

REVISIÓN

Osteoporosis y calcificación vascular: un escenario compartido



María Carmen García-Gómez^{a,*} y Gemma Vilahur^{b,c,*}

^a Servicio de Reumatología, Consorci Sanitari de Terrassa, Terrassa, Barcelona, España

^b Programa ICCCV-Institut de Recerca Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, IIB-Sant Pau, Barcelona, España

^c CIBERCV Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España

Recibido el 6 de febrero de 2019; aceptado el 11 de marzo de 2019

Disponibile en Internet el 17 de junio de 2019

PALABRAS CLAVE

Osteoporosis;
Fracturas óseas;
Calcificación
vascular;
Enfermedad
cardiovascular;
RANK/RANKL/OPG;
Vía de señalización
Wnt

Resumen La osteoporosis es una enfermedad esquelética sistémica, caracterizada por baja masa ósea y deterioro en la microarquitectura del tejido óseo, que origina un aumento de la fragilidad ósea y, en consecuencia, mayor susceptibilidad a fracturas. Es la enfermedad metabólica ósea más frecuente en nuestra población, y las fracturas resultantes de la osteoporosis son cada vez más comunes. Por otro lado, la calcificación vascular es un factor de riesgo reconocido de morbimortalidad cardiovascular, que históricamente era considerada como un proceso pasivo y degenerativo. Sin embargo, en la actualidad se reconoce como un proceso activo que tiene características histopatológicas, de composición mineral y de mecanismos de iniciación y desarrollo propias de la formación del hueso. Paradójicamente, los pacientes con osteoporosis muestran con frecuencia calcificaciones vasculares. Tradicionalmente se han considerado como procesos independientes relacionados con la edad, aunque estudios epidemiológicos recientes han evidenciado que existe una estrecha relación entre la pérdida de masa ósea y la calcificación vascular, independiente de la edad. De hecho, ambas entidades comparten factores de riesgo y mecanismos fisiopatológicos. Entre ellos destacan la relación entre proteínas de origen óseo, como la osteopontina y la osteoprotegerina, con la patología vascular, y el sistema intercelular proteico RANK/RANKL/OPG y la vía de señalización Wnt. Los mecanismos vinculados en ambas patologías deben considerarse en las decisiones clínicas, dado que los tratamientos para la osteoporosis podrían tener efectos imprevistos en la calcificación vascular, y a la inversa. En definitiva, una mejor comprensión de la relación entre ambas entidades puede contribuir a plantear estrategias para disminuir la prevalencia creciente de calcificación vascular y osteoporosis en la población que envejece.

© 2019 Sociedad Española de Arteriosclerosis. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correos electrónicos: ggcarme@gmail.com (M.C. García-Gómez), gvilahur@santpau.cat (G. Vilahur).

KEYWORDS

Osteoporosis;
 Bone fractures;
 Vascular calcification;
 Cardiovascular
 diseases;
 RANK/RANKL/OPG;
 Wnt signalling
 pathway

Osteoporosis and vascular calcification: A shared scenario

Abstract Osteoporosis is a systemic skeletal disease, characterised by low bone mass and deterioration in the micro-architecture of bone tissue, which causes increased bone fragility and consequently greater susceptibility to fractures. It is the most frequent metabolic bone disease in our population, and fractures resulting from osteoporosis are becoming more common. Furthermore, vascular calcification is a recognised risk factor of cardiovascular morbidity and mortality that historically has been considered a passive and degenerative process. However, it is currently recognised as an active process, which has histopathological characteristics, mineral composition and initiation and development mechanisms characteristic of bone formation. Paradoxically, patients with osteoporosis frequently show vascular calcifications. Traditionally, they have been considered as independent processes related to age, although more recent epidemiological studies have shown that there is a close relationship between the loss of bone mass and vascular calcification, regardless of age. In fact, both conditions share risk factors and pathophysiological mechanisms. These include the relationship between proteins of bone origin, such as osteopontin and osteoprotegerin (OPG), with vascular pathology, and the intercellular protein system RANK/RANKL/OPG and the Wnt signalling pathway. The mechanisms linked in both pathologies should be considered in clinical decisions, given that treatments for osteoporosis could have unforeseen effects on vascular calcification, and vice versa. In short, a better understanding of the relationship between both entities can help in proposing strategies to reduce the increasing prevalence of vascular calcification and osteoporosis in the aging population.

© 2019 Sociedad Española de Arteriosclerosis. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Osteoporosis

La osteoporosis es una enfermedad esquelética sistémica, caracterizada por baja masa ósea y deterioro en la microarquitectura del tejido óseo, que origina fragilidad ósea aumentada, con el consecuente aumento en el riesgo de fractura¹. Supone un grave problema de salud pública, ya que afecta a más de 200 millones de personas. La incidencia anual de fractura de cadera es de 1,7 millones en todo el mundo. Esta patología comporta a su vez un incremento de la morbimortalidad en estos pacientes, de tal forma que las mujeres con fractura de cadera tienen una mortalidad de un 10 a un 20% superior a lo esperado para su edad. Para el año 2050 se estima que la incidencia anual de fractura de cadera aumentará, con un total de 6,3 millones de afectados, debido principalmente al envejecimiento de la población mundial y al aumento en la incidencia de caídas en estos individuos². El hueso es un tejido conectivo con alta actividad metabólica que se encuentra bajo un proceso constante de renovación. La osteoporosis se produce por un desequilibrio entre la formación y la reabsorción del hueso, responsabilidad de los osteoblastos y osteoclastos, respectivamente³. Paradójicamente, los pacientes con osteoporosis muestran con frecuencia calcificaciones vasculares⁴.

Calcificación vascular**Tipos y mecanismos**

La calcificación vascular fue descrita por primera vez por el patólogo Rudolph Virchow en 1863, el cual la describió como un proceso parecido al de osificación⁵. De hecho, la calcificación vascular comparte una serie de características histopatológicas, composición mineral y de mecanismos de iniciación y desarrollo que caracterizan la formación del hueso. Se han descrito dos procesos capaces de inducir calcificación vascular, uno pasivo y otro activo. La calcificación pasiva es un proceso independiente de la actividad celular y resulta de la deposición de iones de calcio y fosfato sobre la elastina y las fibrillas de colágeno que componen el vaso debido a la afinidad de carga⁶. Concretamente, los iones de calcio tienen afinidad espontánea por los sitios de unión a la elastina y el colágeno. Estas estructuras, que inicialmente tienen una carga neutra, se cargan positivamente y atraen iones de fosfato y carbonato con carga negativa, lo que inicia el proceso de mineralización. Este fenómeno conduce a la formación de cristales de hidroxiapatita y la consiguiente calcificación de la matriz extracelular de manera amorfa. Por el contrario, la calcificación activa depende de la actividad celular, en donde la inflamación crónica juega un papel

