



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

**INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN**

**“ASOCIACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE HEPATOCARCINOMA CELULAR Y LA DENSIDAD  
MINERAL ÓSEA EN PACIENTES CON CIRROSIS HEPÁTICA. ESTUDIO DE CASOS Y  
CONTROLES”**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
**ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA**

PRESENTA:

**José Víctor Jiménez Ceja**

TUTORES DE TESIS:

**Dr. Ignacio García Juárez**

**Dr. Diego Luis Carrillo Pérez**

Ciudad Universitaria, Ciudad de México  
Octubre 2019



**INCMNSZ**



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.

FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

TÍTULO DE TESIS  
"ASOCIACIÓN ENTRE LA PRESENCIA DE HEPATOCARCINOMA CELULAR Y  
LA DENSIDAD MINERAL ÓSEA EN PACIENTES CON CIRROSIS HEPÁTICA.  
ESTUDIO DE CASOS Y CONTROLES"

PRESENTA  
José Víctor Jiménez Ceja

CARGO	FIRMAS
Director de Enseñanza  Dr. Sergio Ponce de León Rosales	
Director de la Especialidad  Dr. Alfonso Gulias Herrero	
Director de Tesis  Dr. Ignacio García Juárez	
Director de Tesis  Dr. Diego Luis Carrillo Pérez	



**INCMSZ**  
INSTITUTO NACIONAL  
DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN  
"DR. SALVADOR DURÁN"  
DIRECCIÓN DE ENSEÑANZA  
MÉXICO, D.F.

## ÍNDICE

<b>1 MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>4</b>
<b>2 JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>8</b>
<b>3 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>8</b>
<b>4 OBJETIVOS.....</b>	<b>8</b>
<b>5 HIPÓTESIS.....</b>	<b>9</b>
<b>6 MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>9</b>
<b>7 RESULTADOS.....</b>	<b>11</b>
<b>8 DISCUSIÓN.....</b>	<b>17</b>
<b>9 CONCLUSIONES.....</b>	<b>21</b>
<b>10 REFERENCIAS .....</b>	<b>21</b>

## 1 MARCO TEÓRICO

El carcinoma hepatocelular (HCC) se ha convertido en la tercera causa de muerte asociada a cáncer, el sexto cáncer más frecuente en la población general y una de las principales causas de muerte en pacientes con cirrosis hepática <sup>1</sup>. Ante este escenario, el HCC se ha convertido en una de las indicaciones más frecuentes para la realización de trasplante hepático ortotópico (THO)<sup>2</sup> y con ello se ha prolongado la supervivencia de estos pacientes. Como consecuencia, la aparición de enfermedades crónico-degenerativas intrínsecas al envejecimiento en la población de supervivientes ha incrementado, entre estas la osteoporosis y osteopenia con el incremento en la incidencia de fracturas patológicas que acompaña a estas.

La asociación entre osteoporosis y la enfermedad hepática crónica está bien establecida. Particularmente en etiologías colestásicas (dentro de las cuales la más estudiada ha sido la colangitis biliar primaria) se ha encontrado que hasta el 37% de las pacientes tienen densidad mineral ósea compatible con osteoporosis, y la prevalencia de fracturas en esta condición se acerca al 20% <sup>3</sup>. Se estima que la colestasis crónica incrementa el riesgo de fracturas en al menos el doble <sup>4</sup>.

La información con respecto a etiologías no colestásicas es menor y la asociación un tanto más incierta. En pacientes (80% de ellos varones) con hemocromatosis se ha encontrado una prevalencia entre 20-30% de osteoporosis y hasta el 40% de osteopenia <sup>5</sup>.

Por otro lado, en etiologías más frecuentes, como la infección crónica por virus de hepatitis C (VHC), la asociación es un tanto más controversial, ya que el tratamiento utilizado para el control de la infección en años previos (interferón alfa y ribavirina) incrementa el riesgo de osteoporosis <sup>6</sup>, pero en pacientes que alcanzan respuesta viral sostenida con este mismo manejo, la relación se invierte <sup>7</sup>, sugiriendo una asociación más directa con la enfermedad hepática que con el manejo antiviral. Un meta-análisis reciente donde se incluyeron 4 estudios observacionales (3 estudios de casos-controles y una cohorte prospectiva) encontró un incremento en el riesgo de osteoporosis (con una razón de momios de 1.65) en pacientes con infección crónica por virus de hepatitis C (con y sin cirrosis) <sup>8</sup>. La asociación en pacientes con co-infección VHC y virus de inmunodeficiencia humana (VIH) parece ser independiente del estadio de la fibrosis hepática, por

lo que la asociación parece relacionarse más con el estado inflamatorio de estas dos infecciones crónicas, ya que el control virológico es el principal determinante de la densidad mineral ósea <sup>9</sup>. Los efectos del virus de hepatitis B sobre la densidad mineral ósea no ha sido estudiado

En el caso de la cirrosis por alcohol la asociación es difícil de disecar ya que los pacientes con alcoholismo crónico tienen menor densidad ósea, tanto por la influencia dietética como por los efectos directos del alcohol en el metabolismo mineral (de igual manera hay más incidencia de fracturas traumáticas) <sup>10</sup>. La relación es inversamente lineal entre el consumo del alcohol y la densidad mineral ósea, aunado a esto, la abstinencia en el consumo del alcohol por 2 años ha demostrado revertir efecto <sup>11</sup>. Sin embargo el efecto del desarrollo de cirrosis en esta población como un efecto aditivo en el desarrollo de osteoporosis no ha sido demostrado.

En pacientes con esteato-hepatitis no alcohólica se ha demostrado un incremento en el riesgo de desarrollar osteoporosis con una razón de momios de 2.5 <sup>12</sup>, particularmente en pacientes con marcadores sugerentes de inflamación hepática y no únicamente esteatosis (elevación de ALT y PCR) <sup>13</sup>.

Las implicaciones del trasplante hepático ortotópico (THO) tiene también efectos sobre la densidad mineral ósea. Se ha observado que en los primeros 6 meses posterior al THO la densidad mineral ósea sufre un descenso paulatino <sup>14</sup> acompañado de una mayor incidencia de fracturas, cuyo riesgo se mantiene hasta aproximadamente 2-3 años posterior al THO <sup>15</sup>. La explicación de dicha observación parece residir, en parte, a el uso de algunos fármacos inmunosupresores, particularmente el uso de esteroides, cuyos mecanismos fisiopatológicos son ya bien conocidos (principalmente por la inhibición en la formación ósea por supresión de la diferenciación osteoblástica e inducción apoptótica, además de estimulación en la resorción ósea, disminución en la absorción intestinal de calcio e incremento en la excreción urinaria de este, entre otros) y cuya dosis a partir de la cual se notan los efectos a este nivel son de 7.5 mg de prednisona al día o su equivalente <sup>16</sup>. Sin embargo, fármacos como los inhibidores de calcineurina provocan un incremento en la resorción ósea que rebasa la capacidad de formación de este, resultando en un alto recambio óseo (particularmente en el caso de la ciclosporina más que el tacrolimus, a partir de una dosis de 7.5 mg/kg) <sup>17</sup>. los inhibidores de mTORi se han asociado a disminución en la formación ósea. Estos efectos han sido observado particularmente en modelos animales y con datos indirectos en humanos. Por otro lado, inhibidores de nucleóticos como el

micofenolato de mofetil y tiopurinas como la azatioprina, no han demostrado efectos significativos sobre la densidad mineral ósea <sup>18</sup>.

