muscular inducida por ejercicio, han observado elevación de las fuerzas contráctiles así como crecimiento muscular posterior a la suplementario con glutamina. Posiblemente esto se debe al incremento de miofilamentos disponibles para crear una contracción muscular³⁰. Asimismo, el incremento de los niveles de glutamina intramuscular ha sido directamente ligada con el volumen celular³¹, el cual incrementa la síntesis proteica e incrementa el tamaño muscular dando como posible resultado el aumento de masa y fuerza muscular³².

Otra hipótesis sobre el beneficio del uso de glutamina es, que debido a la respuesta inflamatoria de las fibras musculares, se incrementa el consumo de glutamina por algunas células del sistema inmunológico, lo cual repercute en la síntesis proteica y por ende en la recuperación muscular, por lo que suministrar este aminoácido revierte este hecho. Sin embargo, el mecanismo aun no es del todo claro³².

De manera similar, estudios en humanos han reportado diversos resultados del efecto de la suplementación oral con glutamina sobre la fuerza muscular, está evaluada principalmente a través de isocinesia o con 1 Repetición Máxima (1-RM), durante esquemas de ejercicio de fuerza y/o resistencia, dada su validez^{37,38,39}. Debido a la inconsistencia de la información disponible, el objetivo de la revisión sistemática (RS) es evaluar la solidez de la evidencia disponible del efecto de la suplementario oral con Gln sobre la fuerza muscular junto con esquemas de ejercicio de fuerza y/o resistencia en adultos con déficit de fuerza muscular.

Métodos

La RS se realizó bajo los lineamientos del Manual Cochrane de revisiones sistemáticas de intervenciones versión 5.1.0 33 y adicionalmente se conto con el apoyo de otros recursos bibliograficos^{34,35,36}.

Criterios de selección

Tipos de estudios: Ensayos Clínicos Aleatorizados (ECA) que combinaran la ingestión de glutamina aunada a esquemas de ejercicio de fuerza y/o resistencia, cuyo resultado primario fuera cambio en la fuerza muscular. Solo se incluyeron estudios realizados en instituciones de salud o educativas que presentaran mediciones basales y de seguimiento de los participantes.

Participantes: Hombres y mujeres de 18 a 55 años de edad, con déficit de fuerza muscular inducida por lesiones musculares o ejercicio. No se incorporaron pacientes con distrofia muscular, miopatías metabólicas, diabetes mellitus, obesidad, enfermedades cardiovasculares, virus de inmunodeficiencia humana, enfermedades renales, hepáticas o con uso de glucocorticoides.

Intervención: Se incluyo cualquier tratamiento con complementación oral de glutamina de al menos 0.25 gr/kg de peso/día. No se especifico previamente un mínimo de duración de la intervención y esta se categorizo en dos tipos:

- 1) Complementación oral con glutamina combinada con programa de entrenamiento de fuerza /o resistencia;
- 2) Complementación oral con glutamina combinada con otros nutrimentos aunado a programas de entrenamiento de fuerza y/o resistencia;

Se tomó en cuenta aquellos programas de ejercicio de fuerza y/o resistencia supervisado por personal capacitado. No se categorizaron en intervenciones de corto o largo plazo debido a la falta de evidencia.

Medición de resultados

Resultados primarios

Cambios en la fuerza muscular medidos mediante pruebas de isocinesia o determinación de 1-RM.

Resultados secundarios

- 1) Cambios en el porcentaje de masa muscular (%MM), masa libre de grasa (%MLG) y magra (%MMg), Masa Grasa (MG) e índice de masa corporal (IMC).
- 2) Cambios en marcadores de daño muscular en sangre y concentraciones séricas de glutamina.
- 3) Efectos adversos de la complementación oral de glutamina.

Estrategia de búsqueda para identificación de los estudios

Se realizó búsqueda electrónica de la literatura en Abril de 2014, en bases de datos como: Cochrane, PubMed, Medline, OVID, Scopus, Science Direct, JAMA, DgBiblio UNAM y Springer. Para identificar estudios relevantes se empleo el acrónimo *P.I.C.O.T* [*P* (Patients), *I* (Intervention), *C* (Comparison group), *O* (Outcome) y *T* (Time)]. Se emplearon términos MeSh (del inglés Medical Subject Headings) para la biblioteca PubMed y palabras clave (Apéndice A) para las otras bases de datos. Para la identificación de otros artículos

relevantes, se realizó búsqueda manual en las listas de bibliografía reportada en los estudios incluidos en esta revisión. Estudios descriptivos, revisiones narrativas, de disertación, resúmenes de congresos, páginas web, publicaciones duplicadas y estudios que no se encontraran en extenso, fueron excluidos.

Recolección y extracción de datos

Selección de los estudios

Todos los estudios seleccionados incluyeron complementación oral con glutamina de manera aislada o combinada con otros nutrientes, con al menos un grupo comparativo (placebo), sin complementación, sin modificación del consumo de proteínas en la dieta y sin ninguna otra co-intervención nutricional. Asimismo, los protocolos de ejercicio debían ser únicamente de fuerza y/o resistencia, supervisado por personal capacitado. Se excluyeron estudios si la intervención era suministrada para el tratamiento de miopatías, si se comparaba con otro complemento nutricional conocido para mejorar la fuerza muscular (Hidroxi-metil-butirato, creatina, etc.) y si los resultados primarios eran medidos por otras técnicas a las predeterminadas. Se contactó con el autor correspondiente de los artículos cuando se requirió información faltante sobre alguno de los apartados.

Extracción de datos

La información obtenida de las búsquedas, así como la información relevante de los estudios seleccionados, fue resguardada de manera independiente por dos revisores (HVSE y MSL) en una base de datos predeterminada y estandarizada. Para adecuar la obtención de

datos, previamente se realizaron pruebas piloto con dicha base.

Evaluación de la concordancia de los revisores

Todos los títulos fueron evaluados de manera independiente por dos investigadores (HVSE y MSL) para su selección. Se obtuvo el texto completo de todos los resúmenes potencialmente relevantes para su revisión y cada estudio fue sometido a tamizaje de acuerdo a los criterios de inclusión/exclusión (Tabla I). Cuando existió discrepancia entre los dos revisores respecto a la inclusión de un estudio, esta se resolvió mediante consenso y cuando no fue posible, se solicitó la evaluación de un tercer revisor. La concordancia fue evaluada mediante el estadístico *Kappa* (*K*), cuyo valor fue de 0.821 $p = \leq 0.001$.

Evaluación de riesgo de sesgo en los estudios incluidos

Se evaluó los riesgos de sesgos de manera independiente por los revisores (HVSE y MSL)³³, sobre los siguientes aspectos: Generación de la secuencia de asignación, método empleado para ocultar la secuencia a la asignación, cegamiento y evaluación de los datos de resultados. Debido a la falta de datos, no fue posible realizar meta-análisis.

Resultados

Se identificaron 661 estudios, cuyos títulos y resúmenes fueron tamizados por los revisores. De los 661 estudios seleccionados 622 fueron excluidos, de los 39 restantes 10 se eliminaron por repetición y 29 se revisaron en extenso, de estos 23 no cumplieron con los criterios

Tabla I
Criterios de inclusión y exclusión para la RS

	Inclusión	Exclusión
<i>Participantes</i>	Adultos de 18 a 55 años de edad. Con déficit de fuerza muscular evaluada mediante isocinética o 1-RM.	Enfermedades como DM, ECV, VIH, enfermedad renal o hepática.
<i>Intervención</i>	Complementación oral con glutamina aunado a Programa de rehabilitación con esquemas de fuerza o resistencia. Presencia de grupo control (placebo). Ambos grupos recibieran idéntica intervención.	Administración de glutamina vía parenteral. Uso de glutamina como segunda terapia para el mismo desenlace.
<i>Tipos de estudio</i>	Ensayos Clínicos Controlados con placebo o sin programa de entrenamiento. Año de publicación: 1980-2014. En idioma inglés y español.	Estudios observacionales, narrativos, de disertación, resúmenes de congresos, páginas web y estudios que no se encontraran en extenso.
<i>Resultados</i>	Ganancia de fuerza muscular evaluada mediante dinamómetro o 1-RM.	Evaluación de fuerza muscular por otros métodos.
<i>Tiempo</i>	Intervención menor a 1 año.	

de inclusión, solo 6 artículos cumplieron con dichos criterios (Figura 1). La búsqueda de la literatura se realizó para estudios reportados entre los años 1980 a 2014, en idiomas ingles y español. Adicionalmente 5 estudios se identificaron en las listas de referencia de otros artículos relevantes, sin embargo ninguno cumplió con los criterios de inclusión.

Características de los estudios

Ver: tabla II. Descripción de los estudios incluidos.

Estudios incluidos

Los 6 ensayos clínicos que cumplieron con los criterios de inclusión fueron realizados en un solo centro, entre los años 2001 y 2013; en países como Australia (Street 2011), Canadá (Darren 2001), Estados Unidos (Antonio 2002, Kerksick 2006 y Lowery 2013) y Reino Unido (Willems 2012). De los 6 ensayos, 3 evaluaron el efecto de la suplementación oral con glutamina aunada a un programa de ejercicio (Street B 2011; Antonio J 2002;

Darren GC 2001) y en 3 ensayos fue estudiado el uso de glutamina combinada con otros nutrientes aunados a programas de ejercicio (Lowery 2013; Willems 2012; Kerksick 2006). Al contactar a los autores de todos los estudios se obtuvo respuesta únicamente de 3 de ellos, dos de estos evaluaron el uso de glutamina de manera aislada y uno evaluó la glutamina combinada con otros aminoácidos (Willems M 2012).

Participantes de los estudios seleccionados

En los 3 ensayos en los que se evaluó el uso de glutamina comparada con placebo, se incluyó un total de 52 pacientes (73% hombres y 27% mujeres). Solo uno de los estudios incluyó mujeres (Darren, 2001) y dos únicamente hombres (Antonio, 2002 y Street 2011). 31 Pacientes recibieron glutamina y 21 placebo. La edad promedio de los participantes fue 22.28 ± 0.91 años e Índice de Masa Corporal (IMC) ≤ 30 kg/m².