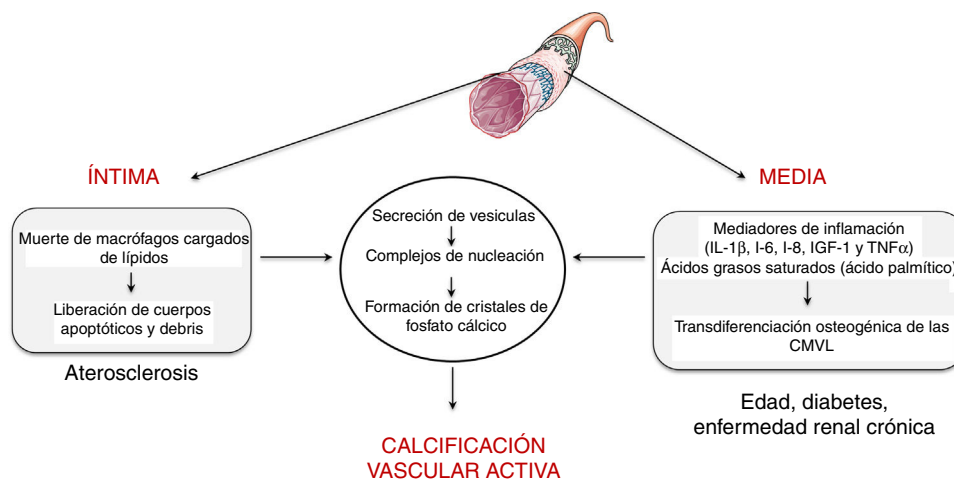


Figura 1 Mecanismos involucrados en la calcificación activa a nivel de la íntima (típica de lesiones ateroscleróticas) y la media (comúnmente asociada a la edad, a la diabetes y a la insuficiencia renal crónica). CMVL: células musculares vasculares lisas.

primordial⁷. De hecho, la relación causal entre inflamación vascular y calcificación se ha demostrado clínicamente⁸. Concretamente, se ha observado mediante tomografía por emisión de positrones, que la inflamación vascular precede a la calcificación vascular⁸. La calcificación activa puede desencadenarse tanto en la capa íntima como en la media de la pared vascular (fig. 1). Mientras que la calcificación intimal está asociada al desarrollo de la aterosclerosis, la calcificación de la media está asociada a la edad, a la diabetes y a la enfermedad renal crónica⁶.

La calcificación intimal viene determinada en gran medida por la respuesta inflamatoria que gobierna el desarrollo de la enfermedad aterosclerótica. Brevemente, el desarrollo del proceso aterogénico se inicia por la retención de las lipoproteínas de baja densidad (*low density lipoproteins* [LDL]) en la matriz extracelular subendotelial⁹. Estas lipoproteínas retenidas experimentan modificaciones (mayoritariamente asociadas a la oxidación) y son capaces de activar al endotelio vascular induciendo la expresión de moléculas de adhesión, citoquinas y factores de crecimiento que inician el reclutamiento de células proinflamatorias. Los monocitos atraídos se internalizan en la íntima vascular, donde se diferencian en macrófagos y son capaces de fagocitar y acumular el colesterol de las lipoproteínas oxidadas convirtiéndose en células espumosas¹⁰. Cuando la capacidad fagocítica de las células espumosas se ve superada por la cantidad de colesterol se desencadena su muerte celular, con la consiguiente liberación de cuerpos apoptóticos y restos necróticos, que sirven como centros de nucleación para la formación de cristales de fosfato de calcio.

En cuanto a la calcificación en la capa media, se cree que viene determinada en gran medida por la presencia y la actividad de mediadores inflamatorios. Diversos estudios han establecido que las citoquinas inflamatorias —interleuquina (IL)-1 β , IL-6, IL-8—, el factor de crecimiento insulínico tipo-1 y el factor de necrosis tumoral (TNF)- α son capaces de inducir *in vitro* la diferenciación osteogénica de células musculares lisas vasculares (*vascular smooth muscle cells* [VSMC]). De este modo, la presencia de un ambiente inflamatorio puede desencadenar una transformación osteogénica

de las VSMC. De la misma manera, también se ha descrito que los ácidos grasos saturados proinflamatorios, como el ácido palmítico, son capaces de inducir directamente la transdiferenciación de las VSMC hacia un fenotipo osteoblástico. Al igual que sucede en la formación del hueso, tanto los macrófagos/células espumosas en estado apoptótico presentes en la placa aterosclerótica como las células vasculares osteogénicas tienen la capacidad de liberar vesículas calcificantes y contribuyen así a las etapas iniciales de la calcificación intimal y medial, respectivamente. Específicamente, se ha sugerido que liberan vesículas que contienen lípidos (fosfocolina y fosfoetanolamina), proteínas (anequinas) y componentes iónicos (Ca²⁺ y fosfato inorgánico) necesarios para formar estructuras ancladas a la membrana que son el punto de partida para la formación de minerales de fosfato de calcio, un proceso conocido como nucleación (para más detalles, véase Krohn et al.¹¹).

También se ha postulado que la calcificación vascular ocurre cuando existe una mayor actividad en los inductores de la calcificación —receptor activador de factor nuclear κ B/ligando del receptor activador del factor nuclear κ B/osteoprotegerina (RANK/RANKL/OPG), la proteína morfogenética ósea (BMP)2/4 y los factores de transcripción (factor de transcripción relacionado con runt [RUNX-2] y de la proteína homeobox [MSX2])—, así como alteraciones en sus inhibidores —proteína ácida γ -carboxiglutámico (MGP), pirofosfato, fetuina-A, osteopontina (OPN), Klotho y osteoprotegerina—, los cuales se expresan de manera constitutiva tanto en el tejido como a nivel circulante (fig. 2; modificada de Nakahara et al.¹²).

Consecuencias clínicas a nivel cardiovascular

Impacto de los factores de riesgo cardiovascular sobre la calcificación coronaria y riesgo de eventos

En 1964, un estudio pionero publicado en *Lancet*¹³ describió que la calcificación de la arteria coronaria aumenta con el envejecimiento en igual grado en hombres como en mujeres, y que su prevalencia está incrementada en presencia de enfermedad isquémica coronaria. Concretamente, el

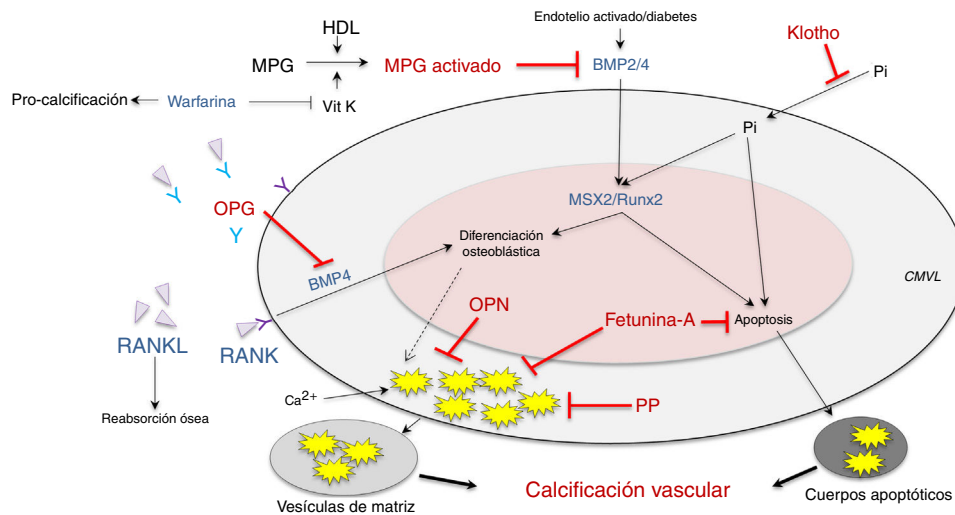


Figura 2 Inhibidores (rojo) e inductores (azul) de calcificación vascular a nivel de las células musculares vasculares lisas. BMP: proteína morfogenética ósea 2/4; CMVL: células musculares vasculares lisas; HDL: lipoproteínas de alta densidad; MGP: proteína de matriz del ácido g-carboxiglutámico; MPG: activador del receptor para el ligando del factor nuclear κ B (RANKL); MSX2: factor de transcripción relacionado con la proteína homeobox; OPG: osteoprotegerina; OPN: osteopontina; PP: pirofosfato; RUNX-2: factor de transcripción relacionado con runt; VitK: vitamina K.

estudio evidenció que en personas mayores de 65 años la presencia de calcificación en la arteria coronaria (*coronary artery calcium* [CAC]) se detectaba en el 60% de sujetos sanos y alrededor del 95% en pacientes con cardiopatía isquémica. Este estudio también destacó que la incidencia de calcificación por debajo de los 65 años era menor en las mujeres que en los hombres¹³.