En términos generales, entre pacientes con cirrosis avanzada (independientemente de la causa) únicamente el 24% de estos tiene densidad ósea normal y hasta el 38% tiene osteoporosis <sup>19</sup>. Considerando que en estos pacientes con puntajes de Child Pugh B altos y C la única posibilidad curativa real es el trasplante hepático, y que el uso de fármacos inmunosupresores para el mantenimiento del injerto se asocia a una disminución inclusive mayor en la densidad mineral ósea, los factores de riesgo aditivos para fracturas y osteoporosis deben ser considerados para el manejo y prevención de fracturas en esta población, particularmente por la larga sobrevida que se les puede ofrecer en la actualidad.

Recientemente se ha encontrado que, independientemente de los factores propios del receptor y donador, la densidad mineral ósea funge como un predictor de mortalidad en pacientes con HCC <sup>20</sup>. En un estudio retrospectivo Sharma y colaboradores realizaron mediciones de la densidad mineral ósea mediante tomografía axial computarizada (un subrogado de la densitometría ósea habitual) así como área muscular dorsal y otros factores de riesgo, para detectar a la densidad mineral ósea como un predictor independiente de mortalidad en los pacientes con HCC en su periodo post-trasplante. Sin embargo, no se conoce si el desarrollo de HCC confiere un riesgo agregado de fracturas y desarrollo de osteoporosis así como ocurre en otros tipos de cáncer <sup>21</sup>.

En pacientes con HCC que son candidatos a THO, es decir que cumplen con los criterios de Milán (un nódulo único menor a 5 cm o tres no mayores a 3 cm) tiene una supervivencia post-trasplante entre el 60 y el 80% a los 5 años y una recurrencia tumoral menor al 15%, por lo que la expectativa de vida en esta población ha incrementado al punto en el cual se observan enfermedades crónicas como la osteoporosis, particularmente en pacientes con causas secundarias de esta (tal y como lo es la cirrosis hepática) <sup>22</sup>.

Es sumamente importante establecer (dada la intrínseca relación entre el deterioro de la densidad mineral ósea y el estadio de la enfermedad hepática) que los pacientes con HCC suelen tener cirrosis hepática compensada y por ende puntajes de MELD menores comparado con pacientes en lista de espera para THO pero sin HCC. El motivo de esta diferencia se basa en que los sistemas de asignación de órganos estadifican a los pacientes con mayor riesgo de muerte como prioridad en la lista de receptores, y en pacientes con HCC la mortalidad (y condiciones para ser

excluidos como receptores) es dependiente en mayor medida de la progresión tumoral que de la descompensación hepática, motivo por el cual la mayor parte de los sistemas de asignación de órganos otorgan puntos adicionales a pacientes con HCC para ascenderlos en la lista de receptores (la jerarquización de estos puntajes es dependiente de la región geográfica) <sup>23</sup>. Las implicaciones en el conocimiento entre la disminución en la densidad mineral ósea y el desarrollo de HCC es relevante con base en estos hechos, ya que, a pesar de que estos pacientes suelen tener cirrosis menos avanzada y por lo tanto menor incidencia de osteoporosis atribuida al puntaje de MELD o Child-Pugh, y riesgo pudiese estar subestimado (y por lo tanto infra diagnosticado y tratado) ante la presencia de HCC.

En el estudio de Sharma se encontró que el número de lesiones compatibles con HCC por imagen correlacionaban con mayor disminución en la densidad mineral ósea, es decir, a mayor número de lesiones menor densidad ósea. De igual forma, el uso de terapias loco-regionales para el manejo del HCC (un dato indirecto de tumoraciones con mayores dimensiones) correlacionó también con mayor pérdida de la densidad mineral ósea <sup>20</sup>. Aunque estas observaciones pudiesen ser independientes, la posibilidad de que una mayor masa tumoral se relacione con más osteoporosis apoyaría la noción de la asociación entre HCC y osteopenia/osteoporosis.

De forma indirecta, pero ciertamente enigmática, los niveles de vitamina D (marcador asociado a disminución en la densidad mineral ósea) se asocian a peores desenlaces en pacientes con HCC- En algunos estudios observacionales se han encontrado como factor de riesgo independiente para mortalidad en la lista de espera de THO <sup>24</sup>. De hecho en pacientes con HCC en los cuales se predice un tiempo de espera en lista de THO mayor a 6 meses se recomienda el manejo del tumor con terapias loco-regionales (embolización trans-arterial, ablación por radiofrecuencia etc.). Recientemente se ha observado que en esta población, la deficiencia de vitamina D predice pobre respuesta oncológica a la quimio-embolización trans-arterial <sup>25</sup>, esta asociación pudiese corresponder a las propiedades anti-tumorales, anti-angiogénicas y pro-apoptóticas que se le han atribuido a esta vitamina-hormona <sup>26</sup>, sin embargo la posibilidad de una relación con la densidad mineral ósea parece intrigante. De forma indirecta, estos datos pudiese orientar hacia una relación biológica tumoral y su influencia nociva en la densidad mineral ósea.

La osteoporosis en el paciente con cirrosis hepática tiene una alta prevalencia independientemente de la etiología que llevó a dicho estadio terminal. Dicho estado no solo confiere mayor riesgo de fracturas y disminución en la calidad de vida <sup>27</sup>, si no que, en pacientes



con HCC es un factor independiente de mortalidad en el periodo peri-trasplante y parece tener una asociación con el tamaño del tumor. El rol del HCC como un factor de riesgo aditivo para la desmineralización ósea en pacientes con cirrosis hepática es aún una interrogante.

## **2 JUSTIFICACIÓN**

Las implicaciones de conocer la asociación entre HCC y osteoporosis radican principalmente en el cuidados post-trasplante de estos pacientes o en el manejo paliativo de aquellos cuya ventana terapéutica curativa no es factible, ya que la reducción en el riesgo de fracturas, tanto con modificaciones de factores de riesgo modificables, rehabilitación temprana o inclusive farmacoterapia oportuna pos-trasplante y como manejo paliativo preventivo de fracturas tiene implicaciones en la calidad de vida, y como mencionamos previamente, supervivencia de este grupo de pacientes.

Con el propósito de establecer si el HCC confiere un riesgo agregado para el desarrollo de osteoporosis realizamos un estudio de casos y controles en pacientes con cirrosis hepática con y sin HCC

## **3 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

La pregunta de investigación que motivó al desarrollo de este estudio y cuya interrogante buscamos resolver es la siguiente; ¿Existe una asociación entre el desarrollo de carcinoma hepatocelular y la disminución en la densidad mineral ósea en pacientes con cirrosis hepática? De ser así surgen otras interrogantes subsecuentes a nuestra pregunta inicial; ¿Existe un incremento en el riesgo de fracturas? ¿Es este riesgo independiente de otros confusores?

Mediante la siguiente metodología pretendemos responder nuestra pregunta principal de investigación.