Los ECA que evaluaron el uso de glutamina combinada con otros nutrientes comparados con placebo, incluyeron 76 pacientes, con promedio de edad de 24 ± 4.6 años de edad e IMC de 25.38 ± 3.51 Kg/m² únicamente

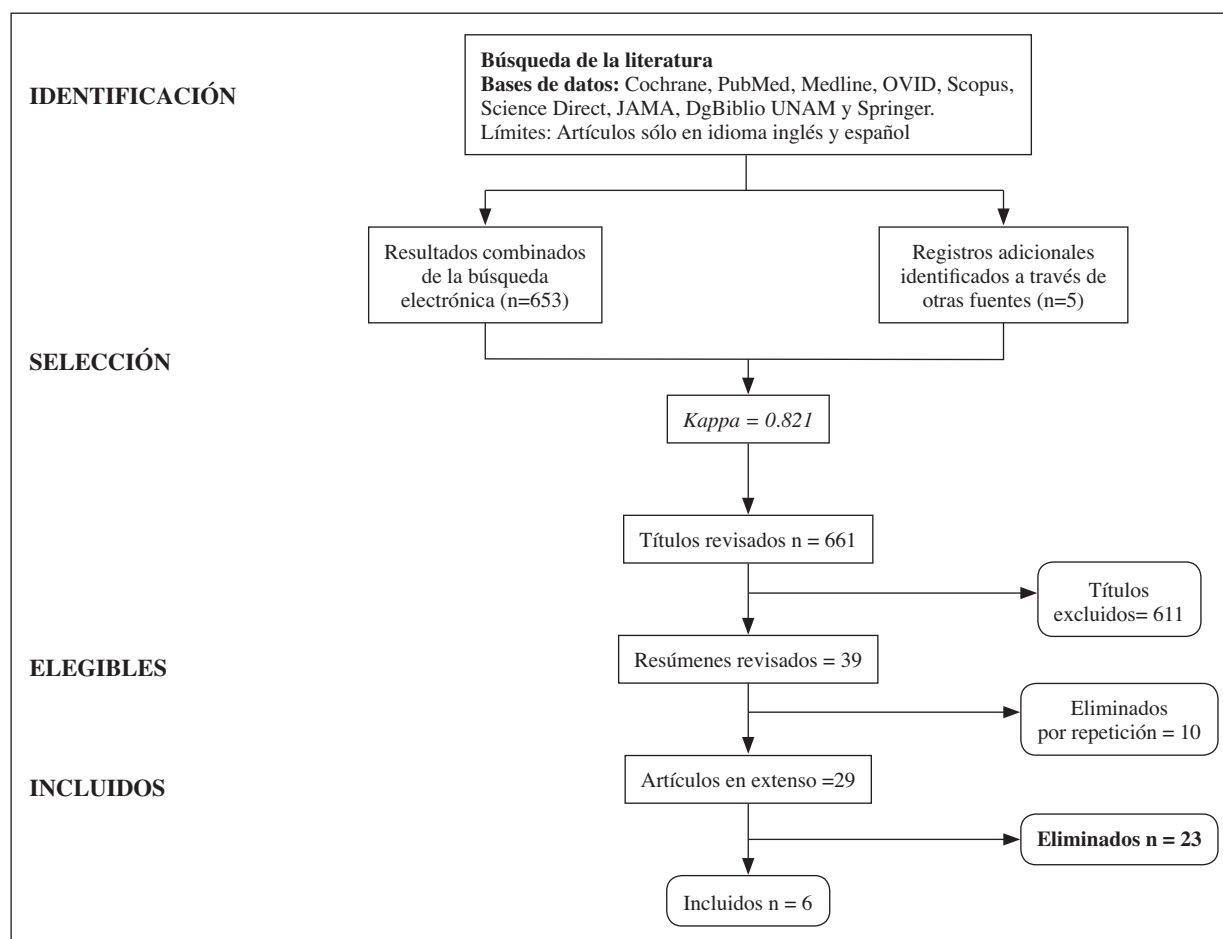


Fig. 1.—Diagrama de flujo de las etapas de la RS.

Tabla II
Característica de los estudios incluidos en la RS

<i>Estudio</i>	<i>Participantes</i>	<i>Intervención</i>	<i>Resultados</i>	<i>Duración del seguimiento</i>												
<i>Street, 2011</i>	15 hombres	Glutamina vía oral = 0.3 gr/kg de peso. Placebo: Maltodextrina (posterior al ejercicio). Ejercicio: Fuerza.	Pico de torque después de la intervención a las 96 horas. <table border="0"> <tr> <td><i>Gpo.</i></td> <td><i>Control</i></td> <td><i>Grupo Exp</i></td> <td><i>p</i></td> </tr> <tr> <td>0.52 rad·s⁻¹</td> <td>75 ±16%</td> <td>85±15%</td> <td>(p=0.03)</td> </tr> <tr> <td>3.14 rad·s⁻¹</td> <td>79 ±16%</td> <td>90 ±12%</td> <td>(p=0.01)</td> </tr> </table> Mejoría en la percepción de dolor en los pacientes.	<i>Gpo.</i>	<i>Control</i>	<i>Grupo Exp</i>	<i>p</i>	0.52 rad·s ⁻¹	75 ±16%	85±15%	(p=0.03)	3.14 rad·s ⁻¹	79 ±16%	90 ±12%	(p=0.01)	5 días
<i>Gpo.</i>	<i>Control</i>	<i>Grupo Exp</i>	<i>p</i>													
0.52 rad·s ⁻¹	75 ±16%	85±15%	(p=0.03)													
3.14 rad·s ⁻¹	79 ±16%	90 ±12%	(p=0.01)													
<i>Antonio 2002</i>	6 hombres	Glutamina oral: 0.3 gr/ kg peso. Glicina: 0.3 gr/ kg peso. Placebo: Jugo de fruta. Ejercicio: Fuerza.	No hubo diferencia estadísticamente significativa entre los grupos. No reporta datos numéricos de sus resultados.	3 semanas												
<i>Darren 2001</i>	n=31 17 hombres 14 mujeres	Glutamina oral: 0.9 gr/kg masa magra versus. Placebo: Maltodextrina. Ejercicio: Resistencia.	Pico de torque incrementó 6% con glutamina y 5% con placebo. No hubo cambios estadísticamente significativos en indicadores de fuerza muscular entre los grupos (p= <0.05)	6 semanas												
<i>Williems 2012</i>	21 hombres	Suplementación oral multi ingredientes: 30 gr de proteína de leche; Monohidrato de creatina: 5.1; Glutamina: 5.1 g; HMB: 1.5 g. Placebo: Maltodextrina. Ejercicio: Resistencia.	Hubo cambios estadísticamente significativos entre grupos en 1-RM en pierna. <table border="0"> <tr> <td><i>Medición:</i></td> <td><i>Basal</i></td> <td><i>Final</i></td> </tr> <tr> <td>Placebo</td> <td>343+/-66 kg</td> <td>368+/-16%</td> </tr> <tr> <td>Experimental</td> <td>314+/-55kg</td> <td>359+/-12%</td> </tr> </table> (p=0.07, d=1.41)	<i>Medición:</i>	<i>Basal</i>	<i>Final</i>	Placebo	343+/-66 kg	368+/-16%	Experimental	314+/-55kg	359+/-12%	12 semanas			
<i>Medición:</i>	<i>Basal</i>	<i>Final</i>														
Placebo	343+/-66 kg	368+/-16%														
Experimental	314+/-55kg	359+/-12%														
<i>Kerksick 2006</i>	36 hombres	Grupo placebo: 40 gr/día de carbohidratos. Grupo 1: 40 gr/día de proteína de suero de leche+8 gr/día de caseinato. Grupo 2: 40 gr/día de proteína de suero de leche+3 gr/día aminoácidos de cadena ramificada+5 gr/día glutamina. Ejercicio: Resistencia	No reporta incremento significativo en 1-RM en grupo 1 y 2 (p=<0.05).	10 semanas												
<i>Lowery 2013</i>	20 hombres	Grupo experimental: aminoácidos de cadena ramificada, monohidrato de creatina, beta-alanina, coenzimas, complejo B, alanina y glutamina. No refiere cantidades contenidas de cada ingrediente. Placebo: Jugo de fruta. Ejercicio: Resistencia.	Reporta incremento de fuerza en press de pecho 18.4% en grupo experimenta vs 9.6% en placebo, y tendencia a la ganancia de fuerza de pierna (grupo-por tiempo, p=<0.08) .	8 semanas												

varones, de los cuales 36 recibieron glutamina combinada con aminoácidos o hidratos de carbono, 29 recibieron placebo y 11 otros aminoácidos. Todos los pacientes incluidos en los estudios fueron aparentemente sanos.

Intervención

Características de la suplementación con glutamina

Los periodos de suplementación fueron entre 5 días (Street 2011) hasta 6 semanas (Darren 2001), en los 3 estudios que se evaluó glutamina comparada con placebo.

Mientras que en los 3 estudios restantes, los periodos fueron entre 3 y 10 semanas (Lowery 2013 y Kerksick 2006 respectivamente). Las dosis de glutamina variaron desde 0.3 a 0.9 gr/kg de peso/día, en el primer bloque de estudios; el segundo bloque, de 0.25 a 5 gr/kg de peso/día. Todos los estudios incluyeron programas de ejercicio de fuerza y/o resistencia.

Características de los esquemas de ejercicio

Se emplearon programas de ejercicio de fuerza en todos los estudios que evaluaron glutamina de manera ais-

lada. La duración de dichos programas fue desde 4 días (Street 2011) hasta 6 semanas (Darren, 2001). Mientras que los estudios en los que se evaluó el uso de glutamina combinada con otros nutrientes, emplearon esquemas de ejercicio de fuerza-resistencia. No se muestran los protocolos de entrenamiento en la mayoría de los estudios.

Métodos de medición de fuerza

Algunos estudios emplearon isocinesia y 1 RM de manera simultánea (Darren 2001, Willems 2012), otros emplearon únicamente 1-RM (Antonio 2002, Kerksick 2006 y Lowery 2013) o isocinesia (Street 2011) como método de medición de fuerza muscular.

Cambios en indicadores de fuerza muscular

Uno de los estudios que evaluaron solo glutamina empleo como método de medición de fuerza la isocinesia (Street 2011), la cual mostro cambios a favor del grupo experimental a 0.52 rad s-1. Otro estudio empleo 1- RM (Antonio 2002), sin embargo a pesar una variable principal no se reportan cambios cuantitativos. Finalmente otro estudio emplea ambos métodos de medición (Darren 2001), mismas que no mostraron cambios estadísticamente significativos entre los grupos.

De los estudios que evaluaron la combinación de glutamina con otros nutrientes, uno de ellos empleo 1-RM e isocinesia (Williems 2012), ambos cambiaron a favor del grupo experimental. Los dos estudios restantes emplearon únicamente 1-RM, sin embargo en uno de estos no encuentra cambios estadísticamente significativos entre grupos (Kerksick 2006), y el otro estudio encuentra cambios a favor del grupo experimental (Lowery 2013).

Cambios en %MM, %MLG, %MMg, MG e IMC

Un estudio evaluó cambios en el %MMg (Darren 2001), sin observar cambios entre grupos. Otro estudio

evaluó el %MG (Antonio 2002), sin embargo a pesar de ser una variable pre especificadas no se reportaron resultados al respecto. Referente a los estudios que evaluaron glutamina combinada con otros nutrientes, dos midieron cambios en el %MM (Williems 2012 y Lowery 2013), sin embargo en el primero no se reportan datos finales al respecto y el segundo refiere cambios estadísticamente significativos a favor del grupo experimental. Un estudio evaluó cambios en el %MLG y %MMg (Kerksick 2006), ambas mediciones no mostraron cambios entre los grupos.

Cambios en marcadores de daño muscular en sangre y concentraciones séricas de glutamina

De los estudios que evaluaron el uso de glutamina de manera aislada, solo dos evaluaron algún bio-marcador como creatina kinasa (CK) plasmática y 3- metilhistidina (Street 2011 y Darren 2001) los cuales no mostraron cambios estadísticamente significativos. De los estudios que evaluaron el uso de glutamina combinado con otros nutrientes ninguno midió algún bio-marcador de esta índole.

Efectos adversos

Ninguno de los estudios incluidos evaluó de manera directa los resultados de la complementación con glutamina sobre la salud humana. No obstante, los 6 estudios incluidos en la presente revisión no refirieron efectos adversos de la intervención durante la suplementación.

Riesgo de sesgos en los estudios incluidos.
Ver evaluación del riesgo de sesgo (Tabla III)

Estudios excluidos

Un ensayo que parecía potencialmente elegible, fue excluido después de una evaluación exhaustiva del informe completo (Mahdi 2013) (Tabla IV).