Hasta la fecha, muchos estudios han examinado la relación entre el CAC y los factores de riesgo cardiovascular es convencionales. Prácticamente todos los estudios coinciden con las observaciones publicadas en *Lancet* en 1964, donde la edad y el género masculino son factores predictivos clave. Así, las mujeres retrasan el desarrollo y la extensión del CAC en 10 años. Sin embargo, los estudios no muestran un acuerdo consistente del impacto de los demás factores de riesgo cardiovascular sobre el desarrollo de calcificación coronaria. En este aspecto, Oei et al.¹⁴ reportaron que el 30% de los hombres y el 15% de las mujeres sin factores de riesgo cardiovascular presentaban una extensa calcificación coronaria, y por el contrario Silverman et al.¹⁵ observaron que alrededor del 35% de los sujetos con ≥ 3 factores de riesgo tienen cero CAC. En conjunto, estas observaciones sugieren que la presencia de factores de riesgo cardiovascular en sí misma no es un indicador fiable de CAC, y viceversa. Sin embargo, los estudios sí han validado que la presencia de una alta carga de CAC, incluso entre individuos sin factores de riesgo cardiovascular, se asocia con una tasa de eventos clínicos elevada, mientras que la ausencia de CAC, incluso entre aquellos con muchos factores de riesgo cardiovascular, se asocia con una tasa de eventos baja¹⁴.

Características del calcio (volumen y densidad) sobre el riesgo de eventos cardiovasculares

En 2008, el estudio *Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis* (MESA) analizó de manera prospectiva, en 6.722 participantes con edades entre 45 y 84 años y composición

multiétnica (39% blancos no hispanos, 12% chinoamericanos 28% afroamericanos y 22% hispanoamericanos), la influencia del volumen del CAC en el riesgo cardiovascular. Todos los participantes estaban libres de enfermedad cardiovascular basalmente y fueron seguidos durante 10 años. Los datos del estudio evidenciaron una relación directa entre el volumen de CAC y el riesgo de sufrir enfermedad coronaria, y consolidó el CAC como un fuerte predictor de futuros eventos cardiovasculares¹⁶. En línea con estas observaciones, una metaanálisis de 30 estudios prospectivos de cohorte demostró en 2009 que la presencia de calcificación vascular se asociaba con un mayor riesgo de muerte cardiovascular, eventos coronarios e infarto cerebral, así como de mortalidad por cualquier causa¹⁷. Es más, un estudio reciente del MESA acaba de demostrar que el CAC también se asocia fuertemente y de manera gradual con un mayor riesgo de eventos cardiovasculares asociados a enfermedad aterosclerótica, independientemente de los factores de riesgo estándar, y de manera similar por edad y género¹⁸. Sin embargo, es importante remarcar que un subestudio del ensayo MESA realizado en 3.398 sujetos detectó que, a diferencia del volumen, la densidad de CAC se asociaba de manera inversa y significativa con un mayor riesgo de enfermedad coronaria y cardiovascular independientemente del volumen del CAC¹⁹. Estos hallazgos apoyan el concepto de que las calcificaciones más grandes y densas pueden estabilizar las placas ateroscleróticas^{20,21}, mientras que las calcificaciones más pequeñas y dispersas parecen contribuir a la desestabilización de la placa^{22,23}. De hecho, Krishnamoorthy et al.²⁴ describieron que la calcificación irregular detectada por tomografía computarizada está probablemente asociada con la rotura de la placa. Por todo ello, parece más preciso recalcar que la morfología de la calcificación es la que determina directamente el riesgo cardiovascular asociado.

En cuanto al poder de la cuantificación del CAC en la estratificación del riesgo cardiovascular, las últimas recomendaciones clínicas de la ACC/AHA publicadas en 2013 para el uso de la cuantificación del CAC en pacientes asintomáticos se limita a los que presentan un riesgo estimado intermedio a fin de mejorar la evaluación del riesgo cardiovascular²⁵. Sin embargo, lo califican con un nivel de recomendación relativamente bajo (IIb). Por otro lado, el estudio MESA publicado en 2016 concluyó que si en un paciente detectamos ausencia de calcio coronario (*score* calcio = 0 en una tomografía computarizada coronaria) esto permite descartar la enfermedad coronaria con una probabilidad muy alta y reclasificar su riesgo cardiovascular a niveles más bajos²⁶.

Osteoporosis y calcificación vascular

Durante muchos años la coincidencia temporal entre la desmineralización del tejido óseo, característica de la osteoporosis, y la calcificación arterial que acompaña a la aterosclerosis se consideró casual al tratarse de dos enfermedades crónicas que aumentaban notablemente con la edad. Sin embargo, estudios epidemiológicos más recientes han evidenciado que existe una estrecha relación entre la pérdida de masa ósea y la calcificación vascular, que es independiente de la edad²⁷. Diversos estudios en la década de 1990 pusieron de manifiesto una asociación entre la osteoporosis y la calcificación vascular, particularmente entre las mujeres⁴. El estudio de Framingham mostró que las mujeres con mayor magnitud de pérdida ósea presentaban una progresión más grave de calcificación aórtica abdominal tras corregir por edad y otros factores etiopatológicos comunes²⁸. Esta asociación no fue tan manifiesta en hombres, lo que evidenció el papel crucial de los estrógenos en la fisiopatología subyacente. Posteriormente se ha observado que esta asociación entre osteoporosis y calcificación vascular también se detecta a nivel coronario, carotídeo y periférico^{29,30}. De hecho, estas dos condiciones comparten, además del envejecimiento, una multitud de factores de riesgo tales como la dislipidemia, la hipertensión, la diabetes tipo 2, el tabaquismo, el consumo de alcohol, la actividad física y la menopausia⁴. Si bien el sobrepeso es considerado un factor de riesgo cardiovascular, en la osteoporosis los individuos con bajo peso presentan un mayor riesgo de fractura³¹. Cabe destacar que esta paradoja también se ha atribuido a una respuesta específica del tejido a los procesos de inflamación crónica³². Concretamente, como se ha comentado en las secciones anteriores, mientras que una respuesta inflamatoria permanente promueve la formación de hueso a nivel vascular³³, por el contrario induce la descalcificación en los tejidos duros³⁴.

Además de compartir factores de riesgo, más recientemente se han sugerido mecanismos fisiopatológicos en común en ambas entidades, entre los que destacaríamos el sistema intercelular proteico RANK/RANKL/OPG, así como la vía de señalización Wnt.