## **4 OBJETIVOS**

El objetivo principal de nuestro proyecto de investigación fue establecer la asociación (o ausencia de esta) entre el desarrollo de HCC y la disminución en la densidad mineral ósea (tanto osteoporosis como osteopenia) en pacientes con cirrosis hepática ya establecida. Con el afán de cumplir dicho objetivo principal nos planteamos los siguientes objetivos específicos:

- Obtener casos de HCC confirmados con cirrosis hepática (excluyendo los casos en hígado sano) y densitometría ósea en un periodo cercano al año desde el diagnóstico de HCC-
- Obtener casos de cirrosis hepática y densitometría ósea en un periodo cercano al año desde el diagnóstico de HCC-
- Recopilar datos demográficos y del historial clínico relevantes para el desarrollo de osteoporosis, fracturas o disminución de la densidad ósea en general (ver métodos para mayor detalle) con el propósito de controlar variables confusoras y disecar el rol de HCC independientemente de otras variables. Recompilar de igual manera los valores clave de la densitometría ósea obtenida así como de datos laboratoriales e imagenológicos para clasificar en estadios tanto la cirrosis hepática como el HCC.
- Realizar la comparación de las variables obtenidas y análisis estadístico correspondiente.

## **5 HIPÓTESIS**

Nuestra hipótesis de trabajo es que los pacientes con cirrosis hepática y carcinoma hepatocelular tendrán una mayor incidencia de osteoporosis y/o osteopenia comparado con pacientes con cirrosis hepática pero sin carcinoma hepatocelular.

## **6 MATERIALES Y MÉTODOS**

Realizamos un estudio de cohorte retrospectivo en un centro de tercer nivel en la Ciudad de México (Instituto Nacional de Nutrición y Ciencias Médicas Salvador Zubirán INCMNSZ) donde se estudiaron pacientes con cirrosis hepática y se comparó el grado de descalcificación ósea a nivel de columna vertebral y cadera entre los pacientes que desarrollaron HCC y pacientes que no lo desarrollaron. Se realizó una búsqueda en el registro hospitalario para todos los pacientes con cirrosis hepática del periodo de 2011-2019 utilizando el código de la Clasificación Estadística Internacional de Enfermedades y Problemas Relacionados con la Salud, Décima Revisión (CIE-10). Posteriormente se realizó una segunda búsqueda utilizando el código CIE-10 HCC para identificar aquellos casos de cirrosis hepática y HCC.

Posteriormente se realizó una revisión del historial médico de cada uno de los casos seleccionando aquellos que contaran con una densitometría ósea dentro de los primeros dos años de diagnóstico de HCC. Se obtuvo información demográfica y de historia clínica incluyendo sexo, etiología de cirrosis hepática, valores de vitamina D, uso de esteroides, manejo del HCC en el

caso de los casos así como las dimensiones de este y manejo establecido en caso de establecerse osteoporosis.

La definición operacional de cirrosis en nuestro estudio se baso tanto en hallazgos por biopsia de cirrosis hepática (etapa 4 con nódulos de regeneración separados puentes de fibrosis en la tinción de tricromo de Masson)<sup>28</sup>, TE Fibroscan Ecosense de acuerdo al *Society of Radiologists in Ultrasound* en pacientes con infección por VHC (escala de METAVIR F4 y casos de F3 con fibrosis clínicamente significativa  $> 15$  kPa - 2.2 m/s)<sup>29</sup> o pacientes con cuadro clínico compatible más hallazgos radiológicos sugerentes de cronicidad hepática y hallazgos endoscópicos de varices esofágicas<sup>30</sup>. La definición de casos con HCC se tomó como lo recomienda la European Association for the Study of the Liver (EASL) en pacientes con hígado cirrótico, siendo nódulos mayores o iguales de 1 cm con características de alto riesgo en tomografía axial computarizada multifásica (considerado como reforzamiento del nódulo en la fase arterial con lavado en la fase portal venosa o tardías de más de 60 segundos) o resonancia magnética utilizando agentes de contraste extracelulares o gadobenato dimeglumida (considerado como reforzamiento del nódulo en la fase arterial con lavado en la fase portal venosa o tardías de más de 60 segundos)<sup>31</sup>. Se considero como caso uno de estos dos estudios con características clásicas de HCC y en caso de incertidumbre diagnóstica en estos se incluyeron como casos aquellas lesiones con biopsia compatible con HCC o biopsia del explante hepático con HCC.

Como definición operacional de osteoporosis se consideró lo establecido por la Organización mundial de la salud (OMS) en consenso con la International Osteoporosis Foundation como el valor en la densidad mineral ósea de -2.5 desviaciones estándar (en cuello femoral o columna vertebral lumbar total) por debajo de la media para un adulto joven sano (valor conocido como T-Score). Se definió osteopenia con valores de -1 a -2.5 desviaciones estándar y normal como mayor a -1 desviaciones<sup>32</sup>. En el caso de hombres menores a 50 años y mujeres premenopausicas el valor en la densidad mineral ósea de -2 desviaciones estándar por debajo de la media (en cuello femoral o columna vertebral lumbar total) para un adulto de la misma edad del sujeto (valor conocido como Z-Score) por debajo de -2.0 desviaciones estándar para definir disminución en la densidad mineral ósea y normal cuando se encontraba por arriba de este valor.

33

Criterios de Inclusión en el estudio

- Pacientes con registro en el INCMNSZ
- Edad mayor de 18 años

- Cumplir con la definición operacional de cirrosis hepática como se definió en apartados previos
- Cumplir con la definición operacional de osteoporosis como se definió en apartados previos
- Contar con densitometría ósea en un periodo alrededor de 1 año desde el diagnóstico de HCC

#### Criterios de eliminación en el estudio

- Causas secundarias de osteoporosis (se eliminaron pacientes usuarios crónicos de esteroides, bloqueadores androgénicos etc.)
- Densitometría ósea fuera del periodo definido o sin densitometría en el expediente clínico del INCMNSZ

El análisis estadístico de los casos (pacientes con HCC y con cirrosis hepática) y controles (pacientes sin HCC y con cirrosis hepática) se realizó utilizando índices de tendencia central y dispersión como proporciones para variables dicotómicas y para variables continuas se utilizan medias o medianas, utilizando rangos intercuartilares o Desviación Estándar. Para variables dicotómicas se utilizó Chi cuadrada o exacta de Fisher dependiendo de la variable, para variables continuas se utilizó prueba no paramétrica como U de Mann Whitney. Se consideró como una p significativa el valor  $\leq 0.05$ . El análisis estadísticos se llevo a cabo utilizando el programa IBM SPSS Statistics versión 21.

## 7 RESULTADOS

Se analizaron los datos obtenidos en 184 pacientes con cirrosis hepática en el periodo de 2011-2019, 89 de ellos con HCC y 95 sin HCC. Las características demográfica y de severidad de HCC o cirrosis están representadas en la tabla 1. Como se puede observar en nuestra cohorte el 62.5% corresponden a mujeres, tanto en los casos como en los controles (en ambos casos 62% son mujeres). La edad media en nuestra cohorte fue de 63 años en los pacientes con HCC y 47 años en los pacientes sin HCC, esta diferencia no fue estadísticamente significativa dado que los rangos de edad en los grupos son amplios. Por otro lado la etiología predominante tanto en los casos como en los controles fue la infección crónica por el virus de la hepatitis C (VHC) representando el 53% de los casos de HCC y cirrosis pero tan solo el 34% en los casos de cirrosis sin HCC, siendo esta última diferencia estadísticamente significativa. Las etiologías colestásicas representan el 19% de los casos y el 8% de los controles, la cirrosis por alcohol el 16% de los

casos y el 6 % de los controles y NASH el 16% de los casos y 12% de los controles, la diferencia entre estas no fue estadísticamente significativa.

