

Osteodistrofia de la cirrosis biliar primaria

Núria Guañabens Gay

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

OSTEODISTROFIA DE LA CIRROSIS

BILIAR PRIMARIA

TESIS DOCTORAL

Nuria Guañabens Gay

Año 1987

N. Guañabens

RESULTADOS

1. DESCRIPCION DE LOS PACIENTES DE LA SERIE

El estudio se ha efectuado en 20 pacientes portadores de una CBP que cursaba de forma asintomática en cuatro de ellos (20%). En los 16 pacientes sintomáticos la duración de la clínica de colestasis osciló entre tres meses y nueve años, con una duración media de 3.2 ± 2.8 años. A su entrada en el estudio, nueve pacientes presentaban ictericia, once pacientes tenían prurito y tres habían desarrollado ascitis. El diagnóstico de CBP se había establecido entre un mes y seis años antes del inicio del estudio (media 2.5 ± 2.3 años). El estadio histológico de la hepatopatía, analizado en las biopsias hepáticas practicadas en el año de su ingreso en el protocolo, e interpretado según los criterios de Ludwig (7), fue el siguiente: cinco pacientes tenían un estadio I, ocho pacientes mostraban un estadio II, cuatro pacientes tenían un estadio III y los tres pacientes restantes tenían un estadio histológico IV (Tabla IX).

Once pacientes recibían tratamiento de forma continuada: seis pacientes recibían resín-colesteramina a dosis de 6 a 12 gr/día (V.O.) durante un período de uno/a tres años, ocho pacientes eran tratados con fenobarbital (V.O.) a dosis de 50 a 100 mg/día durante un mismo período de tiempo y cinco pacientes eran tratados con triglicéridos de cadena media. Once pacientes recibían regularmente suplementos de vitaminas B, C y K, y todos estaban incluidos en un protocolo terapéutico con D-penicilamina a dosis de 900 mg/día (V.O.). Sólo un paciente seguía tratamiento diurético en los últimos años y tres pacientes realizaban dieta asódica (Tabla X).

Nueve pacientes se trataban con calcio y vitamina A + D durante un período que oscilaba entre uno y nueve años. Además, dos pacientes seguían tratamiento con calcio no asociado a vitamina D. La vitamina D se administraba mensualmente en forma de un preparado que contiene 600.000 UI de vitamina D₂, vía intramuscular. El suplemento oral de calcio se administraba en forma de diferentes preparados: 1 gr. de lactoglu

conato de calcio a dosis de 2-3 comprimidos/día (7 pacientes); 2,94 gr. de lactogluconato de calcio + 0,30 gr. de carbonato cálcico a dosis de - 3 comprimidos/día (2 pacientes) o de un compuesto de hidroxapatita microcristalina a dosis de 1.2 gr. de sustancia activa compuesta en un 50% por fosfato cálcico (2 pacientes). Estos suplementos de calcio representan un aporte diario que oscila entre 250 mg. a 1000 mg. de calcio elemento (Tabla X).

2. ANTECEDENTES DE FRACTURAS EN EL ESQUELETO APENDICULAR. ANALISIS DE DISTINTOS FACTORES DE RIESGO PARA EL DESARROLLO DE OSTEOPOROSIS.

Ninguno de los pacientes había padecido fracturas de Colles, cuello de femur o proximal de húmero.

Dos pacientes, un varón y una mujer, presentaban antecedentes de ingesta crónica de enol de 80 y 60 gr/día, respectivamente. Por otro lado, la ingesta de calcio en forma de productos lácteos oscilaba alrededor de 1 gr/día en 16 pacientes y en los cuatro pacientes restantes era inferior a 500 mg/día. Diecinueve pacientes seguían una vida activa sin períodos de reposo prolongado y todos ellos tenían una exposición solar adecuada. Sólo un paciente (caso n° 20) había realizado un reposo prácticamente absoluto en los dos últimos años y su exposición al sol había sido excepcional durante este tiempo.

3. DOLOR VERTEBRAL Y ALTERACIONES DE LA ESTÁTICA DE LA COLUMNA

Siete pacientes (35%) habían presentado dolor vertebral. Tres de ellos en forma de crisis subaguda asociada o no a dolor vertebral crónico. Cuatro pacientes tenían únicamente dolor vertebral crónico. Cinco pacientes (25%) tenían una cifosis o una cifoescoliosis a la exploración de la estática de la columna vertebral.

4. ALTERACIONES EN LA RADIOLOGIA OSEA DE LA COLUMNA VERTEBRAL

Seis pacientes tenían una osteopenia radiológica difusa (grado II). Cuatro de ellos (20%) presentaban además fracturas vertebrales

en columna dorsal y/o lumbar (grado III u osteoporosis radiológica) (Tabla XI).

5. ANALISIS DE LOS PARAMETROS BIOQUIMICOS DE COLESTASIS Y FUNCION HEPATOCELULAR

Los parámetros bioquímicos de colestasis y de función hepatocelular de los 20 pacientes que constituyen la serie están expuestos en la tabla XII.