Tabla III
Evaluación de riesgo de sesgos de estudios incluidos en la RS

Estudio	Aleatorización	Cegamiento de investigador	Cegamiento de participantes	Cegamiento de evaluadores	Cegamiento de recolectes de datos	Reporte completo de resultados
Street, 2011	Si	No	Si	Riesgo no claro	Riesgo no claro	Si
Antonio 2002	No	Si	Si	Riesgo no claro	Riesgo no claro	No
Darren 2001	Si	Si	Si	Riesgo no claro	Riesgo no claro	No
Williems 2012	Si	Si	Si	Riesgo no claro	Riesgo no claro	Si
Kerksick 2006	Si	Si	Si	Riesgo no claro	Riesgo no claro	Si
Lowery 2013	Si	Si	Si	Riesgo no claro	Riesgo no claro	No

Tabla IV
Estudios excluidos de la RS

<i>Estudio</i>	<i>Razón de la exclusión</i>
<i>Mahdi</i>	2013 Evalúa potencia muscular
<i>Ohtani</i>	2006 No es ECA
<i>Castel</i>	1997 No evalúa fuerza muscular
<i>Pearson</i>	1999 No es ECA
<i>Rahmani</i>	2013 No evalúa fuerza muscular como resultado principal
<i>Williams</i>	2001 No evalúa el efecto de la glutamina sobre fuerza muscular
<i>Eichner</i>	2013 No es ECA
<i>Blanchard</i>	2001 No evalúa fuerza muscular
<i>Wischmeyer</i>	2007 Artículo de revisión, enfocado en pacientes críticamente enfermos
<i>Parise</i>	2000 No es ECA, estudio de revisión anecdótica y disertación
<i>Canul</i>	2009 No es ECA, no evalúa fuerza muscular
<i>Favano</i>	2008 No evalúa fuerza mediante 1-RM o isocinesia como principal resultado
<i>Melis</i>	2004 No es ECA, revisión de algunos artículos de glutamina en pacientes críticamente enfermos
<i>Cribb</i>	2006 Evalúa niveles de glutamina en sangre
<i>Coster</i>	2004 No es ECA
<i>Smith</i>	2000 No evalúa fuerza muscular
<i>Coeffier</i>	2010 No es ECA, evalúa morbi-mortalidad en pacientes críticamente enfermos
<i>Abbasalipour</i>	2012 No evalúa fuerza muscular mediante 1-RM o isocinesia
<i>Mero</i>	2009 No evalúa fuerza muscular mediante 1-RM o isocinesia
<i>Thistlethwaite</i>	2009 Resumen presentado en congreso
<i>Buchman</i>	2001 Artículo de revisión sobre suplementación enteral y parenteral de glutamina

Discusión

A pesar de la amplia búsqueda electrónica, únicamente fue posible identificar 6 artículos relevantes que cumplieron con los criterios de inclusión. De los 3 estudios en los que se evaluó la eficacia del uso de glutamina de manera aislada sobre ganancia de fuerza muscular, solo uno de ellos sugirió un efecto modesto, aunque podría ser clínicamente importante. Mientras que los 3 estudios en los que se evaluó la combinación de glutamina con otros nutrimentos, algunos reportaron resultados a favor de la intervención, sin embargo, debido a dicha combinación es difícil establecer la efectividad de la glutamina.

Son varios los factores que podrían tomarse en cuenta sobre los resultados reportados en los estudios incluidos, por ejemplo: Tamaños de muestra pequeños, la diferencia en el tiempo de seguimiento entre los ensayos podría ser decisiva para apreciar el efecto de la intervención sobre los resultados, ya que estos dependen de la duración de la complementación. Asimismo, la disimilitud en el método de medición de la fuerza muscular podría influir en los resultados debido a que las pruebas cuantitativas

como la isocinesia parecen ser más sensibles para detectar cambios moderados en la fuerza comparados con pruebas manuales como la determinación de una Repetición Máxima (1-RM).

Otro aspecto importante a considerar son los esquemas de ejercicio ya que se ha especulado sobre algunas diferencias de los beneficios clínicos del entrenamiento de resistencia y de fuerza. Otra variable que podría tener impacto en los resultados es la dieta de los participantes, misma que no fue considerada en la mayoría de los estudios.

Respecto a los bio-marcadores, a pesar de ser importantes en la evaluación de la salud, no son exclusivos de una sola alteración y pueden ser interpretados de diferentes maneras. No todos los estudios incluidos en esta revisión realizaron medición de bio-marcadores.

Cabe mencionar, que de manera adicional a lo estipulado en el manual de Cochrane, se realizó una evaluación sistemática de la calidad metodológica de los estudios incluidos basados en los criterios del Consolidated Standards of Reporting Trials (CONSORT)³¹ y a pesar de establecer un límite relativamente bajo respecto a la calidad, un muy escaso

Apéndice A

Palabras clave para la búsqueda de estudios para la RS

Base de datos	Términos empleados en la búsqueda
<i>Pubmed (MEDLINE)</i>	MeSH: "Glutamine and muscle strength", "Glutamine and muscle strength NOT Diabetes NOT EVC NOT VIH", "L-glutamine" "glutamine and strength training", "glutamine and resistance training", "glutamine and resistance or strength training", "L-Glutamine and knee muscle strength", "Oral glutamine supplementation and exercise or performance", and knee muscle strength", "L- Glutamine and muscle strength gain"
<i>Cochrane</i>	Glutamine and review, systematic review of glutamine and muscle strength, Glutamine and strength or resistance training and knee muscle strength.
<i>OVID</i>	Oral glutamine supplementation and exercise or performance, glutamine AND gain muscle strength, muscle mass AND L-glutamine, L-Glutamine [L-Gln] OR glutamine and endurance or strength training and knee muscle strength NOT diabetes
<i>Embase (ELSEVIER)</i>	"glutamine and endurance or strength training, glutamine and endurance or strength training NOT diabetes, glutamine and endurance or strength training NOT cancer NOT ECV", L-Glutamine [L-Gln] and knee muscle strength"
<i>Science Direct</i>	"L-glutamine", "Glutamina and resistance exercise", "Glutamine and resistance or endurance training", "resistance or endurance training and glutamine", "glutamine and strength exercise", "glutamine and gain muscle strength
<i>Scopus</i>	"L- glutamine [L-Gln] or glutamine and endurance or strength training", " glutamine and endurance or strength training NOT diabetes", " glutamine and endurance or strength training NOT cancer NOT ECV", " L-Glutamine [L-Gln] and knee muscle strength"
<i>JAMA</i>	"L- glutamine [L-Gln] or glutamine", "Glutamine and endurance or strength training", " Oral glutamine supplementation and exercise or performance", "L-Glutamine [L-Gln] and knee muscle strength"
<i>Dgbiblio UNAM</i>	"L- glutamine [L-Gln] or glutamine and endurance or strength training", " glutamine and endurance or strength training NOT diabetes", " glutamine and endurance or strength training NOT cancer NOT ECV", " L-Glutamine [L-Gln] and knee muscle strength"
<i>Springer</i>	Oral glutamine supplementation and exercise or performance, glutamine AND gain muscle strength, muscle mass AND L-glutamine, L-Glutamine [L-Gln] OR glutamine and endurance or strength training and knee muscle strength NOT diabetes

número de estudios se calificaron como de calidad satisfactoria. Ninguno de los ensayos reportó el cálculo del poder empleado para determinar el tamaño de la muestra, ni el método de aleatorización. El pobre reporte de información en algunos artículos hizo imposible aclarar y explicar algunos aspectos metodológicos.

Si bien la presente revisión se realizó bajo esquemas con rigor metodológico, tiene algunas limitaciones, ya que a pesar de tratar de ser exhaustivos en la búsqueda, podría no haberse identificado la evidencia total disponible, ya que el limitar el idioma a inglés y español así como la literatura gris, restringe la posibilidad de identificar otros estudios, lo que a su vez podría introducir sesgos en nuestros hallazgos.

Esta revisión sistemática de la literatura se realizó para determinar la fuerza de la evidencia sobre la eficacia de la complementación oral con glutamina sobre indicadores de fuerza muscular en adultos con déficit de esta, sin embargo los datos actualmente disponibles no son suficientes para determinar su eficacia sobre resultados clínicamente importantes en la ganancia de fuerza muscular. Por lo que un hallazgo importante de esta revisión es la alta deficien-

cia de pruebas que sustenten este tema, no solo en cantidad sino en calidad metodológica.

Con ello podemos concluir que existe la necesidad de evaluar la eficacia y los efectos secundarios del uso de glutamina en déficit de fuerza muscular a través de estudios con adecuada calidad metodológica y con tamaños de muestra suficiente para permitir el análisis de subgrupos por sexo, edad, esquema de ejercicio (fuerza y resistencia) y método de medición de fuerza, con lo cual se podría mejorar la toma de decisiones en la práctica clínica. Asimismo, otro aspecto importante que debe evaluarse es el costo-beneficio del uso de la glutamina, ya esta se prescribe o auto-prescribe a pesar del costo monetario elevado.

Agradecimientos

A todos los autores que contribuyeron con los datos de sus ensayos clínicos, al Dr. Gilberto Franco Sánchez por su apoyo, al personal de la Biblioteca Central de la Universidad Nacional Autónoma de México así como del Centro de Información del Instituto Nacional de Rehabilitación