En nuestra cohorte se observó que el 44% de los casos correspondía a estadios tempranos de la cirrosis (Child A) mientras que los controles se encontró la misma proporción. El 48% de los casos se encontraron en estadio Child B mientras que el 34% de los controles pertenecieron a este estadio. El 22% de los controles se encontraron en estadio Child C mientras que solo el 8% de los casos lo son. Las diferencias en la distribución de los estadios clínicos fueron estadísticamente significativas únicamente en el estadio Child C. Sin embargo al contrastar con el puntaje de MELD no se encontraron diferencias significativas entre los grupos, la media en el grupo de los casos fue de 10 puntos (6-22) y en el de los controles fue de 9 (6-23). La distribución en el estadio del HCC establecido por la escala de Barcelona en nuestros casos fue del 40% en estadio Barcelona A, 39% B, 14% C y únicamente 7% D. El predominio de estadios tempranos. Dicha observación es un tanto esperada, dado que la mayor parte de nuestros pacientes se encontraban en lista de espera para THO.

En cuanto a otros factores confusores para la interpretación de nuestra hipótesis cabe destacar que se encontró diferencia significativa entre el índice de masa corporal (IMC) entre los grupos (26 vs 24 kg/m<sup>2</sup>), la media en niveles de vitamina D fue ligeramente menor en el grupo de los controles (14) que en el de los casos (21) lo cual alcanzó la diferencia estadística. Cabe mencionar que estas diferencias significativas tiende a inclinar la balanza hacia los casos en cuanto a la disminución de la densidad mineral ósea, ya que tanto los IMC bajos como niveles de vitamina D por debajo de 20 pg/dl se asocian a una mayor incidencia de osteopenia y osteoporosis, dicho punto es esencial en la interpretación de los datos obtenidos más adelante.

**Tabla 1:** Características de los casos y controles

<b>Variable</b>	<b>Total de pacientes (n=184)</b>	<b>Con HCC (n=89)</b>	<b>Sin HCC (n=95)</b>	<b>p</b>
Sexo, mujer/hombre, <i>n/n</i>	115/69	56/33	59/36	0.9
Edad media (DS)		63 (19-85)	47 (20-69)	0.92
<b>Etiología</b>				
VHC	81 (48)	48 (53)	33 (34)	0.009

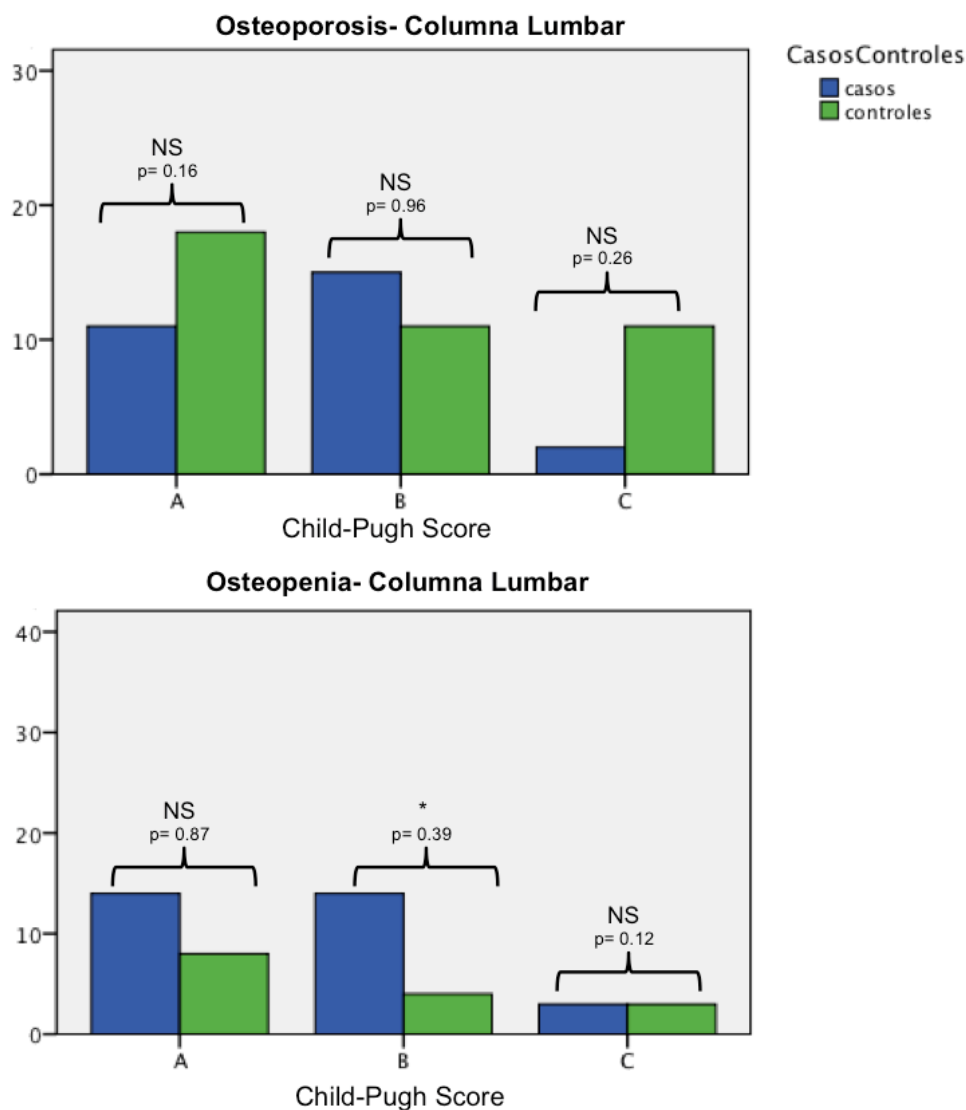
Colestásica	25 (13)	17 (19)	8 (8)	0.078
Alcohol	14 (7)	8 (16)	6 (6)	0.18
NASH	27 (14)	15 (16)	12 (12)	0.49
<b>Child Diagnóstico HCC</b>				
A	81 (44)	39 (44)	42 (44)	0.12
B	75 (41)	43 (48)	32 (34)	0.25
C	28 (15)	7 (8)	21 (22)	0.012
<b>Barcelona HCC</b>				
A		36 (40)		
B		35 (39)		
C		12 (14)		
D		6 (7)		
<b>MELD</b> <b>(Al momento del diagnóstico de HCC)</b>		10 (6-22)	9 (6-23)	0.913
Niveles de Vitamina D		21 (7-54)	14 (4-30)	0.001
IMC		26 (15-40)	24 (15-34)	0.008

En cuanto al análisis de la densidad mineral ósea los resultados obtenidos fueron los siguientes; considerando los criterios previamente mencionados para la interpretación de la densidad mineral ósea (T-score o Z-score como correspondiera de acuerdo al caso) se analizaron las densitometrías tanto de casos como controles.

La prevalencia de osteoporosis en columna lumbar en nuestra población de estudio (tanto casos como controles en conjunto) fue del 36%, 31% en los casos y 42% en los controles. Considerando la distribución por grupos se encontró osteoporosis lumbar en el 12% de los casos y 19% de los controles en estadio Child-Pugh A, 17% de los casos y 11% de los controles en estadio Child-Pugh B y finalmente en estadios Child-Pugh C únicamente el 2% de los casos y 12% de los controles. Ninguno de estos valores alcanzó la significancia estadística en nuestro análisis (**Ver figura 1 panel A**). En cuanto a osteopenia en la misma topografía (región lumbar) se encontró una prevalencia del 25% en nuestra población de estudio (tanto casos como controles), 35% de los casos y 15% de los controles. Desglosando por subgrupos; en estadio Child-Pugh A se encontró osteopenia en el 8% de los controles y 15% de los casos, en estadio Child-Pugh B 4%

de los controles y 16% de los casos y en estadio Child Pugh C únicamente 3% en ambos grupos siendo únicamente significativa la diferencia en el grupo de pacientes con estadio B, no así en A y C (Ver figura 1 panel B).