Sistema RANK/RANKL/OPG

El sistema RANK/RANKL/OPG es el encargado de la activación y diferenciación de las células óseas³⁵. Todos sus

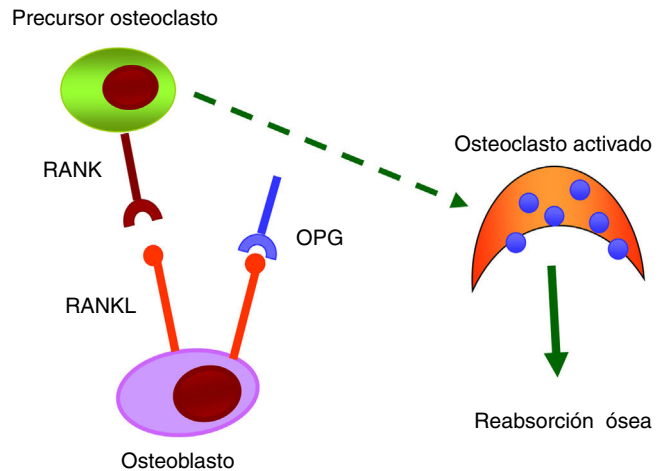


Figura 3 Sistema RANK/RANKL/OPG.

OPG: osteoprotegerina; RANK: receptor activador del factor nuclear κ B; RANKL: ligando del receptor activador del factor nuclear κ B.

componentes pertenecen a la familia de los TNF. El RANK es una proteína transmembrana que se expresa en la membrana de los osteoclastos, pero también en la superficie de linfocitos B y T, fibroblastos y células dendríticas. El RANKL es una proteína transmembrana expresada por osteoblastos y células mesenquimales. La unión del RANKL a su receptor natural RANK promueve la activación de la vía de señalización intracelular NF- κ B y, como resultado, genera la diferenciación de los preosteoclastos en osteoclastos maduros, facilitando la reabsorción de hueso. La OPG, proteína secretada por los osteoblastos y las células estromales de la médula ósea, se considera con actividad protectora del tejido óseo al impedir la unión RANK/RANKL e inhibir la diferenciación de preosteoclastos a osteoclastos maduros (fig. 3).

Numerosas evidencias científicas relacionan el sistema RANK/RANKL/OPG con las calcificaciones vasculares³⁶. En las primeras etapas del proceso de calcificación vascular las células del músculo liso vascular (CMLV) sufren un cambio de su fenotipo y empiezan a expresar marcadores osteogénicos que permitirían la mineralización de la matriz extracelular. Se ha observado que tanto la OPG como las proteínas RANKL y RANK están presentes en las placas ateroscleróticas y en la enfermedad valvular, y que su nivel de expresión varía en función del estadio de la enfermedad^{36,37}. La OPG parece ser protectora contra la calcificación vascular. Estudios realizados en ratones knockout para osteoprotegerina (OPG^{-/-}) han demostrado que desarrollaban calcificación arterial espontánea^{38,39}. En otros estudios también se ha observado que el RANKL aumenta la calcificación de las CMLV al unirse al RANK. En definitiva, se sugiere que la unión RANK/RANKL puede ser importante para promover la calcificación vascular, mientras que la OPG la inhibe⁴⁰.

Vía de señalización Wnt- β -catenina

Las vías de señalización Wnt juegan un papel importante en el desarrollo y el mantenimiento de muchos órganos y tejidos⁴¹, incluido el hueso. Sin embargo, el rol de las

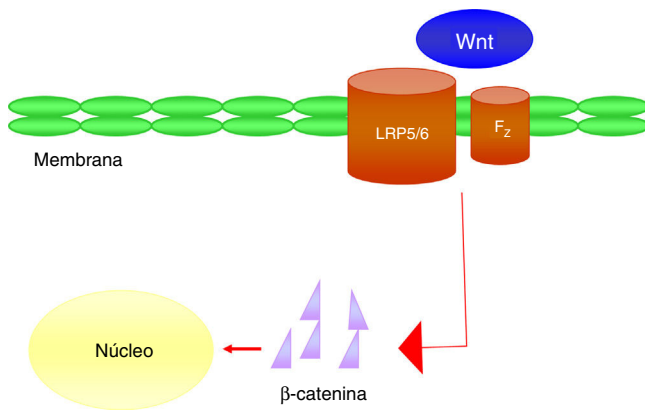


Figura 4 Vía de señalización Wnt.

Fz: receptor *frizzled*; LRP5/6: proteína relacionada con el receptor de LDL.

vías de señalización Wnt en la pared del vaso es aún poco conocido⁴².

Se trata de un grupo de vías de transducción de señales formadas por proteínas que transfieren las señales del exterior de una célula a través de la superficie receptora de dicha célula hasta su interior. Las proteínas Wnt señalizan mediante varias vías para regular el crecimiento, la diferenciación, la función y la muerte celular. En particular, la ruta Wnt-β-catenina o canónica parece ser importante para la biología ósea, por ser crucial en la diferenciación de osteoblastos y la formación de hueso⁴³. La actividad de la vía de señalización Wnt-β-catenina dependerá de la concentración citoplasmática de β-catenina y del funcionamiento adecuado del complejo co-receptor formado por una proteína relacionada con el receptor de LDL (LRP5/6) y un receptor *frizzled* (Fz), que implica la activación de mecanismos de transcripción génica en el núcleo mediados por β-catenina, y que a su vez regulará la expresión de genes relacionados con la diferenciación o la función del osteoblasto (fig. 4). La esclerostina y la proteína Dkk1 (Dickkopf-1) son los principales antagonistas de la vía Wnt al unirse a los receptores de membrana (fundamentalmente LRP-5 y -6) e inhibir la activación de dicha vía y, en consecuencia, la actividad osteoblástica.

A nivel vascular se ha observado en mujeres de edad avanzada que los niveles plasmáticos de Dkk1, inhibidor de la vía Wnt, se asocian inversamente con la presencia de calcificaciones arteriales⁴⁴. Estos datos apoyan el concepto de que la señalización Wnt-β-catenina es un importante regulador del metabolismo mineral vascular. Debido a las similitudes entre la formación ósea y la calcificación, se considera que la inactivación de la vía de Wnt podría atenuar el proceso de la calcificación vascular.

Influencia del tratamiento de los factores de riesgo cardiovascular en el metabolismo óseo

Hipolipemiantes

Artículos publicados recientemente sugieren que el uso de estatinas se asocia con un aumento de la densidad mineral ósea (DMO) y una reducción del riesgo de fractura, incluso tras ajustar por edad, sexo y comorbilidades⁴⁵. Este

efecto protector mejora de forma paralela con las dosis acumuladas de estatinas o con el tiempo de exposición y depende de la potencia de las mismas⁴⁶. Las estatinas de alta potencia (atorvastatina y rosuvastatina) y de potencia moderada (simvastatina) son más efectivas para disminuir el nuevo desarrollo de osteoporosis; sin embargo, no se ha observado asociación entre la osteoporosis de inicio reciente y las estatinas de baja potencia (lovastatina, pravastatina y fluvastatina). Este efecto positivo de las estatinas sobre el hueso se atribuye en parte a su capacidad de inhibir la osteoclastogénesis, debido a que incrementan la expresión del ARNm de la OPG, que impide la unión RANK/RANKL, y así la diferenciación de preosteoclastos a osteoclastos maduros⁴⁷. Los datos sobre los efectos óseos de los agonistas del receptor peroxisoma-proliferador-activado α (*peroxisome proliferator-activated receptor* [PPARα]), incluido el fenofibrato, son muy limitados y contradictorios. En modelos animales se ha observado que disminuyen la expresión de osteocalcina en los osteoblastos, lo que afecta negativamente a la estructura y a la resistencia ósea⁴⁸; pero también se ha sugerido que pueden prevenir la pérdida ósea, al disminuir la formación de osteoclastos en cultivos derivados de la médula de ratón⁴⁹. En la actualidad no hay datos disponibles en la literatura respecto al efecto que ejercen los inhibidores de la proproteína convertasa subtilisina/kexina tipo 9 (*proproteín convertase subtilisin/kexin type 9* [PSC99]) sobre el hueso.