Referencias

1. Shih-Fen Hsiao, Pei-Hsi Chou, Horng-Chaung Hsu, Yi-Jing Lue. Changes of Muscle Mechanics Associated with Anterior Cruciate Ligament Deficiency and Reconstruction. *J Strength Cond Res*. 2014 Feb;28(2):390-400.
2. Delfino GB, Peviani SM, Durigan JLQ, Russo TL, Baptista IL, Ferretti M, Moriscot AS, Salvini TF: Quadriceps muscle atrophy after anterior cruciate ligament transection involves increased mRNA levels of atrogen-1, muscle ring finger 1, and myostatin. *Am J Phys Med Rehabil* 2012; 91.
3. Williams GN, Barrance PJ, Snyder-Mackler, Buchanan TS. Altered Quadriceps Control in People with Anterior Cruciate Ligament Deficiency. *Med. Sci. Sports Exerc* 2004. 36; 7: 1089-1097.
4. Pierre COL P, Complications of anterior cruciate ligament surgery. *Sports Med Arthrosc Rev* 2004; 12: 185-195.
5. Hopkins JT, Ingersoll CD. Arthrogenic muscle inhibition: a limiting factor in joint rehabilitation. *J. Sport Rehab* 2000; 9: 135-59
6. Andrew RD. Et.al. Quadriceps Arthrogenic Muscle Inhibition: Neural Mechanisms and Treatment Perspectives. *Semin Arthritis Rheum* 2010; 40(3):250-66.
7. May Arna Risberg, Michael Lewekb, Lynn Snyder-Mackler. A systematic review of evidence for anterior cruciate ligament rehabilitation: how much and what type? *Physical Therapy in Sport* 2004; 5: 125-145.
8. Roewer B. et.al. Quadriceps strength and weight acceptance strategies continue to improve two years after anterior cruciate ligament reconstruction. *J Biomech* 2011; 44(10):1948-1953.
9. Meuffels DE, Poldervaart MT, Diercks RL, Fievez A, Patt TW, et. Al. Guideline on anterior cruciate ligament injury. A multidisciplinary review by Dutch Orthopaedic Association. *Acta Orthopaedica* 2012; 83 (4):379-386.
10. Tsepis E, Vagenas G, Ristanis S and Georgoulis AD. Thigh muscle weakness in ACL-deficient knees persist without structured rehabilitation. *Clin Orthopaedics and Related Research* 2006; 450: 211-218.
11. Nader G. Concurrent Strength and endurance training: From molecules to man. *Med Sci Sports Exerc* 2006 Nov; 38(11):1965-70.
12. Edson C. Postoperative Rehabilitation of the Multiligament-Reconstructed Knee. *Sports Medicine and Arthroscopy Review* 2001; 9: 247-254.
13. Cermak NM, Res PT, CPMG de Groot L, Saris WHM, Van Loon L. Protein supplementation augments the adaptive response of skeletal muscle to resistance-type exercise training: a metaanalysis. *Am J Clin Nutr* 2012; 96: 1454-64.
14. Pasiakos SM, McLellan TM, Lieberman HR. The Effects of Protein Supplements on Muscle Mass, Strength, and Aerobic and Anaerobic Power in Healthy Adults: A Systematic Review. *Sports Med* 2014; 29.
15. Mason BC, Lavalley ME. Emerging supplements in sports. *Sports Health* 2012; 4:142Y6.
16. Eichner ER. Glutamine supplementation: overstaying its welcome. *Curr Sport Med Rep* 2013; 12(4):2011-2.
17. Coster J, McCaule R, Hall J. Glutamine: metabolism and application in nutrition support. Review Article. *Asia Pacific J Clin Nutr* 2004;13 (1):25-31.
18. Neu J., DeMarco V., Li N. Glutamine: clinical applications and mechanisms of action. *Curr Opin in Clin Nutr Metab Care* 2002; 5:69-75.
19. Rutten E, Engelen M, Schols A and Deutz N. Skeletal muscle glutamate metabolism in health and disease: state of the art. *Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 2005, 8:41-51.
20. Hyeyoung Kim Glutamine as an immunonutrient. *Review Article Yonsei Med J* 2011; 52(6):892-897.
21. Agostini F, Biolo Gianni. Effect of physical activity on glutamine metabolism. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2010; 13:58-64.
22. Gerdien C., Wengel NT., Boelens P., Van Leeuwen PAM. Glutamine: recent developments in research on the clinical significance of glutamine. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2004; 7:59-70.
23. Wernerman J. Clinical Use of Glutamine Supplementation. *J Nutr* 2008; 138: 2040s-2044s.
24. Philips GC. Glutamine: The Nonessential Amino Acid for performance enhancement. *Current Sports Medicina Reports* 2007; 6:265-268.
25. Rudolf Oehler, Roth E. Regulative capacity of glutamine. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2003; 6:277-282.
26. Bowtell JL, Bruce M. Glutamine: An anaplerotic precursor. *Nutrition* 2002; 18 (3)222-4.
27. Glesson M. Dosing and efficacy of glutamine supplementation in human exercise and sport training. *J Nutr* 2008; 138: 2045S-2049S.
28. Piattoly T, Parish TR and Welsch MA. L-Glutamine Supplementation: effects on endurance, power and recovery. Current topics in nutraceutical research. 2013;11 (12): 55-62.
29. Toderò A. Review of the literature: The benefits of L-Glutamine supplementation in athletes. *J. Aust Strength Cond* 2014; 22(1): 69-77.
30. Mok E, Constantin B, Faveau F, Neveux N, Magaud Ch, Delwail A, and Hankard R. L-Glutamine Administration Reduces Oxidized Glutathione and MAP Kinase Signaling in Dystrophic Muscle of mdx Mice. *J Pediatric Res* 2008; 63: 268-273.
31. Dos Santos R, Caperuto E, T de Mello M, Bastia ML, Rosa L. Effect of exercise on glutamine synthesis and transport in skeletal muscle from rats. *Clinical and experimental pharmacology and physiology*. 2009;36: 770-775.
32. Waddell D Fredricks K. Effects of a Glutamine Supplement on the Skeletal Muscle Contractile Force of Mice. *Am J Undergraduate Res* 2005; 4:11-8.
33. Higgins JPT, Altman DG, Sterne JAC (editors). Chapter 8: Assessing risk of bias in included studies. In: Higgins JPT, Green S (editors). *Cochrane Handbook for systematic Reviews of Interventions*. Version 5.1.0 (updated March 2011). The Cochrane Collaboration, 2011. Available from www.cochrane-handbook.org.
34. Sharif MO, Janjua-Sharif FN, Ali H, Ahmed F. Systematic Reviews Explained: AMSTAR—How to Tell the Good From the Bad and the Ugly. *Oral Health Dent Manag* 2013; 12(1):9-16.
35. R. Brian Haynes. Conducting Systematic Reviews. En: David L. Sackett, Gordon H. Guyatt, and Peter Tugwell. *Clinical epidemiology: how to do clinical practice research*. Third edition. Lippincott Williams & Wilkins; 2003. 15-48.
36. Mark Crowther, Wendy Lim and Mark A. Crowther. Systematic review and meta-analysis methodology. *J Blood* 2010 116: 3140-3146
37. Rothstein JM, Lamb RL, Mayhew T. Clinical uses of isokinetic measurements: critical issues. *Phys Ther* 1987; 67: 1840-1844.
38. Lienhard K, Lauermann SP, Schneider D, Item-Glatthorn JF, Casartelli NC. Validity and reliability of isometric, isokinetic and isoinertial modalities for the assessment of quadriceps muscle strength in patients with total knee arthroplasty. *Journal of electromyography and kinesiology* 2013; 23: 1283-288.
39. Abdul-Hameed U, Rangra P, Shareed Y, Hussain E. Reliability of 1-Repetition maximum estimation for upper and lower body muscular strength measurement in untrained middle aged type 2 diabetic patients. *Asian Journal of Sport Medicine* 2012; 3(4): 267-273.
40. Cobos-Carbo A y Augustovski F. CONSORT 2010 Declaration: Updated guideline for reporting parallel group randomised trials. *Med Clin (Barc)* 2011;137(5):213-215.

Referencias de los estudios incluidos en la RS

41. Street B, Byrne Cr, Eston R. Glutamine supplementation in recovery from eccentric exercise attenuates strength loss and muscle soreness. *Exerc Sci Fit* 2011; 9(2): 116-122.
42. Antonio J, Michael S, Kalman D, Woodgate D, Street Ch. The effects of high-dose glutamine ingestion on weightlifting performance. *J Strength Cond. Res* 2002; 16(1):157-160.

43. Darren G. et. al. Effect of different frequencies of creatine supplementation on muscle size and strength in young adults. *Journal of Strength and Conditioning Research* 2011; 25(7): 1831-1838.
44. Willems M, W Sallis Chr, A Haskell J. Effects of multi-ingredient supplementation on resistance training in young males. *J of Human Kinetics* 2012; 33: 91-101.
45. Kerksick CH, Rasmussen CH, Lancaster LS, Magu B, et.al. The effects of protein and amino acid supplementation on performance and training adaptations during ten weeks of resistance. *Journal of Strength and Conditioning Research* 2006; 20(3): 643-653.
46. Lowery RP, Joy MJ, Dudeck JE, et.al. Effects of 8 weeks of Xpand® 2X pre workout supplementation on skeletal muscle hypertrophy, lean body mass, and strength in resistance trained males. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* 2013; 10:44.
47. Wischmeyer PE. Glutamine: Mode of action in critical illness. *Crit Care Med* 2007; 35(9): S541-544
48. Parise G and Yarasheski K. The utility of resistance exercise training and amino acid supplementation for reversing age-associated decrements in muscle protein mass and function. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2000; 3:489-495.
49. Canul Medina G, Coop Gamas O, Guevara Guarfias, et.al. Glutamina en nutrición clínica. Artículo de revisión. *Endocrinología y Nutrición* 2009; 17(4): 161-169.
50. Favano A, Santos-Silva PR, Nakano EY, Pedrinelli A, Hernandez AJ, Greve JMD. Peptide glutamine supplementation for tolerance of intermittent exercise in soccer players. *Clinics* 2008;63(1);27-32.
51. Melis GC, Wengel N, Boelens P and Leeuwen PAM. Glutamine: recent developments in research on the clinical significance of glutamine. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 2004, 7:59-70.
52. Cribb PJ, Williams AD, Carey MF and Hayes A. The Effect of Whey Isolate and Resistance Training on Strength, Body Composition, and Plasma Glutamine. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism* 2006; 16, 494-509.
53. Coster J, McCaule R, Hall J. Glutamine: metabolism and application in nutrition support. Review Article. *Asia Pacific J Clin Nutr* 2004;13 (1):25-31.
54. Smith, D. J., and S. R. Norris. Changes in glutamine and glutamate concentrations for tracking training tolerance. *Med. Sci. Sports Exerc* 2000;32 (3): 684-689.
55. Coëffier M and De´chelotte P. Combined infusion of glutamine and arginine: does it make sense? *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* 2010, 13:70-74.
56. Abbasalipour M, Parsay S, Melkumyan K and Minasyan S. Effects of creatine and glutamine supplements in comparison with proper nutrition on performance factors of wrestlers. *Advances in Environmental Biology* 2012; 6(10): 2726-2730.
57. Mero A, Leikas A, Knuutinen J, Hulmi J, and Kovanen V. Effect of strength training session on plasma amino acid concentration following oral ingestion of leucine, BCAAs or glutamine in men. *Eur J Appl Physiol* 2009; 105:215-223.
58. Thistlethwaite, John R; Swanson, Scott C, Scheuermann, Barry W. The Effects Of Glutamine On Muscle Strength And Body Composition. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 2009; 41(5): 350 Suppl.
59. Buchman AL. Glutamine: commercially essential or conditionally essential? A critical appraisal of the human data. *Am J Clin Nutr* 2001;74:25-32.

Referencias de los estudios excluidos de la RS

47. Mahdi K-H, Babak N-R. Effect of Glutamine and Maltodextrin Acute Supplementation on Anaerobic Power. *Asian Journal of Sports Medicine* 2013; 4(2): 131-136.
48. Ohtani M, Sugita M, Maruyama K. Amino acid mixture improves training efficiency in athletes. *J Nutr* 2006; 136(2): 538s-543s.
49. Castel LM, Nwesholme E. The effect of oral glutamine supplementation on athletes after prolonged, exhaustive exercise. *Nutrition* 1997;13:738-742.
50. Pearson DR, McGovern. The ABCs of Glutamine, BCAAs, and HMB. *National Strength & Conditioning Association* 1999; 21 (4): 66.
51. Rahmani Nia F, Farzaneh E, Damirchi A, Shamsi Majlan A. Effect of L-Glutamine Supplementation on Electromyographic Activity of the Quadriceps Muscle Injured By Eccentric Exercise. *Iran J Basic Med Sci* 2013; 16: 808-812.
52. Williams AG, Oord M, Sharma A and Jones DA. Is glucose/ amino acid supplementation after exercise an aid to strength training? *Br J Sports Med* 2001;35:109-113.
53. Eichner ER. Glutamine Supplementation: Overstaying Its Welcome. *Current Sports Medicine Reports* 2013;12(4):211-212.
54. Blanchard M, Jordan G, Desbrow B, Mackinnon LT, Jenkins D. The influence of diet and exercise on muscle and plasma glutamine concentrations. *Med Sci Sport Exerc* 2001; 33(1):69-74.