**Figura 1: Densidad Mineral Ósea en Columna Lumbar**

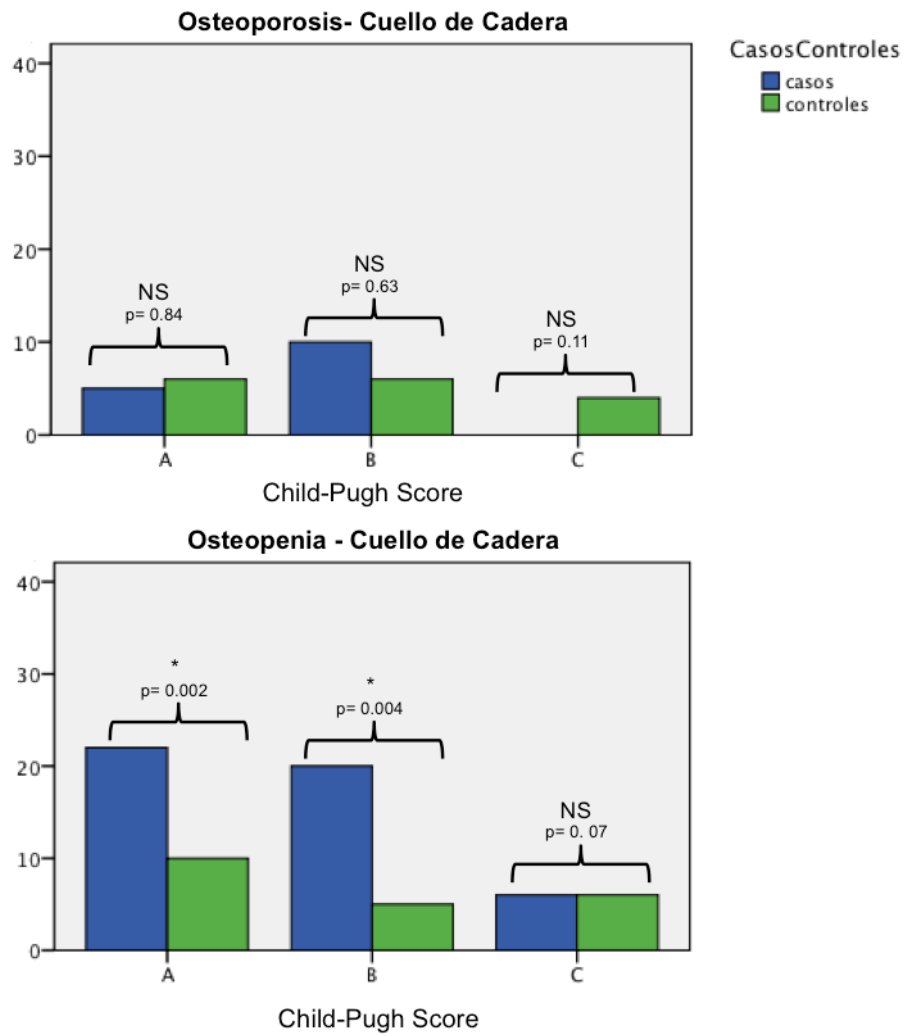


La prevalencia de osteoporosis en cuello de cadera en nuestra población de estudio (tanto casos como controles en conjunto) fue del 16% tanto en los casos como en los controles. La distribución de acuerdo al estadio clínico fue la siguiente; Child-Pugh A 5% casos y 6% controles, Child-Pugh B 11% casos y 6% controles, y en Child-Pugh C únicamente el 4% de los controles y ninguno de los casos. Ninguno de estos valores alcanzo la diferencia estadísticamente significativa entre los

grupos de casos vs los controles (**Ver figura 2 panel A**). Con respecto a la osteopenia en cuello de cadera el escenario fue diferente; la prevalencia fue del 37.5%, 53% de los casos y 22% de los controles. El análisis de la distribución por estadio arrojó diferencias significativas en los tres estadios; en Child-Pugh A el 25% de los casos presentaron osteopenia en cadera, mientras que únicamente el 10% de los casos, este valor alcanzó la significancia estadística con un valor p de 0.002. En estadio Child-Pugh B el 22% de los casos presentaron osteopenia, mientras que únicamente el 5% de los casos, este valor alcanzó la significancia estadística con un valor p de 0.004. Finalmente en estadios avanzados Child-Pugh C 7% de los casos y 6% de los controles presentaron osteopenia, valores no significativamente diferentes (aunque cabe destacar que únicamente fueron 6 casos/controles por grupo en este estadio) (**Ver figura 2 panel B**).



**Figura 2: Densidad Mineral Ósea en Cuello de Cadera**



## 8 DISCUSIÓN

La asociación entre osteoporosis y cirrosis hepática, particularmente estadios avanzados, es clara y bien establecida. De igual manera la relación entre el desarrollo de osteoporosis y/o osteopenia en otro tipo de cánceres ha sido ya bien estudiada (particularmente en mama y próstata) , sin embargo no se conoce si el desarrollo de HCC en esta población tiene o no asociación con el deterioro de la densidad mineral ósea. Las implicaciones de este conocimiento cobran relevancia ante los hallazgos recientes sobre la relación de la densidad mineral ósea como un predictor independiente de mortalidad en los pacientes en lista de THO que sobreviven a este. Las implicaciones de este conocimiento en el manejo de esta población pudiese contribuir al manejo peri-trasplante de pacientes con HCC en lista de espera para THO.

En esta cohorte retrospectiva se analizaron datos de 184 pacientes con cirrosis hepática, 89 de ellos con HCC y se compararon con 95 pacientes con cirrosis hepática pero sin evidencia de HCC por imagen o en el análisis histopatológico del explante (aquellos pacientes donde se encontró HCC como hallazgo en el análisis de explante se incluyeron en el análisis de los casos). En el análisis de estos datos se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos en el desarrollo de osteopenia, (particularmente en cadera) en estadios Child-Pugh A y B, dicha observación no fue representada en el análisis correspondiente con el desarrollo de osteoporosis en ninguna de las dos regiones analizadas (columna lumbar y cuello de cadera).