6. METABOLISMO MINERAL: PARAMETROS BIOQUIMICOS Y HORMONALES

En las tablas XIII y XIV, se exponen los parámetros bioquímicos y hormonales del metabolismo mineral de los pacientes con CBP.

7. ANALISIS DE LAS PRUEBAS DE DIAGNOSTICO DE MALABSORCION

Los resultados de las pruebas de la absorción de calcio y de la prueba del aliento con trioleína 14 C están expuestos en la Tabla XV.

8. ANALISIS DEL ESTUDIO A MICROSCOPIA OPTICA DE LAS BIOPSIAS OSEAS

8.1. Masa ósea. Doce enfermos (60%) tenían una masa ósea normal aunque en cinco de ellos se observó una muy ligera osteopenia. Cinco pacientes (25%) tenían una osteopenia moderada y los tres restantes (15%) tenían una osteopenia severa (Tabla XVI), (Fig. 2).

8.2. Osteoide y características de los osteoblastos. La superficie trabecular recubierta por ribetes de osteoide era normal o escasa en dieciseis pacientes (80%). Cuatro pacientes (20%) tenían una hiperosteoidosis moderada, asociada en tres casos a un incremento del número de osteoblastos cúbicos (Tabla XVI), (Fig. 3-5).

8.3. Superficies de reabsorción y número de osteoclastos. Dieciseis pacientes (80%) tenían una disminución de las superficies de --

reabsorción. Dos pacientes (10%) tenían una reabsorción ósea normal y en los dos pacientes restantes la reabsorción estaba ligeramente aumentada. El número de osteoclastos estaba disminuido - en 18 casos (90%) y sólo un paciente presentaba un aumento de su número (Tabla XVI), (Fig. 6).

8.4. Otros hallazgos: Sólo un paciente (caso nº 12) presentaba algún foco delgado de fibrosis paratrabecular. No se evidenció osteoclasia disecante.

8.5. Identificación de depósitos de cobre. Ninguna de las biopsias óseas tenía depósitos de cobre al examinar con el microscopio óptico las secciones teñidas con rhodanina (Fig. 7).

9. RESULTADOS DEL ESTUDIO HISTOMORFOMETRICO. DEFINICION DE LOS CRITERIOS DE OSTEOPOROSIS, DE OSTEOMALACIA O DE TRANSTORNO DE LA MINERALIZACION EN FUNCION DE LOS VALORES DEL GRUPO CONTROL.

En la tabla XVII se expresan los resultados de los parámetros histomorfométricos de las biopsias óseas de los 20 pacientes con CBP. No existieron diferencias significativas en el volumen trabecular y en el volumen y superficie de osteoide cuando se compararon con las biopsias óseas del grupo control. Sin embargo, el grosor de osteoide, la superficie de reabsorción y el número de osteoclastos fueron significativamente inferiores en los pacientes con CBP (Tabla XVII).

Se consideró que existía una osteoporosis cuando los pacientes tenían un volumen trabecular (VT) igual o menor al valor inferior del 95% del límite de confianza de las biopsias del grupo control y cuando este valor de VT fue inferior al 95% del límite de confianza según la edad y el sexo del volumen trabecular de un grupo de individuos normales estudiados por Meunier et al. (125). Así, se consideró criterio diagnóstico de osteoporosis un $VT \leq 18\%$.

Se consideró que existía una osteomalacia cuando se observaba un incremento de los siguientes parámetros: volumen de osteoide (Vosf), grosor de osteoide (Wos) y superficie de osteoide (Sf). Se consideraron los límites superiores de normalidad, valores de: Vosf: 1.93%; Wos: -- 18.7 μ m y Sf: 9.86% que correspondían al valor superior del 95% del límite de confianza de las biopsias del grupo control. Estos valores son similares a los obtenidos por Meunier et al. (180) en una serie de mujeres normales de similar edad al del grupo de CBP estudiado, cuyos parámetros fueron respectivamente: Vosf: $2.15 \pm 1.2\%$; Wos $16.9 \pm 4.4 \mu$ m y Sf: $10.3 \pm 5.3\%$. Además estos criterios estáticos debían asociarse a trastornos de la dinámica ósea.

Se estableció que existía un trastorno de mineralización sin poder considerarse propiamente como osteomalacia cuando alguno de los parámetros histomorfométricos de valoración de volumen, grosor y superficie de osteoide estaba aumentado, pero sin que existiera una alteración -- conjunta de los tres parámetros (Vosf, Wos, Sf). Además, estos criterios morfométricos debían asociarse a anomalías de los parámetros dinámicos.