Boletín Médico del Hospital Infantil de México

www.elsevier.es/bmhim



CASO CLÍNICO

Obstrucción de la vía aérea por higroma quístico en un recién nacido



Gregory Torres-Palomino^a, Gabriela Juárez-Domínguez^a,
Manuel Guerrero-Hernández^b y Lucía Méndez-Sánchez^{c,*}

^a Médico Pediatra-Neonatólogo, Centro Médico ABC-Santa Fe, México D.F., México

^b Radiólogo Pediatra, Centro Médico ABC-Santa Fe, México D.F., México

^c Maestra en Ciencias de la Salud, Campo Epidemiología Clínica, Área de Investigación Epidemiología Clínica, Hospital Infantil de México Federico Gómez, México D.F., México

Recibido el 2 de abril de 2014; aceptado el 29 de julio de 2014

Disponible en Internet el 22 de septiembre de 2014

PALABRAS CLAVE

Higroma quístico;
Linfangioma quístico;
Malformaciones
linfáticas

Resumen

Introducción: El higroma quístico es una dilatación difusa de los conductos linfáticos. Puede diagnosticarse prenatalmente a través de una ecografía obstétrica. La incidencia aproximada es de 1/6,000 nacidos vivos y de 1/750 abortos espontáneos. Esta lesión puede presentarse a nivel cervical en la parte inferolateral del cuello, donde aparece con grandes cavidades únicas o multiloculares. En general, se producen por la falta de conexión de los vasos linfáticos con los sacos linfáticos yugulares, o de estos con el sistema de drenaje venoso.

Caso clínico: Con el fin de enfatizar sobre la notificación de estas enfermedades y las opciones de tratamiento no quirúrgico, se presenta una paciente con higroma quístico cervical (cara lateral del cuello) con compromiso de la vía aérea y digestiva por la extensión del tumor. Se trató con etanol puro por medio de múltiples infiltraciones guiadas por ultrasonido.

Conclusiones: Dependiendo de las características de la lesión, el tratamiento puede ser quirúrgico, farmacológico o mixto. Cuando la extensión es importante o se relaciona con órganos vitales, la mejor opción de tratamiento es, en primer lugar, reducir el tamaño de la lesión y el compromiso de los órganos contiguos. Esto se hace por medio de escleroterapia. Posteriormente, de ser necesario, se realiza cirugía.

© 2014 Hospital Infantil de México Federico Gómez. Publicado por Masson Doyma México S.A. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: luciamendezs@gmail.com (L. Méndez-Sánchez).

KEYWORDS

Cystic hygroma;
Cystic lymphangioma;
Lymphatic
malformations

Airway obstruction due to cystic hygroma in a newborn**Abstract**

Background: Cystic hygroma is a diffuse dilatation of the lymphatic system, which can be prenatally diagnosed by ultrasound. The incidence is 1/6,000 live births and 1/750 spontaneous abortions. This malformation can occur at the cervical level located in the inferior lateral part of the neck where it appears with large single or multilocular cavities. It is generally caused by a lack of connection with jugular lymphatic channels or with the venous drainage system lymph sacs.

Case report: In order to emphasize these diseases and non-surgical treatment options, we present a patient with a cervical cystic hygroma that compromises the airway and digestive tract due to tumor extension and treatment with pure ethanol with clinical improvement.

Conclusions: Depending on the characteristics of the lesion, treatment options are surgery, pharmacological or mixed. When the extension involves vital organs, the best option is to reduce the size of the lesion and the compromise of the adjacent organ. This is done by sclerotherapy and, if necessary, surgery.

© 2014 Hospital Infantil de México Federico Gómez. Published by Masson Doyma México S.A. All rights reserved.

1. Introducción

El higroma quístico (HQ) fetal¹ es una malformación congénita benigna del sistema linfático que tiene su génesis en la falta de desarrollo de la comunicación entre los sistemas linfático y venoso. El quiste puede ser uni o multilocular y de tamaño variable. Se detecta HQ en aproximadamente 1 de cada 120 ultrasonidos obstétricos, con una incidencia en nacidos vivos de 1/6,000². Esta patología se asocia con ciertas anomalías cromosómicas, como la monosomía del X, la trisomía 21, entre otras; también se relaciona con algunos síndromes monogénicos, principalmente el síndrome de Noonan, y con otros síndromes no genéticos, como el alcoholismo fetal y la aminopterina fetal. El tratamiento, actualmente, se determina según el sitio de la lesión, si es de flujo linfático bajo o alto, el tamaño y los órganos comprometidos. Las alternativas terapéuticas incluyen el manejo del parto con la técnica EXIT (*ex utero intrapartum treatment*) para comprobar y asegurar una vía aérea permeable al minuto de nacer, el uso de láser, drenaje, cirugía, aspiración y escleroterapia³⁻⁵.

Hoy en día se opta por evitar la resección quirúrgica de primera instancia, dadas las características de la malformación y el compromiso de estructuras como la lengua, la faringe, el plexo cervical, el nervio frénico, el nervio vago, la vena yugular y la arteria carótida, entre otras. La primera opción es un tratamiento mixto para disminuir el tamaño de la lesión y tener un abordaje menos cruento y peligroso. Para este fin se requiere explícitamente del uso de agentes esclerosantes, como corticoides, OK-432, bleomicina, tetradecil sulfato de sodio, doxiciclina y etanol puro, e incluso combinaciones entre ellos⁶. La función del etanol y los agentes esclerosantes es aumentar la permeabilidad del endotelio, permitiendo el drenaje acelerado del contenido, lo que producirá la contracción de los espacios quísticos⁷. Sin embargo, en algunos casos, su empleo requiere de protocolos de manejo hospitalario especializados⁵; en muchos otros,

su efectividad únicamente ha sido comprobada en reportes de casos⁸⁻¹⁰.

Presentamos nuestra experiencia en el tratamiento del HQ mediante el uso de etanol puro intralesional como una opción de manejo en estos pacientes.

2. Caso clínico

Paciente del sexo femenino, madre de 32 años de edad, G 1, sin antecedentes de importancia de clínica, con seguimiento prenatal desde el primer mes de embarazo. Se documentó la presencia de masa cervical por ultrasonografía fetal a las 28 semanas de gestación; a las 32 semanas de gestación se desencadenó el trabajo de parto, el cual no fue posible inhibir por lo que se programó cesárea.

Nació con asimetría de cuello a expensas de aparente hemihipertrofia lateral derecha, con extensión hacia la orofaringe, que obstruía tanto la vía aérea como la digestiva. Se realizó radiografía de cuello y tórax, que mostraron disminución del calibre de la vía aérea y desplazamiento de los órganos a ese nivel. Se inició manejo con ventilación mecánica.

Se realizó ultrasonido de cuello, que mostró una masa de características quísticas, con múltiples cámaras interconectadas y de diámetros variables (*fig. 1*).

Además del tumor en cuello, se documentó la presencia de otra induración a nivel de la cara ventral del brazo derecho, de aproximadamente 2 cm de diámetro y de coloración violácea, la cual se diagnosticó como hemangioma.

Los estudios de laboratorio, biometría hemática, química sanguínea, gasometría y cariotipo resultaron normales.

La tomografía axial computarizada (TAC) a nivel de la cara lateral del cuello mostraba asimetría en el volumen con predominio izquierdo, a expensas de una imagen hipodensa, con atenuación aparentemente líquida, mal delimitada, que desplazaba los vasos en sentido medial y posterior, en posición anterior al músculo

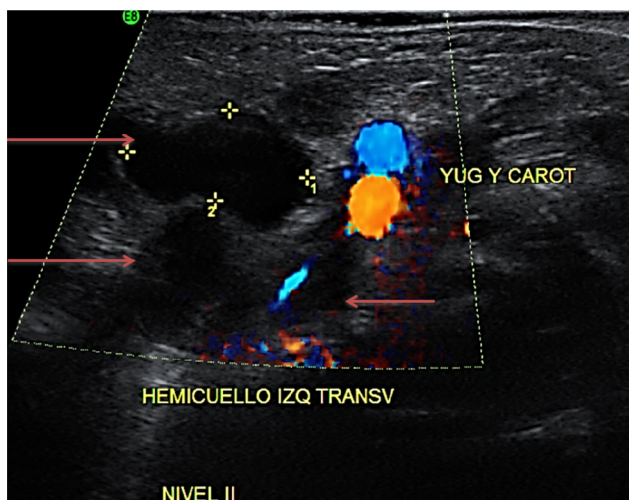


Figura 1 Ultrasonido en cara lateral de cuello. Se observa la lesión quística multilobulada. Las flechas señalan varios de los lóbulos del quiste.

esternocleidomastoideo. En dicha imagen se observó involucrada la grasa del espacio parafaríngeo que desplazaba la vía aérea hacia la derecha, comprimiéndola y condicionando la disminución del calibre, en más del 50% (fig. 2).

También se realizó una resonancia magnética nuclear (RMN), donde se identificó la presencia de una masa multilobulada y heterogénea, multiquistica, de contenido



Figura 2 Tomografía axial computarizada de cráneo y cuello. Se observa incremento del volumen del cuello con predominio izquierdo (flechas), anterior al músculo esternocleidomastoideo, con imágenes lineales hiperdensas en el interior, aparentemente de tipo vascular. No se identifica un reforzamiento tras la administración de medio de contraste.



Figura 3 Resonancia magnética nuclear de cuello. Se observa una masa multilobulada y heterogénea, multiquistica (flecha). Produce efecto de masa sobre los espacios vasculares del lado izquierdo, desplazando la vía aérea a la derecha de la línea media.

isointenso al músculo en T1, hiperintenso en T2, con componente paratídeo en el hemicuello izquierdo, ocupando los espacios parafaríngeo y prevertebral en ese lado, al espacio submandibular, sublingual y parafaríngeo en el lado derecho (fig. 3). Con contacto y desplazamiento de las estructuras vasculares del lado izquierdo en sentido posterior, rodeando parcialmente la carótida interna, producía efecto de masa sobre la vía aérea, la cual se encontraba comprimida y desplazada a la derecha de la línea media.

Por los hallazgos clínicos y radiológicos se solicitó interconsulta con Cirugía Pediátrica, quienes consideraron que no era candidata a la resección por la localización, extensión y compromiso de los órganos adyacentes. Ante el hecho de no ser candidata a cirugía, se buscó la opción menos invasiva. Con base en la experiencia del radiólogo pediatra en el manejo de este tipo de lesiones quísticas, se propuso la administración de etanol puro (100%) en infiltraciones de 0.5 a 1 ml en ocho sesiones, una cada dos semanas, con un procedimiento guiado por ultrasonido (fig. 4). Después de ocho sesiones, por medio de RMN se documentó la disminución del volumen del HQ y, como resultado, el incremento del espacio orofaríngeo y la liberación de una mayor área digestiva y respiratoria, que permitió una respiración autónoma y la alimentación por vía oral en la paciente.

En la RMN, después de la infiltración de etanol puro se observó una disminución moderada del volumen de la lesión vascular que ocupaba los espacios vascular, de los masticadores, parafaríngeo, prevertebral, submandibular y sublingual en el lado izquierdo. También, el incremento del

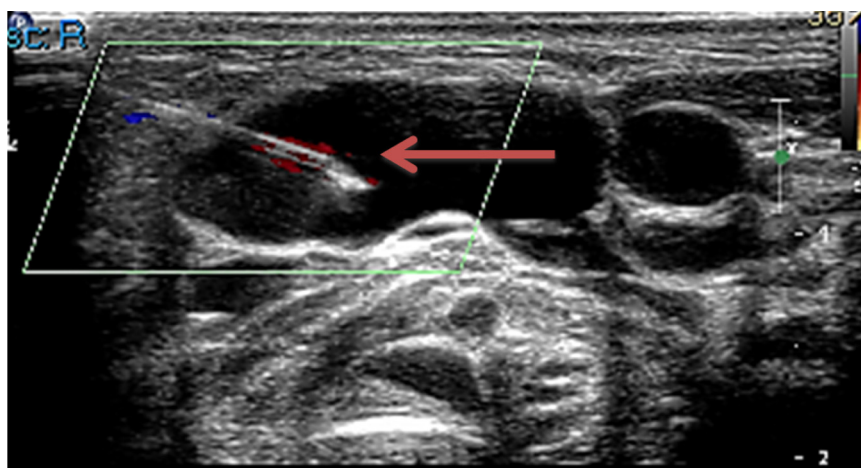


Figura 4 Inserción de la aguja a través de un lóbulo del quiste (flecha).