### Características Demográficas y Confusores

Dentro del análisis estadístico de las características generales entre los casos y los controles se observó una diferencia estadísticamente significativa en el IMC y los niveles de vitamina D, siendo ambos más bajos en el grupo de los pacientes con cirrosis hepática sin HCC. Las implicaciones de estas diferencias cobran relevancia en la interpretación de nuestras conclusiones; los niveles de vitamina D más bajos en el grupo de los controles pudiese ser un reflejo de que la presencia de estadios más avanzados (Child-Pugh C) en el grupo de los controles, dicha asociación inversamente proporcional entre estadios más avanzados de la enfermedad hepática y menores concentraciones de vitamina D ya ha sido descrita en múltiples cohortes <sup>34</sup> y parece tener una relación directa con mayor mortalidad independientemente del estadio clínico de la cirrosis hepática (tanto por puntajes de MELD o Child-Pugh), de forma particular con mortalidad debido a infecciones graves <sup>35,36</sup>. Dicha función inmunomodulador de la vitamina D ya ha sido descrita e

inclusive asociada a peores desenlaces en el periodo peri-trasplante <sup>37</sup>. Sin embargo su asociación con un incremento en el riesgo de fracturas es un tanto controversial <sup>38</sup> así como la veracidad fisiológica/bioactiva de su medición en estadios avanzados (particularmente en pacientes con disfunción sintética y con ello baja producción de albúmina y proteína de unión a la vitamina D) <sup>39</sup>. Asimismo las implicaciones terapéuticas de su suplementación han sido cuestionadas en un meta-análisis reciente <sup>40</sup>. Sin embargo, siguiendo la evidencia establecida en población sin enfermedad hepática crónica; tanto en el rubro de los niveles de vitamina D como en el IMC bajo tienden a asociarse a menor densidad ósea, por lo que el efecto de los valores observados en nuestros controles solo resaltan la relación observada en los pacientes con HCC. En otras palabras el efecto confusor a nuestra hipótesis es inverso.

En cuanto a la etiología de la cirrosis es importante mencionar que la prevalencia de etiologías colestásicas (quizás el grupo más estudiado y con mayor fuerza de asociación con el desarrollo de osteoporosis) fue la misma tanto en los casos como los controles, así como en el caso de etilismo y NASH. La etiología más prevalente en nuestra cohorte fue la infección crónica por virus de hepatitis C, hallazgo un tanto esperado ya que nuestro centro es referencia para el manejo de esta etiología, sin embargo si se encontró diferencia significativa entre ambos grupos, siendo mayor la prevalencia en los pacientes con HCC. Sin embargo, como se mencionó previamente, la asociación entre la infección crónica por VHC y el desarrollo de osteoporosis es controversial, en tal dimensión que se ha observado como nula la asociación en estudios observacionales, por lo que su rol como confusor en nuestra cohorte es mínimo <sup>41</sup>. Además su alta prevalencia en pacientes con cirrosis avanzada que desarrollan HCC es bien conocida, es un factor de riesgo independiente para su desarrollo. La diferencia en edades observada en nuestra cohorte es intrínseca de los pacientes con HCC en quienes la edad es un factor de riesgo para el desarrollo de este, sin embargo la diferencia entre grupos no llegó a la significancia estadística. El sexo, factor de riesgo esencial en el desarrollo de osteoporosis, no fue diferente entre los casos y controles, aunque en ambos brazos de la cohorte la tendencia hacia más casos de sexo femenino fue observada.

#### Densidad Mineral Ósea y la presencia de HCC

En el análisis estadístico de los valores de densitometría ósea se consideró y corrigió para la edad y la presencia de mujeres pre-menopausicas en la cohorte (utilizando el Z-score en los casos correspondientes como fue mencionado en la sección de materiales y métodos) y se realizó el análisis estadístico entre grupos del estadio clínico de la cirrosis, considerando su estrecha

relación con la desmineralización ósea. Lo observado en nuestro análisis fue una prevalencia de osteoporosis en nuestra población estudiada cercano a lo descrito en la literatura médica (36% en columna vertebral y 15% en cuello de cadera) <sup>42</sup>. No se observó diferencia entre los pacientes con HCC y sin HCC en lo que respecta a densidad mineral ósea en niveles de osteoporosis (T-score menor a -2.5 desviaciones estándar), dicha observación se mantuvo tanto en el grupo de los casos como en el de los controles en cada uno de los tres estadios clínicos de la enfermedad (desde el Child-Pugh A al C).

Sin embargo al realizar el análisis en la densidad mineral ósea en niveles de osteopenia (T-score entre -2.5 y -1 desviaciones estándar) se encontró una diferencia significativa entre el grupo de los pacientes con HCC, presentando mayor niveles de desmineralización ósea, particularmente a nivel de cuello de cadera. Esta observación es cierta en estadios Child-Pugh A y B, más sin embargo, no fue observada en los pacientes con estadios Child C. Cabe destacar que, como se mencionó previamente, en el grupo de los casos se observó una menor prevalencia de este estadio clínico, observación que pudiese corresponder con la asignación preferencial en la lista de THO a pacientes con HCC que cumplen con criterios de Milán pero que en comparación con sus contrapartes sin esta afección oncológica, tienen puntajes de MELD y Child Pugh más bajos. La diferencia entre el tamaño de los grupos en este estadio pudiese ser la causa que explicase la ausencia de significancia estadística.

Con respecto a la prevalencia de osteopenia a nivel de columna lumbar únicamente se observó significancia estadística (de nuevo mostrando mayor prevalencia de osteopenia en el grupo de pacientes con HCC y cirrosis hepática) en el grupo de pacientes con estadio Child-Pugh B. A pesar de que se notó una tendencia hacia mayor prevalencia en pacientes con estadio Child-Pugh A, esta observación no alcanzó la significancia estadística.

Los hallazgos observados en nuestro estudio apoyan nuestra hipótesis sobre un efecto deletéreo en la densidad mineral ósea asociado a la presencia de HCC en pacientes con cirrosis hepática. Si bien dichas observaciones no fueron representadas en fases avanzadas de la desmineralización ósea (osteoporosis) este efecto pudiese ser explicado por el diseño de nuestro estudio. Para la selección de pacientes en nuestra cohorte se tomaron casos de HCC que tuviesen disponible una densitometría ósea en un periodo de tiempo no mayor a un año alrededor al diagnóstico del HCC, dicho periodo de tiempo pudiese no ser biológicamente plausible para generar efectos en la densidad mineral ósea al punto de la osteoporosis, sin embargo pudiese ser

suficiente para observar cambios a un nivel por debajo de esta, la osteopenia. La interrogante se mantiene abierta sobre la posibilidad de un efecto progresivo sobre la densidad mineral ósea, sin embargo en los pacientes con THO un estudio prospectivo o retrospectivo no se pudiese extender mucho más allá de este periodo de tiempo contemplando la ventana terapéutica para llevar a cabo un THO aún dentro de los criterios de Milán. En pacientes en cuidados paliativos esta interrogante pudiese ser respondida, sin embargo, dado las características intrínsecas a esa población, la presencia de confusores sería un tanto mayor.

El mecanismo fisiopatológico de nuestras observaciones abre interrogantes biológicas desconocidas hasta el momento. La señalización tumoral en el desarrollo y progresión del HCC es ciertamente compleja y lejos de esta completamente dilucidada, sin embargo el rol de los factores de crecimiento epidermoide (FGFs) ha sido ampliamente no solo en la reparación fisiológica del parénquima hepático si no también como factores mediadores de la angiogénesis y crecimiento tumoral <sup>43</sup>. El rol de algunos de estos factores ha sido estudiado tanto como marcadores diagnósticos de HCC (FGF-2) <sup>44</sup>, como directamente relacionados con angiоinvasión, crecimiento celular e inhibición de la apoptosis (Subfamilia FGF 8 y FGF 19/4) <sup>45</sup>. Sin embargo algunos miembros de esta misma familia de señalizadores proteicos están íntimamente relacionados con la fisiología del recambio mineral óseo.