***Criterios dinámicos para la subclasificación de la osteoporosis y para el diagnóstico de osteomalacia o de trastorno de la mineralización.** Al no disponer de un grupo de controles sanos a los que se hubieran administrado dos tandas de tetraciclina (marcador óseo) previamente a la práctica de la biopsia ósea, se han comparado los parámetros dinámicos de las 19 biopsias óseas de los pacientes con CBP con los valores dinámicos calculados en hueso trabecular por Melsen et al. (181-183) en un grupo constituido por 41 individuos sanos de edad y sexo similar al -- grupo con CBP.*

*Se consideró que existía una **osteoporosis de bajo remodelaje** cuando en ausencia de una hiperosteoidosis se evidenciaban sólo marcajes -- únicos en el hueso trabecular o cuando la velocidad de aposición ósea (\bar{M}) era inferior a 0.69μ m/día (181) y que existía una **osteoporosis de alto remodelaje** cuando asociados a una hiperosteoidosis se evidenciaban abundantes dobles marcajes con una velocidad de aposición normal.*

Se consideró que existía una **osteomalacia** cuando no habían marcajes fluorescentes o cuando se observaban marcajes únicos mal definidos y difusos, asociados a un incremento conjunto de los parámetros referidos a osteoide (Vosf, Vos, Sf). Por otro lado, se **consideró que había un trastorno de mineralización**: insuficiente como para ser clasificado como osteomalacia cuando asociado a alguno de los parámetros de hiperosteoidosis (Vosf, Vos o Sf), existían marcajes fluorescentes únicos y bien definidos y no se observaban marcajes dobles. Una prolongación del intervalo de mineralización (MLT) superior a 28.5 días fue considerado como otro parámetro indicador de un trastorno de mineralización (182,183).

10. COMPARACION DE LOS PARAMETROS HISTOMORFOMETRICOS E HISTODINAMICOS DE LAS BIOPSIAS OSEAS DE LOS PACIENTES CON CBP CON EL GRUPO CONTROL

10.1. Masa ósea:

10.1.1. Volumen trabecular (VT). Aunque no existieron diferencias significativas de los valores medios de VT entre los pacientes con CBP ($21.4 \pm 6.2\%$) y el grupo control ($22.3 \pm 5.8\%$), siete enfermos con CBP (35%) tenían una disminución del VT y se consideró que tenían una osteoporosis (Fig. 8).

10.1.2. Indice de grosor trabecular (TTI). El TTI fue significativamente inferior en el grupo con CBP (0.13 ± 0.04 mm) respecto al grupo control (0.17 ± 0.05 mm) ($p=0.02$). Además, nueve pacientes (45%) tenían un TTI inferior a 0.13 mm (que corresponde al 95% del límite inferior de confianza del TTI del grupo control).

10.2. Formación y mineralización ósea:

10.2.1. Parámetros referidos al volumen de osteoide

Los pacientes con CBP tenían un volumen medio de osteoide inferior al del grupo de control, si bien esta di-

ferencia no alcanzó significación estadística.

El volumen de osteoide expresado como fracción del volumen ocupado por las trabéculas y el espacio medular (Vos) fue inferior en los pacientes con CBP ($0.14 \pm 0.21\%$) que en el grupo control ($0.25 \pm 0.20\%$), aunque tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas. Asimismo, el volumen de osteoide expresado como fracción del volumen ocupado por las trabéculas (Vosf) fue inferior en los pacientes con CBP ($0.82 \pm 1.31\%$) respecto al grupo control (1.19 ± 1.02) (ns). Tres pacientes con CBP (15%) tenían un Vosf superior al 1.93% (casos n° 4, 16 y 18) y además en dos de ellos el Vosf era superior al 0.39% (95% del límite superior de confianza del Vos del grupo control) (casos n° 4 y 18) y se consideró que tenían una hiperosteoidosis aunque no cumplían criterios morfométricos estáticos de osteomalacia (Fig. 9).

10.2.2. Grosor de osteoide (Wos). El Wos fue significativamente inferior en los pacientes con CBP ($8.2 \pm 4.0 \mu\text{m}$) -- respecto al del grupo control ($13.8 \pm 6.8 \mu\text{m}$) ($p=0.008$) y además todos los pacientes con CBP tenían un Wos inferior a $18.73 \mu\text{m}$. que corresponde al límite superior de normalidad (Fig. 9).

10.2.3. Superficie de formación ósea (Sf). La Sf fue inferior en los pacientes con CBP ($4.6 \pm 4.1\%$) que en el grupo control ($7.0 \pm 3.9\%$) aunque estas diferencias no alcanzaron significación estadística. Dos pacientes (10%) tenían una Sf aumentada (casos n° 4 y 18) (Fig. 9) y trece pacientes (65%) tenían una disminución de la superficie de formación ósea.

10.2.4. Evaluación de la captación de tetraciclinas en los frentes de mineralización. Características de los **marcajes** fluorescentes. Cinco pacientes (26,5%) presentaban en

sus biopsias marcajes únicos en el hueso cortical y en el hueso trabecular (Fig.10) y no tenían marcajes dobles. Los 14 pacientes restantes tenían marcajes únicos y dobles en el hueso cortical y/o trabecular aunque sólo en nueve de estos pacientes se observaban marcajes dobles en el hueso trabecular (Figs. 11 y 12) -- (Tabla XVIII). En todos los casos los marcajes únicos eran nítidos y bien definidos (Fig. 13) y en ninguna biopsia se objetivó ausencia de marcajes fluorescentes.