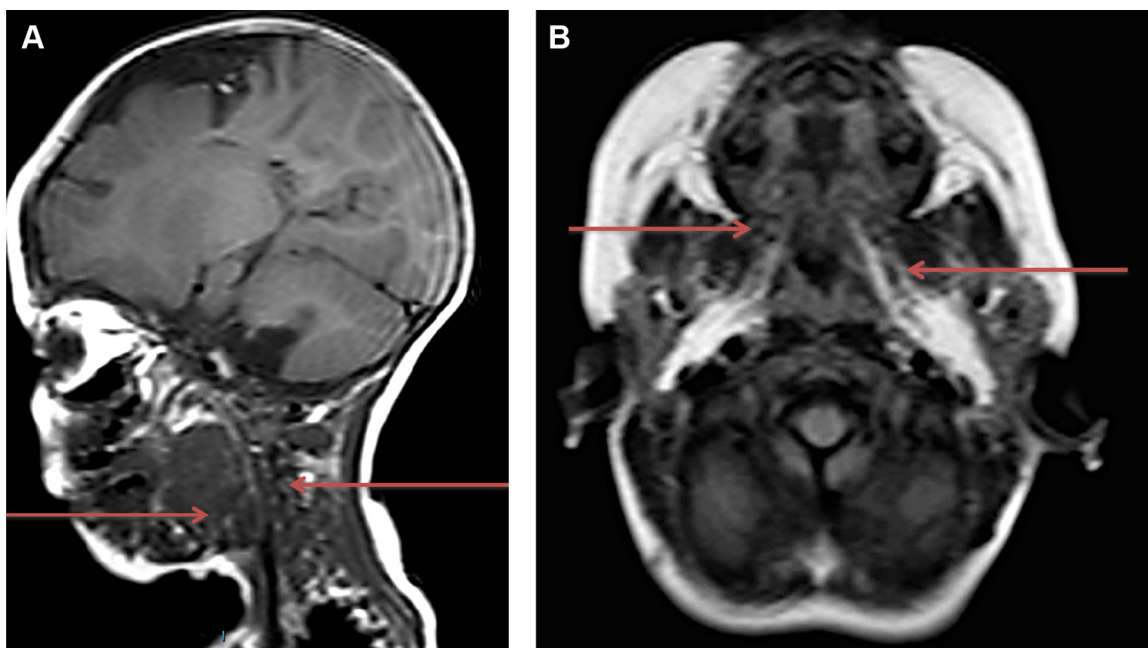


Figura 5 Resonancia magnética nuclear de cuello y macizo facial (A) y cráneo (B). Se observa la disminución moderada del volumen de la lesión vascular que ocupa los espacios vascular, de los masticadores, parafaríngeo, prevertebral, submandibular y sublingual en el lado izquierdo cuando se compara con estudio previo (flechas), principalmente a expensas de las porciones quísticas.

diámetro de la vía aérea y la ausencia de desplazamiento de la misma (fig. 5A,B).

Actualmente la paciente se encuentra en manejo clínico por patologías agregadas propias de la prematuridad y en espera de un tratamiento quirúrgico definitivo.

3. Discusión

El tratamiento del HQ depende directamente del tamaño, de la localización, de los órganos involucrados y de las condiciones en que se encuentre el paciente. Actualmente, existe publicada una serie de reportes de casos que avalan el tratamiento con alguno de los distintos esclerosantes; por ejemplo, para el uso de OK-432, Vicente y colaboradores

publicaron una revisión de la literatura en la que avalan su eficacia y mínimos efectos adversos¹¹. Sin embargo, no se compara su uso con otros tratamientos. Otras publicaciones relevantes son las de Cuervo y colaboradores⁸ y Lobo-Bailón y colaboradores¹², que denotan su eficacia en higromas uni y macroquísticos, aunque suelen ser necesarias varias sesiones de tratamiento, y a veces complementarlas con cirugía, para obtener un resultado satisfactorio.

En cuanto al etanol, Burrows y Mason¹³ reportaron su uso en porcentajes del 95-98% como terapia esclerosante de carácter agresivo, ya que precipita de forma súbita las proteínas endoteliales en la lesión. Esto sin superarse la dosis de 1 ml/kg o 60 ml, y con potenciales reacciones secundarias, como necrosis tisular, embolismo pulmonar o depresión del sistema nervioso central. En 2010, Impellizzeri

y colaboradores reportaron resultados de completa desaparición de la lesión en 7/8 pacientes (87.5%). Uno de los pacientes con resultados satisfactorios requirió una segunda inyección de etanol, resolviéndose la lesión al 100% sin reacciones alérgicas o complicaciones. Con esto concluyeron que la escleroterapia con etanol guiada con TAC resulta una buena alternativa de la terapia quirúrgica, además de que este procedimiento es mínimamente invasivo, seguro, de bajo costo y fiable¹⁴.

Como hemos observado, se han emitido recomendaciones del uso de etanol puro para este tipo de padecimientos. Con la finalidad de enfatizar sobre el reporte de estas patologías y el desarrollo de evidencia con relevancia clínica, en este trabajo se presentó un caso de tratamiento con etanol puro para estas lesiones sin complicaciones inmediatas, exceptuando dolor local mínimo, teniendo como beneficio la liberación en un porcentaje clínicamente significativo de la vía aérea y digestiva, con lo que la paciente pudo ser autónoma. Sin embargo, debemos enfatizar que la evidencia presentada no es suficiente aún para recomendar el uso de alcohol en todos los pacientes. Por ello, es indispensable el desarrollo de estudios que avalen la efectividad atribuida a dicha terapia.

El HQ, aunque se describe como una patología benigna, puede tener complicaciones que comprometen la vida del paciente. Por tanto, sigue siendo relevante que se evalúe individualmente si la cirugía es la opción más viable o el tratamiento a largo plazo con escleroterapias¹⁵. El diagnóstico temprano y el manejo oportuno de individuos con HQ pueden disminuir los riesgos de complicaciones de estos pacientes, pero el tratamiento aún sigue dependiente de la experiencia del profesional de la salud^{16,17}, ya sea empírica, reportada en series de casos o de forma aislada en reportes de caso.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Referencias

- O'Neill Jr JA, Rowe MI, Grosfeld JL, Fonkalsrud EW, Coran AG. *Pediatric Surgery*. Michigan: Mosby; 1998. p. 1939–52.
- Brunori EA, Caratozzolo G, Martínez M, Dinerstein NA. Higroma quístico, a propósito de un caso. *Rev Hosp Mat Inf Ramón Sardá*. 1996;15:92–4.
- Bustos VJC, González CV, Olguín CF, Bustamante TR, Hernández LA, Razeto WL, et al. EXIT (*ex-utero intrapartum therapy*) en linfangioma cervical fetal. *Rev Chil Obstet Ginecol*. 2013;78:55–9.
- Giquère CM, Bauman NM, Smith RJ. New treatment options for lymphangioma in infants and children. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2002;111:1066–75.
- Redondo P. Malformaciones vasculares (II). Diagnóstico, histopatología y tratamiento. *Actas Dermosifiliogr*. 2007;98:219–35.
- Cahill AM, Nijs E, Ballah D, Rabinowitz D, Thompson L, Rintoul N, et al. Percutaneous sclerotherapy in neonatal and infant head and neck lymphatic malformations: A single center experience. *J Pediatr Surg*. 2011;46:2083–95.
- Pantoja M, Mazzi E. Higroma quístico cervical (linfangioma). *Rev Soc Bol Ped*. 1999;38:8–9.
- Cuervo JL, Galli E, Eisele G, Johannes E, Fainboim A, Tonini S, et al. Malformaciones linfáticas: tratamiento percutáneo con bleomicina. *Arch Argent Pediatr*. 2011;109:417–22.
- Hill 3rd RH, Shiels 2nd WE, Foster JA, Czyz CN, Stacey A, Everman KR, et al. Percutaneous drainage and ablation as first line therapy for macrocystic and microcystic orbital lymphatic malformations. *Ophthal Plast Reconstr Surg*. 2012;28:119–25.
- Dhrif AS, el Euch D, Daghfous M, Cherif F, Mokni M, Dhahri AB. Macrocystic lymphatic lymphangioma (cystic lymphangioma) of the upper extremity: A case report. *Arch Pediatr*. 2008;15:1416–9.
- Vicente IC, Huarte LR, Rodríguez-Cacheco T, Alfonso de Pablo V, Picasa IE, Idoipe TA. Escleroterapia de malformaciones linfáticas con OK-432. Descripción de un caso y revisión de la literatura. *IV Congreso SAFH*. 2007;3:10–5.
- Lobo-Bailón F, Berenguer-Fröhner B, González-Meli B, Marín-Molina C, de Tomás Palacios E, Alonso-Bañuelos C. Bleomycin sclerotherapy for low-flow vascular malformations: our experience and literature review. *Cir Plast Iberolatinoam*. 2012;38:341–7.
- Burrows PE, Mason KP. Percutaneous treatment of low flow vascular malformations. *J Vasc Interv Radiol*. 2004;15:431–45.
- Impellizzeri P, Romeo C, Borruto FA, Granata F, Scalfaria G, de Ponte FS, et al. Sclerotherapy for cervical cystic lymphatic malformations in children. Our experience with computed tomography-guided 98% sterile ethanol insertion and a review of the literature. *J Pediatr Surg*. 2010;45:2473–8.
- Acosta-Viana S. Anomalías vasculares. *Rev Ped Elec* [en línea]. 2013;10:32–41.
- Puig S, Casati B, Staudenherz A, Paya K. Vascular low-flow malformations in children: Current concepts for classification, diagnosis and therapy. *Eur J Radiol*. 2005;53:35–45.
- Muir T, Kirstein M, Fourie P, Dippenaar N, Ionescu GO. Intralesional bleomycin injection (IBI) treatment for haemangiomas and congenital vascular malformations. *Pediatr Surg Int*. 2004;19:766–73.

Anexo XIV: Referencias bibliográficas.

Estudios incluidos

Andersen R2008. Andersen R, Molgaard C, Skovgaard LT, Brot C, Cashman KD, Jakobsen J, Lamberg-Allasdt C, Ovesen L.. Effect of vitamin D supplementation on bone and vitamin D status among Pakistani immigrants in Denmark: a randomised double-blinded placebo-controlled intervention study. *Br J Nutr* 2008;100:197–207. [DOI: 10.1017/S000711450789430X]

Barger-Lux 2005^a. Barger-Lux MJ, Davies KM, Heaney RP. Calcium supplementation does not augment bone gain in young women consuming diets moderately low in calcium. *Journal of Nutrition* 2005;135(10):2362-6.

Islam 2010^a. Islam MZ, Shamim AA, Viljakainen HT, Akhtaruzzaman M, Jehan AH, Khan HU, et al. Effect of vitamin D, calcium and multiple micronutrient supplementation on vitamin D and bone status in Bangladeshi premenopausal garment factory workers with hypovitaminosis D: a double-blinded, randomised, placebo-controlled 1-year intervention. *British Journal of Nutrition* 2010;104(2):241-7.