Hipoglucemiantes

Los pacientes con diabetes tienen mayor riesgo de fracturas, no solo por disminuir la DMO, sino también por alterar la calidad del hueso, especialmente en diabetes mellitus tipo 2 (DM2)⁵⁰. Tanto la deficiencia de insulina como la hiperglucemia deterioran el hueso. Por tanto, sería de esperar que los fármacos que mejoran el control de la diabetes pudiesen prevenir los cambios en el tejido óseo, aunque esto no parece ser así con todos los fármacos.

Respecto a los antidiabéticos orales, se ha observado en algunos estudios un potencial efecto positivo de la metformina sobre el hueso, mostrando una reducción de hasta un 20% el riesgo de fractura⁵¹, a diferencia del estudio *A Diabetes Outcome Progression Trial* (ADOPT), en el que no se demostró un efecto beneficioso de la metformina sobre el riesgo de fractura⁵². Sin embargo, los modelos *in vitro* sugieren que la metformina puede tener un efecto osteogénico directo al promover la diferenciación del linaje de osteoblastos de las células estromales multipotenciales derivadas de tejido adiposo, lo que favorece la formación de hueso⁵³. El uso de sulfonilureas se considera neutral o mínimo para el hueso humano, al no haberse observado una clara correlación entre el uso de estos agentes y la incidencia de fracturas⁵⁴. Se debe prestar especial atención al tratamiento de la diabetes con tiazolidinedionas o glitazonas, agonistas del PPARγ, particularmente en mujeres mayores, debido a que se ha demostrado en ensayos clínicos aleatorizados un aumento del riesgo de fractura con esta clase de fármacos^{55,56}. Se considera que es un efecto de clase, y los factores de riesgo relacionados con el aumento de las fracturas en los usuarios de glitazonas son el sexo femenino, el aumento de la edad, las condiciones preexistentes (comorbilidades, el uso de glucocorticoides, el

tabaquismo y el historial de fracturas previas) y la duración del tratamiento⁵⁷. Los agonistas PPAR γ favorecen la diferenciación de la célula madre mesenquimal hacia el adipocito en detrimento de la osteoblastogénesis⁴⁹. Además, se ha descrito que estimulan la producción de RANKL, hecho que favorece la osteoclastogénesis⁵⁸. En relación con las incretinas y los inhibidores de la dipeptidil peptidasa-4 (*dipeptidyl peptidase-4* [DPP-4]), en un metaanálisis sobre ensayos clínicos aleatorizados se observó que las incretinas no modificaban el riesgo de fractura ósea en pacientes con DM2⁵⁹, mientras que los DPP-4 se cree que podrían tener un efecto positivo sobre el metabolismo óseo y podrían reducir el riesgo de fractura⁶⁰, aunque estos resultados no se han confirmado en otro metaanálisis posterior⁶¹. Si bien modelos *in vitro* y en animales han mostrado que inhiben la reabsorción ósea, a la vez que promueven la formación y la calidad del hueso⁵⁷, se necesitan ensayos clínicos para aclarar si existen efectos similares y clínicamente relevantes en humanos. Respecto a los inhibidores del co-transportador de sodio-glucosa tipo 2 (*type 2 sodium-glucose cotransporter* [SGLT2]), también conocidos como gliflozinas, los datos disponibles son controvertidos. Según un metaanálisis que incluía 38 ensayos clínicos aleatorizados, no se observaron diferencias en el riesgo de fracturas entre los pacientes tratados con SGLT2 (dapagliflozina, canagliflozina o empagliflozina) y los controles⁶². Sin embargo, en el estudio *CANagliflozin Cardiovascular Assessment Study* (CANVAS) se observó un aumento del riesgo de fracturas con el tratamiento con canagliflozina⁶³. El uso de insulina se ha asociado a un incremento de fracturas^{54,64}, en parte atribuido a una mayor propensión a presentar episodios de hipoglucemia, y en consecuencia a un incremento en el riesgo de caídas⁶⁵. También se ha observado en modelos animales que la alteración del flujo sanguíneo óseo estimulado por la insulina se asocia con cambios perjudiciales en la microarquitectura trabecular ósea y propiedades biomecánicas corticales en DM2. Esto sugiere que la disfunción vascular podría jugar un papel causal en la fragilidad ósea diabética⁶⁶.

Antihipertensivos

Existen datos en la literatura que confirman que los diuréticos tiazídicos tienen un efecto positivo en la densidad de la masa ósea y en la reducción del riesgo de fractura⁶⁷. Tradicionalmente estos efectos se han atribuido al aumento de la reabsorción renal de calcio que se produce como consecuencia de la inhibición del co-transportador de cloruro de sodio sensible a la tiazida en el túbulo distal⁶⁸. Posteriormente se ha observado en modelos animales que estimulan la producción de los marcadores de diferenciación de osteoblastos relacionados con el Runx2 y la OPN⁶⁹. Los diuréticos de asa se han asociado con un efecto negativo sobre el tejido óseo⁷⁰, mientras que la espironolactona parece tener el potencial de preservar la DMO en el contexto de hiperaldosteronismo primario o secundario. Respecto a los fármacos que bloquean el sistema renina-angiotensina, los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) y los fármacos bloqueadores de receptores de angiotensina II (ARA-II), se considera que ejercen un efecto benéfico sobre el hueso, al observarse una discreta disminución en el riesgo de fractura⁷¹, sobre todo con los ARA-II⁷². Aun así, los estudios realizados hasta el momento son escasos y tienen limitaciones, por lo

que no hay un consenso concluyente al respecto. Existen pocos estudios que evalúen el efecto de los betabloqueantes en el hueso. En modelos animales se ha demostrado que inhiben la reabsorción ósea al inhibir la osteoclastogénesis mediada por el RANKL⁷³. Un reciente metaanálisis mostró una reducción del riesgo de fractura del 15% en los pacientes tratados con betabloqueantes, y los agentes cardioselectivos fueron los más efectivos⁷⁴. Respecto a los bloqueadores de los canales de calcio, los datos disponibles hasta la actualidad no han mostrado ningún efecto considerable de estos fármacos sobre el metabolismo óseo⁷⁵. No se dispone de datos respecto al efecto de los α -bloqueantes en el hueso, probablemente por ser los antihipertensivos menos utilizados. Sin embargo, se considera que indirectamente pueden aumentar el riesgo de fractura de fémur, debido a su efecto vasodilatador, que induce hipotensión arterial y, en consecuencia, aumenta el riesgo de caídas y fracturas.