- 10.2.5. Velocidad de aposición (\bar{M}). Catorce pacientes con CBP tenían una velocidad de aposición de hueso trabecular disminuida al compararla con la de un grupo constituido por 41 individuos normales (182). Se consideró que la velocidad de aposición de 10 de estos 14 pacientes con CBP era nula al no evidenciarse marcajes dobles -- fluorescentes en hueso trabecular. Los cinco pacientes restantes (26%) tenían una velocidad de aposición similar o discretamente superior a la de un grupo de individuos normales (181) (Tabla XVIII).
- 10.2.6. Intervalo de mineralización. Mineral lag time (MLT). Sólo un paciente con CBP (caso nº 16) tenía una prolongación del intervalo de mineralización. En los restantes ocho pacientes el MLT fue similar o inferior al de un grupo control constituido por 41 individuos sanos (183) (Tabla XVIII).
- 10.2.7. Índice de formación ósea (BFR). Quince pacientes con CBP (79%) tenían una disminución del índice de formación ósea a nivel de hueso trabecular y en diez de -- ellos se consideró que el BFR era nulo. Sólo cuatro -- pacientes (21%) tenían un índice de formación ósea que no era marcadamente distinto que el grupo de indivi--- duos normales estudiados por Melsen et al (181) (Tabla XVIII) (Fig. 8).

10.3. Reabsorción ósea

Superficie de reabsorción (Sr). La Sr fue significativamente inferior en el grupo con CBP ($0.9 \pm 0.9\%$) en relación a la del grupo control ($1.7 \pm 0.9\%$) ($p=0.04$). Además catorce pacientes tenían una superficie de reabsorción ósea disminuida y sólo un paciente (caso nº 15) tenía un discreto aumento de la reabsorción ósea. La Sr se relacionó significativamente con el número de osteoclastos, con un coeficiente de correlación de 0.85 ($p < 0.001$).

11. RESULTADOS DEL ESTUDIO MICROANALITICO DEL FRENTE DE MINERALIZACION MEDIANTE ANALISIS DISPERSIVO DE LA ENERGIA DE RX (EDAX)

No se detectó la existencia de iones de cobre en el frente de mineralización de las dos biopsias óseas analizadas.

12. DIFERENCIAS ENTRE LOS PACIENTES CON OSTEOPOROSIS Y LOS PACIENTES SIN PATOLOGIA METABOLICA OSEA

Atendiendo a los criterios previamente descritos, siete pacientes tenían una osteoporosis y tres de ellos tenían además un trastorno moderado de la mineralización ósea. A continuación se analizan las diferencias existentes entre los pacientes con y sin osteoporosis.

12.1. Edad, sexo y menopausia de los pacientes con y sin osteoporosis

12.1.1. Edad. La edad media de los pacientes con osteoporosis fue superior (54.57 ± 7.23 años) a la de los pacientes sin osteoporosis (45.46 ± 11.01 años) aunque no existieron diferencias significativas. Sin embargo, seis pacientes con osteoporosis (85.7%) tenían una edad superior a 50 años, edad que sólo presentaban cuatro pacientes (30.8%) sin osteoporosis ($p=0.01$). Además, se observó una relación indirecta significativa entre la edad y el volumen trabecular ($r=0.56$), $p < 0.02$ (Fig.14).

12.1.2. Sexo. Todos los pacientes con osteoporosis eran mujeres.

12.1.3. Menopausia. Seis de los siete pacientes con osteoporosis (85.7%) eran mujeres postmenopáusicas y sólo lo -- eran tres de las once pacientes sin osteoporosis (27.2 %) ($p= 0.02$). Además el período de tiempo transcurrido desde la menopausia fue más prolongado aunque no signi-- ficativamente en las pacientes con osteoporosis (9.16 ± 8.08 años) que en las pacientes sin esta patología -- ósea (2.0 ± 1.0 años) (ns) (Tabla XIX).

12.2. Duración, manifestaciones clínicas y años transcurridos desde -- el diagnóstico de la CBP en relación con el desarrollo de osteo-- porosis.

La duración de la enfermedad de los pacientes con osteoporosis fue significativamente más prolongada (5.42 ± 2.87 años) que la de los pacientes sin osteoporosis (2.0 ± 2.12 años) ($p=0.007$). Además, también habían transcurrido más años desde el diagnósti-- co de la CBP en los pacientes con osteoporosis (4.28 ± 2.36 años) que en los pacientes sin patología ósea (1.54 ± 1.76 años) -- ($p=0.008$). No existieron diferencias significativas en las mani-- festaciones clínicas de colestasis y/o insuficiencia hepatocelu-- lar entre ambos grupos de pacientes (Tabla XIX).

12.3. Relación entre el dolor vertebral y las alteraciones de la está-- tica de columna vertebral con la presencia de osteoporosis

12.3.1. Dolor vertebral. La presencia de dolor vertebral en for-- ma de crisis subaguda se observó en tres de los siete pa-- cientes con osteoporosis (42.8%) y en ninguno de los pa-- cientes sin osteoporosis ($p=0.001$). Sin embargo, no -- existieron diferencias significativas en la presencia -- de dolor vertebral crónico que ocurrió en tres pacien-- tes con osteoporosis y en otros tres pacientes sin pato-- logía ósea (Tabla XIX).