Rourke 1998. Rourke K, Bowering J, Turkki P, Buckenmeyer P, Keller B, Sforzo G. Effect of calcium supplementation on bone mineral density in female athletes. *Nutrition Research* 1998;18(5):775-83.

Shapses SA 2001, et al. Bone turnover and density in obese premenopausal women during moderate weight loss and calcium supplementation. *Journal of Bone & Mineral Research* 2001;16(7):1329-36. [Other: ; Other: Journal of Bone and Mineral Research]

Winters-Stone 2004^a. Winters-Stone KM, Snow CM. One year of oral calcium supplementation maintains cortical bone density in young adult female distance runners. *International Journal of Sport Nutrition & Exercise Metabolism* 2004;14(1):7-17.

Woo 2007. [Empty]

Referencias Adicionales

Bischoff-Ferrari 2009. Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Staehelin HB, Orav JE, Stuck AE, Theiler R, et al. Fall prevention with supplemental and active forms of vitamin D: a meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ* 2009;339:1-11. [DOI: 10.1136/bmj.b3692]

Borgström 2013. Borgström F, Lekander I, Ivergård M, Ström O, Svedbom A, Alekna V. The International Costs and Utilities Related to Osteoporotic Fractures Study (ICUROS)--quality of life during the first 4 months after fracture. *Osteoporosis International* 2013;24(3):811-23.

Cates 2008. Visual Rx [Computer program]. Cates C. Version 3. www.nntonline.net, 2008.

Deeks 2011. Deeks JJ, Higgins JPT, Altman DG. Chapter 9: Analysing data and undertaking meta-analyses. In: Higgins JP, Green S, editor(s). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* Version 5.1.0 (updated March 2011). The Cochrane Collaboration, 2011. Available from handbook.cochrane.org.

Dunfield 2007. Dunfield L, Mierzwinski-Urban M, Hodgson A, Banks R. Diagnostic performance and cost effectiveness of technologies to measure bone mineral density in postmenopausal women. [Technology report number 94] Ottawa: Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health 2007.

Felsenberg 2005. Felsenberg D, Boonen S. The bone quality framework: determinants of bone strength and their interrelationships, and implications for osteoporosis management. *Clinical Therapeutics* 2005;27(1):1-11.

Ghogomu 2014. Ghogomu EA, Maxwell LJ, Buchbinder R, Rader T, Pardo Pardo J, Johnston RV, et al. Updated method guidelines for Cochrane musculoskeletal group systematic reviews and meta-analyses. *Journal of Rheumatology* 2014 Feb;41(2):194-205.

GRADEpro GDT 2016. GRADEpro GDT [Computer program]. Version accessed 4 November 2016. Hamilton (ON): GRADE Working Group, McMaster University, 2014.

Gupta 2010. Gupta R, Sharma U, Gupta N, Kalaivani M, Singh U, Guleria R. Effect of cholecalciferol and calcium supplementation on muscle strength and energy metabolism in vitamin D deficient Asian Indians: a randomised, controlled trial. *Clinical Endocrinology* 2010;73(4):445-51.

Hansen 1991. Hansen MA, Overgaard K, Riis BJ, Christiansen C. Role of peak bone mass and bone loss in postmenopausal osteoporosis: 12-year study. *BMJ* 1991;303:961-4.

Higgins 2011. Higgins JPT, Altman DG, Sterne JAC. Chapter 8: Assessing risk of bias in included studies. In: Higgins JP, Green S, editor(s). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* Version 5.1.0 (updated March 2011). The Cochrane Collaboration, 2011. Available from handbook.cochrane.org.

Higgins 2011b. Higgins JPT, Deeks JJ, Altman DG. Chapter 16: Special topics in statistics. In: Higgins JP, Green S, editor(s). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* Version 5.1.0 (updated March 2011). The Cochrane Collaboration, 2011 Available from handbook.cochrane.org.

Hochberg 1999. Hochberg MC, Ross PD, Black D, Cummings SR, Genant HK, Nevitt MC, et al. Larger increases in bone mineral density during alendronate therapy are associated with a lower risk of new vertebral fractures in women with postmenopausal osteoporosis. *Fracture Intervention Trial Research Group. Arthritis and Rheumatism* Jun 1999;42(6):1246-54.

IOM 2011. Institute of Medicine. *Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D*. Washington (DC): National Academies Press, 2011. [Other: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK56070/>]

Johnell 2004. Johnell O, Kanis JA. An estimate of the worldwide prevalence, mortality and disability associated with hip fracture. *Osteoporosis International* 2004;15(11):897-902.

Kanis 2007. Kanis JA, on behalf of the World Health Organization Scientific Group (2007). Assessment of osteoporosis at primary health-care level. Technical Report. World Health Organization Collaborating Centre for Metabolic Bone Diseases, University of Sheffield, UK 2007;337.

Lewiecki 2016. Lewiecki EM, Binkley N, Morgan SL, Shuhart CR, Camargos BM, Carey JJ, et al. Best practices for dual-energy X-ray absorptiometry measurement and reporting: International Society for Clinical Densitometry Guidance. *Journal of Clinical Densitometry* 2016;19(2):127-40. [PubMed: 27020004]

Malihi 2016. Malihi Z, Wu Z, Stewart AW, Lawes CM, Scragg R. Hypercalcemia, hypercalciuria, and kidney stones in long-term studies of vitamin D supplementation: a systematic review and meta-analysis. *American Journal of Clinical Nutrition* 2016;104(4):1034-51.

Moyer 2013. Moyer VA, on behalf of the U.S. Preventive Services Task Force. Vitamin D and calcium supplementation to prevent fractures in adults: U.S. Preventive Services Task Force recommendation statement. *Annals of Internal Medicine* 2013 May;158(9):691-6.

Murad 2011. Murad MH, Elamin KB, Abu-Elnour NO, Elamin MB, Alkatib AA, Fatourehchi MM, et al. Clinical review: the effect of vitamin D on falls: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2011;96(10):2997-3006.

NIH 1993. National Institutes of Health. Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. *American Journal of Medicine* 1993;94:646-50.

Papaioannou 2010. Papaioannou A, Morin S, Cheung A, Atkinson S, Brown JP, Feldman S, et al. 2010 clinical practice guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis in Canada: summary. *Canadian Medical Association Journal* 2010;182(17):1829-30.

Plot Digitizer 2016. Plot Digitizer [Plot Digitizer] [Computer program]. Free Software Foundation. Version Accessed 14 November 2016. Not available: Free Software Foundation, Created: June 3, 2001; Modified: October 24, 2015. [Other: plotdigitizer.sourceforge.net]

Review Manager 2014. Review Manager (RevMan) [Computer program]. Version 5.3. Copenhagen: Nordic Cochrane Centre, The Cochrane Collaboration, 2014.

Rizzoli 2002. Rizzoli R. Two-year results of once-weekly administration of alendronate 70 mg for the treatment of postmenopausal osteoporosis. *Journal of Bone and Mineral Research* 2002;17(11):1988-96.

Schünemann 2011. Schünemann HJ, Oxman AD, Vist GE, Higgins JPT, Deeks JJ, Glasziou P, et al. Chapter 12: Presenting results and 'Summary of findings' tables. In: Higgins JP, Green S, editor(s). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* Version 5.1.0 (updated March 2011). The Cochrane Collaboration, 2011. Available from handbook.cochrane.org.

Shea 2005. Shea BJ, Adachi JD, Cranney A, Griffith L, Guyatt G, Hamel C, et al. Calcium supplementation on bone loss in postmenopausal women. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2005, Issue 4. Art. No.: CD004526. DOI: 10.1002/14651858.CD004526.pub2.

Sterne 2011. Sterne JAC, Egger M, Moher D. Chapter 10: Addressing reporting biases. In: Higgins JP, Green S, editor(s). *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0* (updated March 2011). The Cochrane Collaboration, 2011. Available from handbook.cochrane.org.

USPSTF 2016. United States Preventive Services Task Force. Final Research Plan for Vitamin D, Calcium, or Combined Supplementation for the Primary Prevention of Fractures in Adults: Preventive Medication. www.uspreventiveservicestaskforce.org/Page/Document/final-research-plan/vitamin-d-calcium-or-combined-supplementation-for-the-primary-prevention-of-fractures-in-adults-preventive-medication (accessed 18 April 2017).

Winzenberg 2006. Winzenberg TM, Shaw KA, Fryer J, Jones G. Calcium supplementation for improving bone mineral density in children. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2006, Issue 2. Art. No.: CD005119. DOI: 10.1002/14651858.CD005119.pub2.

Winzenberg 2008. Winzenberg T, Jones G. Chapter 16: Calcium and other nutrients during growth. In: Editors (Wiley-Blackwell, UK) 2013., editor(s). *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*. 8th edition edition. American Society for Bone and Mineral Research, 2008:82-86.

Winzenberg 2010. Winzenberg TM, Powell S, Shaw KA, Jones G. Vitamin D supplementation for improving bone mineral density in children. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2010, Issue 10. Art. No.: CD006944. DOI: 10.1002/14651858.CD006944.pub2.

Zhu 2010. Zhu K, Austin N, Devine A, Bruce D, Prince RL. A randomised controlled trial of the effects of vitamin D on muscle strength and mobility in older women with vitamin D insufficiency. *Journal of the American Geriatrics Society* 2010;58(11):2063-8.