Influencia de los tratamientos para la osteoporosis en las calcificaciones vasculares o riesgo cardiovascular

Suplementos de calcio

Existe controversia sobre el papel de los suplementos de calcio en las calcificaciones vasculares y en los procesos ateroscleróticos. Según datos obtenidos de la cohorte Framingham, la ingesta de calcio basal en la dieta y suplementos no parece aumentar ni disminuir la calcificación vascular después de 4 años⁷⁶. Sin embargo, en un estudio de cohorte longitudinal que incluía 61.433 mujeres con un seguimiento de 19 años se observó una relación en forma de U con la ingesta total de calcio, de forma que la ingesta de calcio > 1.400 mg/día se asoció con una mayor mortalidad en general, incluida la de causa cardiovascular. Cabe subrayar que esta relación era más pronunciada con el uso de suplementos que con el calcio de la dieta⁷⁷. La relación del consumo de calcio y el riesgo cardiovascular es complejo y parece depender de la dosis y de la fuente de ingesta de calcio. Aun así, por la evidencia disponible se considera que la dosis recomendada de 1.000-1.200 mg/día no parece perjudicial a nivel cardiovascular, especialmente si el aporte procede de la dieta⁷⁸.

Moduladores selectivos de los receptores estrogénicos

El papel de los moduladores selectivos de los receptores estrogénicos (*selective estrogen receptor modulator* [SERM]) sobre las calcificaciones vasculares es desconocido. En modelos *in vitro* se ha observado que el estradiol y el raloxifeno afectan la secreción de OPG de las células endoteliales, lo que puede sugerir un papel modificador en la patogénesis de la calcificación vascular en mujeres posmenopáusicas^{20,21,79}.

Fármacos antirresortivos

Los bifosfonatos parecen tener el potencial de reducir la progresión de las calcificaciones vasculares, dependiendo del tipo, la potencia, la dosificación y la vía de administración. Este efecto es más modesto con los bifosfonatos nitrogenados o aminados administrados por vía oral⁸⁰. El denosumab, anticuerpo monoclonal que actúa como un inhibidor del ligando RANK (RANKL), no ha demostrado tener efecto sobre

la progresión de la calcificación aórtica ni en la incidencia de eventos cardiovasculares respecto a placebo⁸¹.

Fármacos osteoformadores

Apenas existen datos en la literatura en relación a la teriparatida (análogo de la hormona paratiroidea humana) y las calcificaciones vasculares. En modelos animales se ha observado que la teriparatida no afectó al contenido de calcio de los depósitos cardiovasculares⁸².

Conclusiones

Las evidencias disponibles señalan la interacción entre la pérdida de masa ósea y las calcificaciones vasculares. La naturaleza de esta relación es muy compleja y su importancia clínica aún no está clara. Ambos procesos comparten muchos de los factores de riesgo conocidos para la enfermedad cardiovascular, y se han sugerido mecanismos fisiopatológicos implicados en ambas entidades, entre los que destacaríamos el sistema RANKL/RANK/OPG y la vía de señalización de Wnt. De acuerdo con esta visión holística, los pacientes con osteoporosis podrían beneficiarse de una evaluación de su riesgo cardiovascular, así como los pacientes con enfermedad cardiovascular de una evaluación de su riesgo de fractura ósea. Los mecanismos vinculados en ambas entidades deben considerarse en las decisiones clínicas, dado que los tratamientos para la osteoporosis pueden tener efectos imprevistos en la calcificación arterial, y a la inversa. En particular se considera que las estatinas y las tiazidas pueden tener un efecto beneficioso sobre el hueso, así como los bifosfonatos sobre las calcificaciones arteriales. Por el contrario, se desaconseja el uso de los agonistas PPAR γ (tiazolidinedionas o glitazonas), al demostrar en ensayos clínicos aleatorizados un aumento del riesgo de fractura, especialmente en mujeres de edad avanzada.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis, and Therapy, March 7-29, 2000: Highlights of the conference. *South Med J.* 2001;94:569-73.
2. Lampropoulos CE, Papaioannou I, d'Cruz DP. Osteoporosis—a risk factor for cardiovascular disease? *Nat Rev Rheumatol.* 2012;8:587-98.
3. Boudin E, van Hul W. Mechanisms in endocrinology: Genetics of human bone formation. *Eur J Endocrinol.* 2017;177:R69-83.
4. Vassalle C, Mazzone A. Bone loss and vascular calcification: A bi-directional interplay? *Vascul Pharmacol.* 2016;86:77-86.
5. Virchow R. Cellular pathology. As based upon physiological and pathological histology. Lecture xvi-atheromatous affection of arteries. 1858. *Nutr Rev.* 1989;47:23-5.
6. Sage AP, Tintut Y, Demer LL. Regulatory mechanisms in vascular calcification. *Nat Rev Cardiol.* 2010;7:528-36.
7. Abedin M, Tintut Y, Demer LL. Vascular calcification: Mechanisms and clinical ramifications. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24:1161-70.
8. New SE, Aikawa E. Cardiovascular calcification: An inflammatory disease. *Circ J.* 2011;75:1305-13.
9. Badimon L, Padro T, Vilahur G. Atherosclerosis, platelets and thrombosis in acute ischaemic heart disease. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care.* 2012;1:60-74.
10. Badimon L, Vilahur G. Thrombosis formation on atherosclerotic lesions and plaque rupture. *J Intern Med.* 2014;276:618-32.
11. Krohn JB, Hutcheson JD, Martinez-Martinez E, Aikawa E. Extracellular vesicles in cardiovascular calcification: Expanding current paradigms. *J Physiol.* 2016;594:2895-903.
12. Nakahara T, Dweck MR, Narula N, Pisapia D, Narula J, Strauss HW. Coronary artery calcification: From mechanism to molecular imaging. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2017;10:582-93.
13. Oliver MF, Samuel E, Morley P, Young GB, Kapur PL. Detection of coronary-artery calcification during life. *Lancet.* 1964;1:891-5.
14. Oei HH, Vliedgenhart R, Hofman A, Oudkerk M, Wittman JC. Risk factors for coronary calcification in older subjects. The Rotterdam coronary calcification study. *Eur Heart J.* 2004;25:48-55.
15. Silverman MG, Blaha MJ, Krumholz HM, Budoff MJ, Blankstein R, Sibley CT, et al. Impact of coronary artery calcium on coronary heart disease events in individuals at the extremes of traditional risk factor burden: The multi-ethnic study of atherosclerosis. *Eur Heart J.* 2014;35:2232-41.
16. Detrano R, Guerci AD, Carr JJ, Bild DE, Burke G, Folsom AR, et al. Coronary calcium as a predictor of coronary events in four racial or ethnic groups. *N Engl J Med.* 2008;358:1336-45.
17. Rennenberg RJ, Kessels AG, Schurgers LJ, van Engelshoven JM, de Leeuw PW, Kroon AA. Vascular calcifications as a marker of increased cardiovascular risk: A meta-analysis. *Vasc Health Risk Manag.* 2009;5:185-97.
18. Budoff MJ, Young R, Burke G, Jeffrey Carr J, Detrano RC, Folsom AR, et al. Ten-year association of coronary artery calcium with atherosclerotic cardiovascular disease (ASCVD) events: The multi-ethnic study of atherosclerosis (mesa). *Eur Heart J.* 2018;39:2401-8.
19. Criqui MH, Denenberg JO, Ix JH, McClelland RL, Wassel CL, Rifkin DE, et al. Calcium density of coronary artery plaque and risk of incident cardiovascular events. *JAMA.* 2014;311:271-8.
20. Choi BG, Vilahur G, Badimon JJ. Letter by Choi et al. regarding article, "Effects of the selective estrogen receptor modulator raloxifene on coronary outcomes in the raloxifene use for the heart trial: Results of subgroup analyses by age and other factors". *Circulation.* 2009;120:e147, author reply e148.
21. Choi BG, Vilahur G, Zafar MU, Cardoso L, Yadegar D, Ibanez B, et al. Selective estrogen receptor modulation influences atherosclerotic plaque composition in a rabbit menopause model. *Atherosclerosis.* 2008;201:76-84.
22. Thomas IC, Forbang NI, Criqui MH. The evolving view of coronary artery calcium and cardiovascular disease risk. *Clin Cardiol.* 2018;41:144-50.
23. Ehara S, Kobayashi Y, Yoshiyama M, Shimada K, Shimada Y, Fukuda D, et al. Spotty calcification typifies the culprit plaque in patients with acute myocardial infarction: An intravascular ultrasound study. *Circulation.* 2004;110:3424-9.
24. Krishnamoorthy P, Vengrenyuk Y, Ueda H, Yoshimura T, Pena J, Motoyama S, et al. Three-dimensional volumetric assessment of coronary artery calcification in patients with stable coronary artery disease by OCT. *EuroIntervention.* 2017;13:312-9.
25. Goff DC Jr, Lloyd-Jones DM, Bennett G, Coady S, d'Agostino RB Sr, Gibbons R, et al. 2013 ACC/AHA guideline on the assessment of cardiovascular risk: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol.* 2014;63:2935-59.
26. Blaha MJ, Cainzos-Achirica M, Greenland P, McEvoy JW, Blankstein R, Budoff MJ, et al. Role of coronary artery calcium score of zero and other negative risk markers for cardiovascular disease: The multi-ethnic study of atherosclerosis (mesa). *Circulation.* 2016;133:849-58.