12.3.2. Cifoescoliosis. Tres de los cinco pacientes con cifo--
sis y/o cifoescoliosis tenían una osteoporosis. Así --
pues, no se observó ninguna asociación entre el desa--
rrollo de cifoescoliosis y la presencia de osteoporo--
sis.

12.4. Resultado del estudio de la radiología ósea de los pacientes -
con CBP. Análisis de las alteraciones radiológicas en relación
con la presencia de osteoporosis.

La existencia de fracturas vertebrales en la radiología del es
queleto axial fue significativamente más frecuente en los pa--
cientes con osteoporosis, ya que los cuatro pacientes que te--
nían fracturas vertebrales asociadas a osteopenia difusa en --
las radiografías tenían una osteoporosis, dato que no se halló
en ninguno de los pacientes sin osteoporosis ($p= 0.005$). Otros
dos pacientes, uno con osteoporosis y otro sin patología ósea,
tenían una osteopenia difusa radiológica pero sin fracturas --
vertebrales.

12.5. Análisis de los parámetros bioquímicos de colestasis e insufi--
ciencia hepatocelular. Su relación con la presencia de osteopo--
rosis.

Los parámetros bioquímicos de colestasis e insuficiencia hepa--
tocelular están expuestos en la tabla XII. Quince pacientes --
(75%) tenían una hiperbilirrubinemia superior a 1.2 mg/dl, on--
ce pacientes (55%) tenían una concentración plasmática de co--
lesterol superior a 270 mg/dl y todos los pacientes analizados
(18 casos) tenían un incremento de la concentración sérica de
sales biliares.

Sólo un paciente tenía una albúmina plasmática inferior a 30 -
gr/l. y tres pacientes (15%) tenían una tasa de protombina in--
ferior al 80%. No existieron diferencias significativas de los
parámetros bioquímicos de colestasis y de insuficiencia hepa--
tocelular entre los pacientes con osteoporosis y los pacientes -

sin patología ósea, a excepción de la concentración plasmática de colesterol que fue significativamente superior en los pacientes con osteoporosis (229.5 ± 87.1 mg/dl) ($p=0.04$) (Tabla XXI).

12.6. Análisis de los parámetros bioquímicos del metabolismo mineral. Su relación con la presencia de osteoporosis.

Los parámetros bioquímicos del metabolismo mineral están expuestos en la Tabla XIII.

El nivel sérico de calcio iónico fue normal en los 19 pacientes analizados. Sin embargo, la concentración plasmática de calcio estuvo alterada en dos pacientes. Un paciente (caso n° 3) tenía una hipercalcemia y otro paciente (caso n° 18) tenía una hipocalcemia de 7.6 mg/dl. Cinco pacientes (25%) tenían una hipomagnesemia. Dos pacientes (10%) tenían una discreta hipofosforemia asociada a una insuficiencia renal moderada.

Dieciséis de 17 pacientes estudiados (94%) tenían una disminución de la excreción urinaria de calcio con un cociente calcio/creatinina inferior a 0.132 (que corresponde al 95% del límite inferior de confianza de un grupo control constituido por 29 individuos sanos de sexo y edades similares). La excreción urinaria de hidroxiprolina de 24 h. estuvo aumentada en 16 de 17 pacientes (94%) y el cociente hidroxiprolina/creatinina fue elevado en 15 de 16 pacientes (94%) al compararlos con los valores de un grupo control formado por 17 individuos sanos de sexo y edades similares.

La concentración plasmática de calcio total (no corregida según el nivel de albúmina) fue significativamente inferior en los pacientes con osteoporosis (8.7 ± 0.5 mg/dl) que en los pacientes sin osteoporosis (9.6 ± 0.8 mg/dl) ($p=0.02$). Sin embargo no se observaron otras diferencias significativas de los restantes parámetros bioquímicos del metabolismo mineral entre los pacientes con y sin osteoporosis (Tabla XXII).

12.7. Análisis de los parámetros hormonales del metabolismo mineral.
Su relación con la presencia de osteoporosis.

Las determinaciones de los niveles plasmáticos de parathormona, calcitonina y metabolitos de la vitamina D están expuestos en la tabla XIV.

La concentración plasmática de parathormona aminoterminal - -- (PTH-N), fue normal en 16 de 17 pacientes analizados. Sin em-- bargo, un paciente (caso n° 3) tenía un incremento de la con-- centración de PTH-N con un valor de 32 pg/ml. Diecinueve pa--- cientes tenían unos niveles normales de parathormona carboxi-- terminal (PTH-C) aunque un paciente (caso n° 12) tenía un dis-- creto incremento de su concentración. Los niveles plasmáticos de calcitonina fueron normales en los 18 pacientes analizados. Ningún paciente con CBP presentó un déficit de 1,25 dihidroxi- vitamina D (1,25 (OH)₂D) cuya concentración plasmática media - fue de 37.0 ± 13.7 pg/ml con unos valores extremos que oscila- ron entre 17.3 y 79 pg/ml (Fig.15).