REFERENCIAS TESIS

- ¹ Genant HK, Engelke K, Fuerst T, Glüer CC, Grampp S, Harris ST, Jergas M, Lang T, Lu Y, Majumdar S, Mathur A, Takada M, Non invasive assessment of bone mineral and structure: state of art. *J Bone Miner Res* 1996;11:707-30.
- ² Garnero P, Sornay-Rendu E, Duboeuf F, Delmas PD, Markers of bone turnover predict postmenopausal forearm bone loss over 4 years: the OFELY study. *J Bone Miner Res* 1999;14:1614-21.
- ³ Ryan S. Bone Mineralization in Preterm Infants. *Nutrition* 1998; 14: 745-7
- ⁴ Fetal and neonatal bone health: update on bone growth and manifestations in health and disease Stephen L. *BonePediater Radiol* (2012) 42 (Suppl 1):S158–S176
- ⁵ Stephen L. Fetal and neonatal bone health: update on bone growth and manifestations in health and disease. *BonePediater Radiol* (2012) 42 (Suppl 1):S158–S176
- ⁶ Stephen L. Fetal and neonatal bone health: update on bone growth and manifestations in health and disease. *BonePediater Radiol* (2012) 42 (Suppl 1):S158–S176
- ⁷ Poole K, Compston J. Osteoporosis and its management. *BMJ* 533 2006.
- ⁸ Garnero P, Sornay-Rendu E, Duboeuf F, Delmas PD, Markers of bone turnover predict postmenopausal forearm bone loss over 4 years: the OFELY study. *J Bone Miner Res* 1999;14:1614-21.
- ⁹ Valentina Bozzetti, Paolo Tagliabue. Metabolic Bone Disease in preterm newborn: an update on nutritional issues. *Italian Journal of Pediatrics* 2009, 35:20 doi:10.1186/1824-7288-35-20
- ¹⁰ Holick MF. Vitamin D and bone health. *J Nutr* 1996;126(suppl 4): 1159S-1164S.
- ¹¹ Ahmed SF, Franey C, McDevitt H, Somerville L, Butler S, Galloway P, Reynolds L, Shaikh MG, Wallace AM. Recent trends and clinical features of childhood vitamin D deficiency presenting to a Children’s hospital Glasgow. *Arch Dis Child*. 2011 96(7):694-6.
- ¹² Thomas MK., & Cols. Hypovitaminosis D in medical inpatients. *The New England Journal of medicine*. Volume 338. March 19, 1998. Number 12.
- ¹³ Parfitt AM y cols. *Am J Clin Nutr* 1982;36:1014–1031; Allain TJ, Dhesi J *Gerontology* 2003;49:273–278; LeBoff MS y cols. *JAMA* 1999;281:1505–1511; Bettica P y cols. *Osteoporos Int* 1999;9:226–229; Lips P y cols. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:1212–1221; van der Wielen RPJ y cols. *Lancet* 1995;346:207–210.
- ¹⁴ Davies JH, Evans BA J, Gregory JW. Bone mass acquisition in healthy children. *Arch Dis Child* 2005;90:373-378.
- ¹⁵ Poole KE, Compston JE. Osteoporosis and its management. *BMJ* 2006;16. 1251-1256
- ¹⁶ Pettinato AA, Loud KJ, Bristol SK, Feldman HA, Gordon CM. Effects of nutrition, puberty, and gender on bone ultrasound Measurements in adolescents and young adults. *J Adolesc Health* 2006;39:6:828-34.
- ¹⁷ Cummings SR, Kelsey JL, Nevitt MC, O’Dowd KJ. Epidemiology of osteoporosis and osteoporotic fractures. *Epidemiol Rev*. 1985;7:178-208.
- ¹⁸ Davies JH, Evans BAJ, Gregory JW. Bone mass acquisition in healthy children. *Arch Dis Child* 2005;90:373-378.
- ¹⁹ Rachner TD, Khosla S, Holfbaver LC. “Osteoporosis: now and the future. *Lancet* 2011; 377: 1276-87
- ²⁰ NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy. Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. *JAMA*. 2001;285:785-795.
- ²¹ Reginster JY, Burlet N. Osteoporosis: a still increasing prevalence. *Bone* 2006;38:S4-S9.
- ²² Clark P, Franco-Marina F, Ramírez E, Salmerón J, Kanis JA, Cummings SR. Incidence rates and life-time risk of hip fractures in Mexicans over 50 years of age: a population-based study. *Osteoporos Int*. 2005;16(12):2025-30.
- ²³ Clark P, Carlos F, Vázquez-Martínez JL. Epidemiología, costos y carga de la osteoporosis en México. *Rev Metab Óseo y Min* 2010;8(5):152-161
- ²⁴ Clark P, Carlos F, Barrera C, Guzmán J, et al. Direct costs of osteoporosis and hip fracture: an analysis for the Mexican healthcare system. *Osteoporos Int* 2008;19(3):269-276.
- ²⁵ Brown JP, Josse RG. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis in Canada. *CMAJ* 2002;167:S1-34

- ²⁶ Unnanuntana A, Gladnick BP, Donnelly E, Lane JM. The assessment of fracture risk. *J Bone joint Surg Am.* 2010 ;92:3:743-53.
- ²⁷ Kanis JA, Oden A, Johansson H, Borgström F, Ström O, McCloskey E. FRAX® and its applications to clinical practice. *Bone* 2009;44:734–743.
- ²⁸ McDevitt H, Tomlinson C, White MP, Ahmed SF. Changes in quantitative ultrasound in infants born at less than 32 weeks' gestation over the first 2 years of life: influence of clinical and biochemical. *Calcif Tissue Int.* 2007 Oct;81 (4):263-9.
- ²⁹ McDevitt H, Tomlinson C, White MP, Ahmed SF. Quantitative ultrasound assessment of bone in preterm and term neonates. *Arch Dis Fetal Neonatal Ed.* 2005;90:F341-F342.
- ³⁰ Rubinacci A, Moro GE, Noehm G. et al. Quantitative ultrasound for the assessment of osteopenia in preterm infants. *Eur J Endocrinol* 2003;149:307-15.
- ³¹ Hernández M, Sánchez E, Sobradillo B, Rincón JM. Maduración ósea y predicción de talla adulta. Atlas y métodos numéricos. Madrid: Ed. Díaz de Santos; 1991.
- ³² Tanner JM, Whitehouse RH, Marshall WA, Healy MJR, Goldstein H. Assessment of skeletal maturity and prediction of adult height (TW2 method) (2nd ed.). Londres: Academic Press; 1983.
- ³³ Hernández M, Sánchez E, Sobradillo B, Rincón JM, Narvaiza JL. A new method for assessment of skeletal maturity in the first 2 years of life. *Pediatr Radiol.* 1988;18:484-9.
- ³⁴ Ceñal GF Dilemas diagnosticos y terapeuticos en talla baja Rev. *Pediatr Aten Primaria* 2009;11 S16:s155-s172
- ³⁵ Lips P. Suboptimal vitamin D status: a risk factor for osteoporosis? In: Draper HH, ed. *Advances in Nutritional Research.* Vol 9. New York: Plenum Press; 1994:151–165; Pfeiffer M, Minne HW. *Trends Endocrinol Metab.*
- ³⁶ Chico-Barba L, Vivanco-Muñoz N, Avilés-Toxqui DP, Tamayo J, Rivas-Ruiz R, Buendía-Hernández A, and Clark P. Bone Quality and Nutritional Status in Children With Congenital Heart Defects. *Journal of Clinical Densitometry: Assessment of Skeletal Health*, vol. 15, no. 2, 205e210, 2012
- ³⁷ Tamayo J , Diaz R , Lazcano-Ponce E, Muñoz M, Huitrón G, Halley E, Díaz-Montiel JC, Mudgal J, Hernández-Ávila M, Salmerón J. Reference values for areal mineral density among a healthy Mexican population. *Salud Publica Mex*, 2009;51:56-83.
- ³⁸ Zebaze RM , Ghasem-Zadeh A, Bohte A, Iuliano-Burns S, Mirams M, Price RI, Mackie EJ, Seeman E . Intracortical remodelling and porosity in the distal radius and post-mortem femurs of women: a cross-sectional study. *Lancet* 2010;375:1729 – 1729.
- ³⁹ Adam JE. Quantitative computed tomography. *Eur J Radiol* 2009; 71:415-424.
- ⁴⁰ Stewart A, Reid DM. Quantitative ultrasound in osteoporosis. *Semin musculoskelet Radiol* 2002;6:229-232.
- ⁴¹ Njeh CF, Hans D, Wu C, Kantorovich E, Sister M, Fuerst T, Genant HK. An in vitro investigation of the dependence on sample thickness of the speed of sound along the specimen. *Med Eng Phys*, 1999;21: 651-659.
- ⁴² Marín F, Gonzalez Macias J, Diez-Perez A, Palma S, Delgado-Rodríguez M. Relationship between bone quantitative ultrasound and fractures: a meta-analysis. *J Bone Miner Res* 2006; 21:7:1126-1135.
- ⁴³ Hans D, Hartl, Krieg MA. Device-specific weighted T-score for two quantitative ultrasounds: operational propositions for the management of osteoporosis for 65 years and older women in Switzerland. *Osteopros Int.* 2003;14(3):251-8.
- ⁴⁴ Prins SH, Jørgensen HL, Jørgensen LV, Hassager C. The role of quantitative ultrasound in the assessment of bone: a review. *Clin Physiol* 1998;18:3-17.
- ⁴⁵ Catálogo del producto Sunlight Omnisense 7000p. Página web del proveedor Grupo Medica Sunlight (Septiembre 2012) : <http://www.beammed.com.mx/productos/omnisense-7000>
- ⁴⁶ Bases de referencia en página del proveedor Grupo Medica Sunlight (Septiembre 2012) :<http://www.beammed.com.mx/tecnologia/bases-de-datos-de-referencia>
- ⁴⁷ Rivas-Ruiz R, Clark P, Tamayo J, Talavera JO, Huitron G, Salmerón J. Reference Data and bone development assessed with the quantitative ultrasound in Mexican Population. 2012. En prensa.
- ⁴⁸ Knapp KM, Blake GM, Spector TD, Fogelman I. Multisite quantitative ultrasound: precision, age- and menopause-related changes, fracture discrimination, and T-score equivalence with dual-energy X-ray absorptiometry. *Osteoporos Int* 2001;12:456-64
- ⁴⁹ Morris EB, Shelso J, Smeltzer MP, Thomas NA, Karimova EJ, Li CS, Merchart T, Gajjar A, Kaste SC. The use of bone age for bone mineral density interpretation in a cohort of pediatric brain tumor patients. *Pediatr Radiol.* 2008;6:231-38

- ⁵⁰ Van Rijn RR, Van der Sluis IM, Lequin MH, Robben SG, de Muinck Keizer-Schrama SM, Hop WC, Van Kuijk C. Tibial quantitative ultrasound versus whole-body and lumbar spine DXA in a Dutch pediatric and Adolescent population. *Invest Radiol*. 2000;35:9:548-52.
- ⁵¹ Tuna H, Birtane M, Ekuklu G, Cermik F, Tuna F, Kokino S. Does Quantitative tibial ultrasound predict low bone mineral density defined by dual energy x-ray absorptiometry? *Yonsei Med J*. 2008 30;49:3:436-42.
- ⁵² Boyanov M, Shinkov A, Nestorova R. Bone density measurement: quantitative ultrasound of the calcaneus and distal radius. A comparison with dual spectrum x-ray absorptiometry. *Dtsch Med Wochenschr*. 2007;132:16:869-73.
- ⁵³ Cook RB, Collins D, Tucker J, Zioupos P. The ability of peripheral quantitative ultrasound to identify patients with low bone mineral density on the hip or spine. *Ultrasound Med Biol*. 2005;31:5:625-32
- ⁵⁴ Arici M, Erturk H, Altun B, Usalan C, Ulusoy S, Erdem Y, Sivri A, Yasavul U, Turgan C, Caglar S. Bone mineral density in haemodialysis patients: a comparative study of dual-energy x-ray absorptiometry and quantitative ultrasound. *Nephrol Dial Transplant*. 2000;15:11:1847-51.
- ⁵⁵ Goemaere S, Zmierzak H, Van Pottelbergh I, Kaufman JM. Ability of peripheral bone assessments to predict areal bone mineral density at hip in community-dwelling elderly men. *J Clin Densitom*. 2002;5:3:219-28.
- ⁵⁶ DiVasta AD, Ringelheim J, Bristol SK, Feldman HA, Gordon CM. Skeletal measurements by quantitative ultrasound in adolescents and young women with anorexia nervosa. *J Pediatr*. 2007;150:3:286-90, 290.
- ⁵⁷ Tao B, Liu JM, Zhao HY, Sun LH, Wang WQ, Li XY, Ning G. Differences between measurements of bone mineral densities by quantitative ultrasound and dual-energy x-ray absorptiometry in type 2 diabetic postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93:5:1670-5.
- ⁵⁸ Hartman C, Hino B, Lerner A, Eshach-Adiv O, Berkowitz D, Shaoul R, Pacht A, Rozenthal E, Tamir A, Shamaly H, Shamir R. Bone Quantitative ultrasound and bone mineral density in children with celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2004;39:5:504-10.
- ⁵⁹ Levine A, Mishna L, Ballin A, Givoni S, Dinari G, Hartman C, Shamir R. Use of quantitative ultrasound to assess osteopenia in children with crohn disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2002;35:2:169-72.
- ⁶⁰ *Alvan R. Feinstein. Clinical Epidemiology: The Architecture of Clinical Research.*
- ⁶¹ Universidad Nacional Autónoma de México. Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Medicas, Odontológicas y de la Salud. COMPENDIO: Planes de estudio y Normas operativas. Maestro (a) en Ciencias, Doctor (a) en Ciencias. 2011; Primera edición: 37-38. ISBN 978-607-02-2081-4