El factor de crecimiento fibroblástico 23 (FGF-23) es un péptido expresado tanto en tejido óseo como en el parénquima hepático, su rol en la homeostasis mineral se basa en la inhibición de reabsorción renal de fosfato mediante la disminución en la expresión renal de los transportadores de este mineral <sup>46</sup>. Su deficiencia en modelos animales transgénicos produce un fenotipo con aterosclerosis, envejecimiento prematuro y de forma importante para nuestro interés; osteoporosis prematura <sup>47</sup>. Recientemente se ha descrito que niveles elevados en pacientes con cirrosis en espera de THO son predictores de mortalidad independientemente de la función renal o cardiaca (consecuencias bien descritas del exceso de FGF-23, particularmente en pacientes con enfermedad renal crónica) <sup>48</sup>. Sin embargo en este mismo estudio prospectivo observacional de 200 pacientes aquellos con HCC presentaron niveles menores de FGF-23 que los pacientes sin HCC <sup>49</sup>. Aunque la densidad mineral ósea no fue estudiada en este estudio una posibilidad biológicamente plausible es la existencia de distintos fenotipos de HCC algunos asociados con osteopenia/osteoporosis dependiendo de la expresión de factores como FGFs u otros. En nuestro estudio no se realizó la medición de FGF-23.

Las limitaciones de nuestro estudios son intrínsecas a un análisis retrospectivo; sesgos de selección, información etc. Además de que el tamaño de nuestra muestra pudiese ser una limitante en eventos raros durante el periodo de tiempo estudiado (por ejemplo el desarrollo de osteoporosis). Como es típico de una cohorte retrospectiva únicamente podemos establecer asociación y no causalidad entre la densidad mineral ósea y el desarrollo de HCC <sup>50</sup>. Adicionalmente el tamaño de nuestra muestra (y por ende el número de pacientes en cada grupo causal de la cirrosis) no permitió el análisis de subgrupos, información que pudiese esclarecer y disecar el rol del HCC independientemente de la etiología de la cirrosis hepática. Debido a nuestro tipo de población; pacientes en lista de espera para THO, la temporalidad de la DMO es cercana al diagnóstico de HCC, y por ende los efectos del HCC sobre la densidad mineral ósea únicamente pueden ser estudiados a mediano plazo.

## **9 CONCLUSIONES**

Múltiples factores de riesgo se han asociado a osteoporosis en la población con hepatopatías crónicas, sin embargo nuestro estudio es la primer pieza de evidencia que asocia el desarrollo de HCC con disminución en la densidad mineral ósea en pacientes con cirrosis hepática y lo establece como un factor de riesgo para la misma. A pesar de que nuestra cohorte presenta diferencias entre los casos y controles que repercuten en la densidad mineral ósea (IMC, niveles séricos de Vitamina D, estadio Child-Pugh C) todas estas variables favorecen a grupo de los controles estableciendo más riesgo de osteoporosis en estos, por lo que nuestro resultados son resaltados ante dicha diferencia. Las implicaciones de conocer el riesgo de osteoporosis en pacientes con HCC recae en el manejo peri-trasplante, selección de la inmunosupresión, intensificación de la rehabilitación y selección de tratamiento de osteoporosis en los pacientes tanto en lista de espera para THO como en aquellos supervivientes a este. Se requieren más estudios que den luz a los mecanismos fisiopatológicos de la asociación encontrada y su análisis prospectivo para superar las limitante de este estudio retrospectivo.

## **10 REFERENCIAS**

1. IARC. Fact sheets by Population-Globocan-IARC. [http://globocan.iarc.fr/Pages/fact\\_sheets\\_population.aspx](http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_population.aspx) (accessed Dec 18, 2016)
2. Organ Procurement and Transplantation Network. Allocation of livers and intestines. [http://optn.transplant.hrsa.gov/Content Documents/OPTN\\_Policies.pdf#nameddest5Policy\\_09](http://optn.transplant.hrsa.gov/Content Documents/OPTN_Policies.pdf#nameddest5Policy_09)

3. Guanabens N, Cerda D, Monegal A, et al. Low bone mass and severity of cholestasis affect fracture risk in patients with primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology*. 2010;
4. Solaymani-Dodaran M, Card TR, Aithal GP, et al. Fracture risk in people with primary biliary cirrhosis: a population-based cohort study. *Gastroenterology*.
5. Valenti L, Varenna M, Fracanzani AL, et al. Association between iron overload and osteoporosis in patients with hereditary hemochromatosis. *Osteoporos Int*. 2009;
6. Hofmann WP, Kronenberger B, Bojunga J, et al. Prospective study of bone mineral density and metabolism in patients with chronic hepatitis C during pegylated interferon alpha and ribavirin therapy. *J Viral Hepat*. 2008;15:790-796.
7. Solis-Herruzo JA, Castellano G, Fernandez I, et al. Decreased bone mineral density after therapy with alpha interferon in combination with ribavirin for chronic hepatitis C. *J Hepatol*. 2000
8. Wijarnpreecha K, Thongprayoon C, Panjawan P, et al. Hepatitis C virus infection and risk of osteoporosis: a meta-analysis. *Saudi J Gastroenterol*. 2017;23:216-221.
9. El-Maouche D, Mehta SH, Sutcliffe C, Higgins Y, Torbenson MS, Moore RD, Thomas DL, Sulkowski MS, Brown TT. Controlled HIV viral replication, not liver disease severity associated with low bone mineral density in HIV/HCV co-infection. *J Hepatol*. 2011
10. Lalor BC, France MW, Powell D, et al. Bone and mineral metabolism and chronic alcohol abuse. *Q J Med*. 1986
11. Peris P, Pares A, Guanabens N, et al. Bone mass improves in alcoholics after 2 years of abstinence. *J Bone Miner Res*. 1994;
12. Li M, Xu Y, Xu M, et al. Association between nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and osteoporotic fracture in middle-aged and elderly Chinese. *J Clin Endocrinol Metab* 212
13. Purnak T, Beyazit Y, Ozaslan E, et al. The evaluation of bone mineral density in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Wien Klin Wochenschr*. 2012;
14. M. M. J. Guichelaar, R. Kendall, M. Malinchoc, and J. E. Hay, "Bone mineral density before and after OLT: long-term followup and predictive factors," *Liver Transplantation*, vol. 12, no. 9, pp. 1390–1402, 2006.
15. M. Ninkovic, S. J. Skingle, P. W. P. Bearcroft, N. Bishop, G. J. M. Alexander, and J. E. Compston, "Incidence of vertebral fractures in the first three months after orthotopic liver transplantation," *European Journal of Gastroenterology and Hepatology*, vol. 12, no. 8, pp. 931–935, 2000.
16. R. S. Weinstein, "Glucocorticoid-induced osteoporosis and osteonecrosis," *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, vol. 41, no. 3, pp. 595–611, 2012