Cuatro pacientes (20%) tenían una disminución de los niveles - plasmáticos de 25 hidroxivitamina D (25-OH D). Su valor medio fue de 7.0 ± 2.6 ng/ml con unos valores extremos que oscilaron - entre 2.6 y 12.6 ng/ml (Fig.15).

No existieron diferencias significativas de las concentracio-- nes plasmáticas de parathormona, calcitonina y metabolitos de la vitamina D (Fig. 15) entre los pacientes con y sin osteopo- rosis. Sin embargo, los niveles de 1,25 (OH)₂D fueron inferio- res en los pacientes con osteoporosis (30.3 ± 10.1 pg/ml) que en los pacientes sin osteoporosis (40.6 ± 14.1 pg/ml), así co- mo la concentración de parathormona que fue inferior en los pa- cientes con osteoporosis (PTH-N: 12.8 ± 3.0 pg/ml.) respecto al otro grupo de pacientes (PTH-N: 17.2 ± 5.2 pg/ml). Tampoco se ob- servaron diferencias de los niveles séricos de calcitonina en- tre los pacientes con osteoporosis (57.0 ± 25.1 pg/ml) y los - pacientes sin esta patología ósea (60.0 ± 25.9 pg/ml) (Tabla - XXIII).

12.8. Relación entre la existencia de malabsorción intestinal y el desarrollo de osteoporosis

12.8.1. Malabsorción intestinal de grasas. No se constató la presencia de esteatorrea por interrogatorio en ningún paciente. Sin embargo, siete de los 18 pacientes examinados (39%) tenían un test del aliento con trioleína-14C patológico, por lo que se consideró que tenían una esteatorrea (Tabla XV). Su presencia no se relacionó con el desarrollo de osteoporosis, ya que dos de los cinco pacientes con osteoporosis (40%) tenían una malabsorción de grasas frente a cinco de los 13 pacientes sin osteoporosis (38,5%) (ns). Además no existieron diferencias significativas entre el nivel de 14CO_2 exhalado de los pacientes con osteoporosis ($2.84 \pm 1.21\%$) y de los pacientes sin osteoporosis ($2.57 \pm 1.19\%$).

12.8.2. Malabsorción intestinal de calcio. Seis de 16 pacientes analizados (37.5%) tenían una malabsorción intestinal de calcio al ser la fracción de la dosis absorbida igual o inferior a 0.22 (que corresponde al rango inferior de un grupo control constituido por 27 individuos sanos de sexo y edades similares)(Tabla XV). La malabsorción intestinal de calcio fue significativamente más frecuente en el grupo de pacientes con osteoporosis, ya que cuatro de cinco pacientes con osteoporosis (80%) tenían una malabsorción de calcio frente a dos de los 11 pacientes sin osteoporosis (18%) ($p=0.03$).

12.9. Relación entre el estadio histológico de la CBP y la presencia de osteoporosis.

Aunque no han existido diferencias significativas en la prevalencia de osteoporosis entre los distintos estadios histológicos, debe destacarse que ningún enfermo en estadio I de su he-

patopatía tenía una osteoporosis. Sin embargo, el volumen trabecular (VT) disminuyó con la progresión del estadio histológico. Así, en los pacientes en estadio I el VT fue $27.7 \pm 5.5\%$, en los pacientes con estadio II fue de $19.3 \pm 4.2\%$ y en el estadio III el VT fue de $17.6 \pm 6.1\%$. Sin embargo en los pacientes en estadio IV de su hepatopatía el VT fue de $21.6 \pm 6.6\%$.

12.10. Diferencias de los parámetros histodinámicos entre los pacientes con y sin osteoporosis.

No existieron diferencias marcadas de los parámetros que reflejan la dinámica del tejido óseo entre los pacientes con y sin osteoporosis (Tabla XX).

13. ANALISIS DE LAS DIFERENCIAS EXISTENTES ENTRE LOS PACIENTES CON Y SIN TRASTORNO DE MINERALIZACION

Atendiendo a los criterios previamente descritos, tres pacientes tenían una osteoporosis con trastorno de mineralización asociado (casos -- nº 4, 16 y 18). En las tablas XXIV-XXVII se exponen las diferencias existentes entre estos pacientes con los cuatro enfermos con osteoporosis -- sin alteración en el proceso de mineralización ósea y con los 13 pacientes sin patología metabólica ósea.

14. RELACION ENTRE LOS PARAMETROS HISTOMORFOMETRICOS Y LAS CARACTERISTICAS CLINICAS DE LA HEPATOPATIA

14.1. Análisis de los parámetros histomorfométricos en relación con la duración de la enfermedad.

14.1.1. Parámetros de valoración de osteoide: Los parámetros -- de volumen (Vos, Vosf) y superficie (Sf) de osteoide -- se relacionaron de forma directa con los años de evolución clínica de la CBP y con los años transcurridos -- tras el diagnóstico de la enfermedad. Se ha hallado -- una relación lineal directa del Vos y del Vosf con la duración de la sintomatología ($r=0.56$, $p < 0.02$) y --

($r=0.57$, $p < 0.01$) (Fig.16), respectivamente. Además, la superficie de formación (Sf) también se relacionó de forma significativa con los años de evolución de la enfermedad ($r=0.48$, $p < 0.05$). También se observó una relación lineal directa entre el Vos y el Vosf con los años transcurridos desde el diagnóstico de la CBP, con unos coeficientes de correlación de 0.51 ($p < 0.05$) y -0.50 ($p < 0.05$), respectivamente. La Sf también se relacionó con los años de diagnóstico de la enfermedad ($r=0.56$, $p < 0.01$).