27. Vassalle C, Maffei S GI, Iervasi G. Bone Remodeling Biomarkers: New Actors on the Old Cardiovascular Stage. 2015, <http://dx.doi.org/10.1002/9783527680658.ch7>.
28. Kiel DP, Kauppila LI, Cupples LA, Hannan MT, O'Donnell CJ, Wilson PW. Bone loss and the progression of abdominal aortic calcification over a 25 year period: The framingham heart study. *Calcif Tissue Int.* 2001;68:271–6.
29. Hyder JA, Allison MA, Wong N, Papa A, Lang TF, Sirlin C, et al. Association of coronary artery and aortic calcium with lumbar bone density: The MESA abdominal aortic calcium study. *Am J Epidemiol.* 2009;169:186–94.
30. Varri M, Tuomainen TP, Honkanen R, Rikkonen T, Niskanen L, Kroger H, et al. Carotid intima-media thickness and calcification in relation to bone mineral density in postmenopausal women — The OSTPRE-BBA study. *Maturitas.* 2014;78:304–9.
31. De Laet C, Kanis JA, Oden A, Johanson H, Johnell O, Delmas P, et al. Body mass index as a predictor of fracture risk: A meta-analysis. *Osteoporos Int.* 2005;16:1330–8.
32. London GM. Bone-vascular cross-talk. *J Nephrol.* 2012;25:619–25.
33. Demer LL, Tintut Y. Inflammatory, metabolic, and genetic mechanisms of vascular calcification. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2014;34:715–23.
34. Al-Daghri NM, al-Attas OS, Yakout SM, Alnaami AM, Wani K, Alokaikail MS. The association of serum 25-OH vitamin D with asthma in Saudi adults. *Medicine (Baltimore).* 2018;97:e12286.
35. Boyce BF, Xing L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Arch Biochem Biophys.* 2008;473:139–46.
36. Kawakami R, Nakagami H, Noma T, Ohmori K, Kohno M, Morishita R. RANKL system in vascular and valve calcification with aging. *Inflammation and Regeneration.* 2016;36:10.
37. Sandberg WJ, Yndestad A, Oie E, Smith C, Ueland T, Ovchinnikova O, et al. Enhanced t-cell expression of rank ligand in acute coronary syndrome: Possible role in plaque destabilization. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26:857–63.
38. Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, Morony S, Tarpley J, Capparelli C, et al. Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev.* 1998;12:1260–8.
39. Callegari A, Coons ML, Ricks JL, Rosenfeld ME, Scatena M. Increased calcification in osteoprotegerin-deficient smooth muscle cells: Dependence on receptor activator of NF-kappaB ligand and interleukin 6. *J Vasc Res.* 2014;51:118–31.
40. Weiss RM, Lund DD, Chu Y, Brooks RM, Zimmerman KA, el Accaoui R, et al. Osteoprotegerin inhibits aortic valve calcification and preserves valve function in hypercholesterolemic mice. *PLoS One.* 2013;8:e65201.
41. Steinhart Z, Angers S. Wnt signaling in development and tissue homeostasis. *Development.* 2018;145:dev146589.
42. Badimon L, Borrell-Pages M. Wnt signaling in the vessel wall. *Curr Opin Hematol.* 2017;24:230–9.
43. Karner CM, Long F. Wnt signaling and cellular metabolism in osteoblasts. *Cell Mol Life Sci.* 2017;74:1649–57.
44. Touw WA, Ueland T, Bollerslev J, Schousboe JT, Lim WH, Wong G, et al. Association of circulating Wnt antagonists with severe abdominal aortic calcification in elderly women. *J Endocr Soc.* 2017;1:26–38.
45. An T, Hao J, Sun S, Li R, Yang M, Cheng G, et al. Efficacy of statins for osteoporosis: A systematic review and meta-analysis. *Osteoporos Int.* 2017;28:47–57.
46. Lin KB, Yang NP, Lee YH, Chan CL, Wu CH, Chen HC, et al. The incidence and factors of hip fractures and subsequent morbidity in Taiwan: An 11-year population-based cohort study. *PLoS One.* 2018;13:e0192388.
47. Tsubaki M, Satou T, Itoh T, Imano M, Yanae M, Kato C, et al. Bisphosphonate- and statin-induced enhancement of OPG expression and inhibition of CD9, M-CSF, and RANKL expressions via inhibition of the Ras/MEK/ERK pathway and activation of p38MAPK in mouse bone marrow stromal cell line ST2. *Mol Cell Endocrinol.* 2012;361:219–31.
48. Shi T, Lu K, Shen S, Tang Q, Zhang K, Zhu X, et al. Fenofibrate decreases the bone quality by down regulating Runx2 in high-fat-diet induced type 2 diabetes mellitus mouse model. *Lipids Health Dis.* 2017;16:201.
49. Patel JJ, Butters OR, Arnett TR. PPAR agonists stimulate adipogenesis at the expense of osteoblast differentiation while inhibiting osteoclast formation and activity. *Cell Biochem Funct.* 2014;32:368–77.
50. Valderrabano RJ, Linares MI. Diabetes mellitus and bone health: Epidemiology, etiology and implications for fracture risk stratification. *Clin Diabetes Endocrinol.* 2018;4:9.
51. Vestergaard P, Rejnmark L, Mosekilde L. Relative fracture risk in patients with diabetes mellitus, and the impact of insulin and oral antidiabetic medication on relative fracture risk. *Diabetologia.* 2005;48:1292–9.
52. Kahn R, Robertson RM, Smith R, Eddy D. The impact of prevention on reducing the burden of cardiovascular disease. *Diabetes Care.* 2008;31:1686–96.
53. Smieszek A, Tomaszewski KA, Kornicka K, Marycz K. Metformin promotes osteogenic differentiation of adipose-derived stromal cells and exerts pro-osteogenic effect stimulating bone regeneration. *J Clin Med.* 2018;7:E482.
54. Losada E, Soldevila B, Ali MS, Martinez-Laguna D, Nogues X, Puig-Domingo M, et al. Real-world antidiabetic drug use and fracture risk in 12,277 patients with type 2 diabetes mellitus: A nested case-control study. *Osteoporos Int.* 2018;29:2079–86.
55. Zhang X, Geiss LS, Cheng YJ, Beckles GL, Gregg EW, Kahn HS. The missed patient with diabetes: How access to health care affects the detection of diabetes. *Diabetes Care.* 2008;31:1748–53.
56. Viscoli CM, Inzucchi SE, Young LH, Insogna KL, Conwit R, Furie KL, et al., IRIS Trial Investigators. Pioglitazone and risk for bone fracture: Safety data from a randomized clinical trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 2017;102:914–22.
57. Vianna AGD, de Lacerda CS, Pechmann LM, Polesel MG, Marino EC, Borba VZC, et al. Vildagliptin has the same safety profile as a sulfonylurea on bone metabolism and bone mineral density in post-menopausal women with type 2 diabetes: A randomized controlled trial. *Diabetol Metab Syndr.* 2017;9:35.
58. Wei W, Wang X, Yang M, Smith LC, Dechow PC, Sonoda J, et al. PGC1beta mediates PPARgamma activation of osteoclastogenesis and rosiglitazone-induced bone loss. *Cell Metab.* 2010;11:503–16.
59. Mabileau G, Mieczkowska A, Chappard D. Use of glucagon-like peptide-1 receptor agonists and bone fractures: A meta-analysis of randomized clinical trials. *J Diabetes.* 2014;6:260–6.
60. Monami M, Dicembrini I, Antenore A, Mannucci E. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and bone fractures: A meta-analysis of randomized clinical trials. *Diabetes Care.* 2011;34:2474–6.
61. Fu J, Zhu J, Hao Y, Guo C, Zhou Z. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and fracture risk: An updated meta-analysis of randomized clinical trials. *Sci Rep.* 2016;6:29104.
62. Tang HL, Li DD, Zhang JJ, Hsu YH, Wang TS, Zhai SD, et al. Lack of evidence for a harmful effect of sodium-glucose co-transporter 2 (SGLT2) inhibitors on fracture risk among type 2 diabetes patients: A network and cumulative meta-analysis of randomized controlled trials. *Diabetes Obes Metab.* 2016;18:1199–206.
63. Bilezikian JP, Watts NB, Usiskin K, Poldori D, Fung A, Sullivan D, et al. Evaluation of bone mineral density and bone biomarkers in patients with type 2 diabetes treated with canagliflozin. *J Clin Endocrinol Metab.* 2016;101:44–51.
64. Srikanthan P, Crandall CJ, Miller-Martinez D, Seeman TE, Green-dale GA, Binkley N, et al. Insulin resistance and bone strength:

- Findings from the study of midlife in the united states. *J Bone Miner Res.* 2014;29:796–803.
65. Horvath K, Jeitler K, Berghold A, Ebrahim SH, Gratzner TW, Plank J, et al. Long-acting insulin analogues versus NPH insulin (human isophane insulin) for type 2 diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007. CD005613.
 66. Losada-Grande E, Hawley S, Soldevila B, Martinez-Laguna D, Nogues X, Diez-Perez A, et al. Insulin use and excess fracture risk in patients with type 2 diabetes: A propensity-matched cohort analysis. *Sci Rep.* 2017;7:3781.
 67. Puttnam R, Davis BR, Pressel SL, Whelton PK, Cushman WC, Louis GT, et al., Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT) Collaborative Research Group. Association of 3 different antihypertensive medications with hip and pelvic fracture risk in older adults: Secondary analysis of a randomized clinical trial. *JAMA Intern Med.* 2017;177:67–76.
 68. Gesek FA, Friedman PA. Mechanism of calcium transport stimulated by chlorothiazide in mouse distal convoluted tubule cells. *J Clin Invest.* 1992;90:429–38.
 69. Dvorak MM, de Joussineau C, Carter DH, Pisitkun T, Knepper MA, Gamba G, et al. Thiazide diuretics directly induce osteoblast differentiation and mineralized nodule formation by interacting with a sodium chloride co-transporter in bone. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18:2509–16.
 70. Lim LS, Fink HA, Blackwell T, Taylor BC, Ensrud KE. Loop diuretic use and rates of hip bone loss and risk of falls and fractures in older women. *J Am Geriatr Soc.* 2009;57:855–62.
 71. Torstensson M, Hansen AH, Leth-Moller K, Jorgensen TS, Sahlberg M, Andersson C, et al. Danish register-based study on the association between specific cardiovascular drugs and fragility fractures. *BMJ Open.* 2015;5:e009522.
 72. Ruths S, Bakken MS, Ranhoff AH, Hunnskaar S, Engesaeter LB, Engeland A. Risk of hip fracture among older people using antihypertensive drugs: A nationwide cohort study. *BMC Geriatr.* 2015;15:153.
 73. Khosla S, Drake MT, Volkman TL, Thicke BS, Achenbach SJ, Atkinson EJ, et al. Sympathetic beta1-adrenergic signaling contributes to regulation of human bone metabolism. *J Clin Invest.* 2018;128:4832–42.
 74. Toulis KA, Stagnaro-Green A, Negro R. Maternal subclinical hypothyroidism and gestational diabetes mellitus: A meta-analysis. *Endocr Pract.* 2014;20:703–14.
 75. Barzilay JI, Davis BR, Pressel SL, Ghosh A, Puttnam R, Margolis KL, et al. The impact of antihypertensive medications on bone mineral density and fracture risk. *Curr Cardiol Rep.* 2017;19:76.
 76. Samelson EJ, Booth SL, Fox CS, Tucker KL, Wang TJ, Hoffmann U, et al. Calcium intake is not associated with increased coronary artery calcification: The Framingham study. *Am J Clin Nutr.* 2012;96:1274–80.
 77. Michaëlsson K, Melhus H, Warensjo Lemming E, Wolk A, Byberg L. Long term calcium intake and rates of all cause and cardiovascular mortality: Community based prospective longitudinal cohort study. *BMJ.* 2013;346:f228.
 78. Anderson JJ, Kruszka B, Delaney JA, He K, Burke GL, Alonso A, et al. Calcium intake from diet and supplements and the risk of coronary artery calcification and its progression among older adults: 10-year follow-up of the multi-ethnic study of atherosclerosis (MESA). *J Am Heart Assoc.* 2016;5:e003815.
 79. Karwowski W, Lekesiz K, Koc-Zorawska E, Wnuczko K, Borysewicz-Sanczyk H, Naumnik B. Effects of 17beta-estradiol and raloxifene on endothelial OPG and RANKL secretion. *Ginekol Pol.* 2017;88:167–73.
 80. Caffarelli C, Montagnani A, Nuti R, Gonnelli S. Bisphosphonates, atherosclerosis and vascular calcification: Update and systematic review of clinical studies. *Clin Interv Aging.* 2017;12:1819–28.
 81. Samelson EJ, Miller PD, Christiansen C, Daizadeh NS, Grazette L, Anthony MS, et al. RANKL inhibition with denosumab does not influence 3-year progression of aortic calcification or incidence of adverse cardiovascular events in postmenopausal women with osteoporosis and high cardiovascular risk. *J Bone Miner Res.* 2014;29:450–7.
 82. Hsu JJ, Lu J, Umar S, Lee JT, Kulkarni RP, Ding Y, et al. Effects of teriparatide on morphology of aortic calcification in aged hyperlipidemic mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2018;314.H1203 H1213.