17. T. Inoue, I. Kawamura, M. Matsuo et al., "Lesser reduction in bone mineral density by the immunosuppressant, FK506, compared with cyclosporine in rats," *Transplantation*, vol. 70, no. 5, pp. 774–779, 2000
18. Gong-bin Lan, Xu-biao Xie, Long-kai Peng, Lei Liu, Lei Song, and He-long Dai .Current Status of Research on Osteoporosis after Solid Organ Transplantation: Pathogenesis and Management. *Biomed Research international* 2015
19. Sokhi RP, Anantharaju A, Kondaveeti A et al Bone mineral density among cirrhotic patients awaiting liver transplantation. *Liver Transpl.* 2004;10:648-653.
20. Sharma, P., Parikh, N. D., Yu, J., Barman, P., Derstine, B. A., Sonnenday, C. J., ... Su, G. L. (2016). *Bone mineral density predicts posttransplant survival among hepatocellular carcinoma liver transplant recipients.* *Liver Transplantation*, 22(8), 1092–1098. doi:10.1002/lt.24458
21. Matthew T. Drake, Osteoporosis and Cancer. *Curr Osteoporos Rep.* 2013 September ; 11(3): 163–170. doi:10.1007/s11914-013-0154-3.
22. Villanueva A (2019) Hepatocellular Carcinoma. *New England Journal Medicine*. DOI: 10.1056/NEJMra1713263
23. Sapisochin, G., & Bruix, J. (2017). Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: outcomes and novel surgical approaches. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 14(4), 203–217. doi:10.1038/nrgastro.2016.193
24. Wu, D.-B., Wang, M.-L., Chen, E.-Q., & Tang, H. (2017). *New insights into the role of vitamin D in hepatocellular carcinoma.* *Expert Review of Gastroenterology & Hepatology*, 12(3), 287–294. doi:10.1080/17474124.2018.140630
25. Wu, Y.-Q., Fan, W.-Z., Xue, M., Guo, J., Wei, J.-L., Wang, Y., ... Li, J.-P. (2019). 25-OH-vitamin D deficiency identifies poor tumor response in hepatocellular carcinoma treated with transarterial chemoembolization. *Clinical and Translational Oncology*. doi:10.1007/s12094-019-02146-3
26. Rosen CJ. Clinical practice. Vitamin D insufficiency. *N Engl J Med.* 2011;364(3):248–54. <https://doi.org/10.1056/NEJMcp1009570>.
27. Nakchbandi IA. Osteoporosis and fractures in liver disease: Relevance, pathogenesis and therapeutic implications. *World J Gastroenterol* 2014; 20(28): 9427-9438
28. Lefkowitz JH. Scheuer's liver biopsy interpretation. 9a edición. Philadelphia: Elsevier. 2015.
29. Barr, R. G., Ferraioli, G., Palmeri, M. L., Goodman, Z. D., Garcia-Tsao, G., Rubin, J., ... Levine, D. (2015). *Elastography Assessment of Liver Fibrosis: Society of Radiologists in Ultrasound Consensus Conference Statement.* *Radiology*, 276(3), 845–861. doi:10.1148/radiol.201515061
30. Ge, P. S., & Runyon, B. A. (2016). *Treatment of Patients with Cirrhosis.* *New England Journal of Medicine*, 375(8), 767–777. doi:10.1056/nejmra1504367
31. Galle, P. R., Forner, A., Llovet, J. M., Mazzaferro, V., Piscaglia, F., Raoul, J.-L., ... Vilgrain, V. (2018). *EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma.* *Journal of Hepatology*, 69(1), 182–236. doi:10.1016/j.jhep.2018.03.019
32. Cosman, F., de Beur, S. J., LeBoff, M. S., Lewiecki, E. M., Tanner, B., Randall, S., & Lindsay, R. (2014). *Clinician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis.* *Osteoporosis International*, 25(10), 2359–2381. doi:10.1007/s00198-014-2794-2



33. Eastell, R., Rosen, C. J., Black, D. M., Cheung, A. M., Murad, M. H., & Shoback, D. (2019). *Pharmacological Management of Osteoporosis in Postmenopausal Women: An Endocrine Society\* Clinical Practice Guideline. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 104(5), 1595–1622. doi:10.1210/jc.2019-00221
34. Targher G, Bertolini L, Scala L, et al. Associations between serum 25-hydroxyvitamin D3 concentrations and liver histology in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2007;17:517-524.
35. Stokes CS, Krawczyk M, Reichel C, Lammert F, Grunhage F. Vitamin D deficiency is associated with mortality in patients with advanced liver cirrhosis. *Eur J Clin Invest* 2014;44:176-183. 73.
36. Anty R, Tonhouan M, Ferrari-Panaia P, et al. Low levels of 25-Hydroxy vitamin D are independently associated with the risk of bacterial infection in cirrhotic patients. *Clin Transl Gastroenterol* 2014;5:e56.
37. Bitetto D, Fabris C, Falleti E, et al. Vitamin D and the risk of acute allograft rejection following human liver transplantation. *Liver Int* 2010;30:417-444
38. Crawford, B. A., Labio, E. D., Strasser, S. I., & McCaughan, G. W. (2006). Vitamin D replacement for cirrhosis-related bone disease. *Nature Clinical Practice Gastroenterology & Hepatology*, 3(12), 689–699. doi:10.1038/ncpgasthep0637
39. Lai, J. C., Bikle, D. D., Lizaola, B., Hayssen, H., Terrault, N. A., & Schwartz, J. B. (2015). *Total 25(OH) vitamin D, free 25(OH) vitamin D and markers of bone turnover in cirrhotics with and without synthetic dysfunction. Liver International*, 35(10), 2294–2300. doi:10.1111/liv.12819
40. Bjelakovic, G., Nikolova, D., Bjelakovic, M., & Glud, C. (2017). *Vitamin D supplementation for chronic liver diseases in adults. Cochrane Database of Systematic Reviews*. doi:10.1002/14651858.cd011564.pu
41. Wariaghli, G., Mounach, A., Achemlal, L., Benbaghdadi, I., Aouragh, A., Bezza, A., & El Maghraoui, A. (2009). *Osteoporosis in chronic liver disease: a case–control study. Rheumatology International*, 30(7), 893–899. doi:10.1007/s00296-009-1071-8
42. Guañabens, N., & Parés, A. (2018). *Osteoporosis in chronic liver disease. Liver International*, 38(5), 776–785. doi:10.1111/liv.13730
43. Sandhu DS,<sup>1</sup> Esha Baichoo,<sup>2</sup> and Lewis R. Roberts (2015) Fibroblast Growth Factor Signaling in Liver Carcinogenesis. *Hepatology* DOI 10.1002/hep.26679
44. Yu C, Wang F, Jin C, Huang X, Miller DL, Basilico C, et al. Role of fibroblast growth factor type 1 and 2 in carbon tetrachloride-induced hepatic injury and fibrogenesis. *Am J Pathol* 2003;163:1653-1662

45. Finn RS. Development of molecularly targeted therapies in hepatocellular carcinoma: where do we go now? *Clin Cancer Res* 2010;16:390-397
46. Prie D, Urena Torres P, Friedlander G (2009) Latest findings in phosphate homeostasis. *Kidney Int* 75: 882–889
47. Razzaque MS, Lanske B. 2006. Hypervitaminosis D and premature aging: lessons learned from Fgf23 and Klotho mutant mice. *Trends in Molecular Medicine* 12:298-305.
48. Xu, L., Zhang, L., Zhang, H., Yang, Z., Qi, L., Wang, Y., & Ren, S. (2018). The participation of fibroblast growth factor 23 (FGF23) in the progression of osteoporosis via JAK/STAT pathway. *Journal of Cellular Biochemistry*, 119(5), 3819–3828.
49. Prié, D., Forand, A., Francoz, C., Elie, C., Cohen, I., Courbebaisse, M., ... Friedlander, G. (2013). *Plasma Fibroblast Growth Factor 23 Concentration Is Increased and Predicts Mortality in Patients on the Liver-Transplant Waiting List. PLoS ONE*, 8(6), e66182.doi:10.1371/journal.pone.0066182
50. Sedgwick, P. (2014). *Retrospective cohort studies: advantages and disadvantages. BMJ*, 348(jan24 1), g1072–g1072.doi:10.1136/bmj.g1072