14.2. Relación de los parámetros histomofométricos con la severidad de la colestasis.

No se ha hallado ninguna correlación significativa entre los marcadores de colestasis biológica y los parámetros de valoración de masa ósea y osteoide.

15. RELACION ENTRE LOS PARAMETROS HISTOMORFOMETRICOS Y LAS DETERMINACIONES DEL METABOLISMO MINERAL.

15.1. Análisis de los parámetros de masa ósea y osteoide en relación a las determinaciones bioquímicas del metabolismo mineral y la absorción intestinal de calcio.

La concentración plasmática de calcio se relacionó, de forma lineal e inversa con la superficie de osteoide (Sf) ($r=0.46$, $p < 0.05$). Asimismo también se ha observado una correlación logarítmica inversa entre la absorción intestinal de calcio y los parámetros de volumen de osteoide, con un coeficiente de correlación con el Vosf de -0.54 ($p < 0.05$) y con el Vos, de -0.49 (ns).

15.2. Relación de los parámetros de masa ósea y de osteoide con los metabolitos de la vitamina D.

El volumen trabecular (VT) se relacionó significativamente con el nivel plasmático de 25-OH D, con un coeficiente de correlación de 0.67 ($p < 0.01$) (Fig.17). El índice medio de grosor trabecular (TTI) también se relacionó de forma significativa con los

niveles de 25-OH D ($r=0.50$) ($p < 0.05$). Sin embargo, no se ha hallado ninguna relación entre el VT y los niveles plasmáticos de $1,25 (OH)_2D$ ($r=0.31$), ni entre parámetros de valoración de osteoide (Vosf o Sf) con los niveles de 25-OH D o de $1.25 (OH)_2D$. Por otro lado el grado de aposición ósea (\bar{M}) se relacionó de forma indirecta con los niveles plasmáticos de 25-OH D -- ($r= -0.45$, $p < 0.05$).

16. ANALISIS DE LA RELACION ENTRE LOS PARAMETROS DEL METABOLISMO MINERAL Y LA INTENSIDAD DE LA COLESTASIS.

Se ha hallado una correlación lineal inversa de los niveles plasmáticos de $1,25 (OH)_2D$ con la bilirrubinemia ($r=0.47$, $p < 0.05$) y con el estado histológico de la CBP, con un coeficiente de correlación de $-0,62$ -- ($p < 0.01$).

Además, la absorción intestinal de calcio también se relacionó con el grado de colestasis biológica al existir una relación lineal inversa entre la absorción intestinal de calcio y la concentración plasmática de sales biliares totales ($r=-0.55$, $p < 0.05$) y el nivel sérico de la fosfatasa alcalina ($r=0.51$, $p < 0.05$) (Fig. 18). Sin embargo, no se correlacionaron de forma significativa la absorción intestinal de calcio con los niveles de 25-OHD ($r=0.44$) o de $1,25 (OH)_2D$ ($r=0.15$).

TABLA IX. CARACTERISTICAS CLINICAS DE LA SERIE DE PACIENTES ESTUDIADOS

caso n ^o	Edad (años)	Sexo	Años de post-meno- pausia	CBP sintomá- tica/asintó- mática	Duración clínica (años)	Años de diagnós- tico	Estadio histológico CBP
1	35	F	-	S	1	0	I
2	51	F	12	S	6	6	II
3	48	M		S	5	1	II
4	50	F	1	S	9	6	II
5	47	F	-	S	6	3	IV
6	41	F	-	S	1	1	III
7	57	F	5	S	5	3	III
8	57	F	1	S	4	3	III
9	33	F	-	S	3	1	I
10	56	F	2	S	1	0	I
11	69	F	24	A	-	0	II
12	39	F	-	A	-	1	II
13	37	F	-	S	1	6	II
14	38	F	-	A	-	0	II
15	68	M		S	0	0	IV
16	56	F	6	S	4	3	III
17	35	F	-	S	4	3	I
18	47	F	-	S	7	6	II
19	57	F	3	A	-	1	I
20	52	F	7	S	7	6	IV
MEDIA	48.6		6.7		3.2	2.5	
DT	10.6		7.3		2.8	2.3	

TABLA X. TRATAMIENTO A QUE ESTABAN SOMETIDOS LOS PACIENTES DE LA SERIE

caso nº	resin-coles teramina	Fenobarbital	Trigliceridos de cadena me- dia	Vit. B,C.K	Calcio	Vit. A+D	Diuréticos
1	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	+	+	+	-
3	-	-	-	-	-	-	-
4	+	+	-	+	+	+	-
5	+	+	+	+	+	+	-
6	-	+	+	+	+	-	-
7	-	-	+	+	+	+	-
8	+	+	+	+	+	+	-
9	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-
11	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-
13	-	+	+	+	+	+	-
14	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-
16	+	-	+	+	+	+	-
17	+	+	-	+	+	-	-
18	+	+	-	+	+	+	-
19	-	-	-	-	-	-	-
20	-	+	+	+	+	+	+
TOTAL (n)	6	8	7	11	11	9	1

TABLA XI. ALTERACIONES EN LA RADIOLOGIA OSEA DE LA COLUMNA VERTEBRAL DE LOS PACIENTES CON CBP

caso nº	Osteopenia (grado II)	Fracturas vertebrales
1	-	-
2	+	-
3	+	-
4	-	-
5	-	-
6	-	-
7	+	+
8	-	-
9	-	-
10	-	-
11	+	+
12	-	-
13	-	-
14	-	-
15	-	-
16	+	+
17	-	-
18	-	-
19	-	-
20	+	+
TOTAL (n)	6	4

TABLA XII. PARAMETROS BIOQUIMICOS DE COLESTASIS E INSUFICIENCIA HEPATO-CELULAR

caso	Bilirrubina total mg/dl	Fosfatasa alcalina VI/l	Sales biliares Umol/l	Colesterol mg/dl	Albúmina g/l	Tasa de pro- tombina %
1	1.9	850	36	397	36.6	100
2	1.2	542	-	164	31.9	100
3	2.3	2.627	-	368	34.5	100
4	1.4	1.102	48	206	34.6	100
5	12.3	1.521	64	470	42.2	100
6	1.7	2.242	30	209	36.4	100
7	4.7	1.478	25	292	35.5	100
8	9.2	2.547	63	490	39.5	100
9	1.4	1.910	21	448	41.7	100
10	1.0	1.500	76	315	39.0	100
11	1.0	1.890	37	210	39.9	100
12	1.0	990	7	197	32.0	100
13	4.3	2.840	92	423	41.4	100
14	1.6	908	21	287	37.2	100
15	21.9	578	44	174	27.9	65
16	26.3	1.355	88	374	46.0	100
17	1.6	1.245	49	319	37.9	100
18	3.8	2.420	56	254	34.2	60
19	1.0	369	21	229	39.5	100
20	32.2	1.386	21	107	31.4	45
MEDIA	6.5	1.514.9	44.3	296.6	36.9	93.5
DT	9.3	733.1	24.6	111.6	4.3	16.2
VALORES NORMALES	0.1-1.0	94-280	0.3-4.5	148-270	>30	>80

TABLA XIII. PARAMETROS BIOQUIMICOS DEL METABOLISMO MINERAL

caso	calcio iónico mEq/l	calcio total mg/dl	fósforo mg/dl	magnesio mg/dl	excreción urinaria calcio (Ca _o /Cr _o)	excreción urina ria hidroxiprolina mg 24h.	Hp _o /Cr _o
1	2.1	10.1	3.4	1.8	-	3.7	-
2	1.8	8.8	3.1	1.9	0.13	24.5	0.020
3	2.5	11.8	4	2.1	0.04	17	0.003
4	2.1	9	3.5	0.2	0.03	-	-
5	2.0	10.1	3.9	1.9	0.02	18.5	0.022
6	2.1	9.2	3.4	1.9	0.11	55	0.084
7	1.6	8.9	3.8	1.6	0.05	21	0.023
8	2.2	10.3	4.7	1.8	0.08	22	0.024
9	2.1	9.2	4.1	2.3	0.04	29.5	0.072
10	1.5	10.4	3.7	1.6	0.04	37.5	0.042
11	1.8	9	3.3	1.8	0.21	-	-
12	2.3	9.4	3.4	1.8	0.04	55	0.047
13	1.9	8.5	4.1	2	-	25	-
14	2.4	9.7	4.2	1.4	0.10	26	0.022
15	2.3	8.7	4.6	2.5	-	-	-
16	2.3	9	4.8	1.8	-	29	-
17	2.5	8.8	4.6	2	0.06	31	0.059
18	2.2	7.6	4.1	2.2	0.07	22.5	0.041
19	-	9.5	4.4	2.1	0.07	20	0.032
20	2.3	9	3.7	1.1	0.07	19	0.049
MEDIA	2.1	9.3	3.9	1.7	0.07	26.8	0.039
DT	0.2	0.8	0.5	0.4	0.04	12.8	0.022
VALORES NORMALES	1.4-2.6	8.5-10.5	2.3-4.3	1.8-2.6	0.13-0.19	3.6-9.1	0.004-0.010

TABLA XIV. PARAMETROS NORMALES DEL METABOLISMO MINERAL

caso nº	PTH-N pg/ml	PTH-C ng/ml	Calcitonina vg / ml	25-OH D ng/ml	1,25(OH) ₂ D pg/ml
1	13	0.24	90	6.1	56.2
2	13	0.22	61	7.5	37.1
3	32	0.52	97	4.3	36.8
4	19	0.14	44	6.2	45
5	13	0.40	61	8.6	29.4
6	15	0.20	50	6.4	33.7
7	12	0.38	31	8.3	17.3
8	18	0.29	38	6.9	23.6
9	15	0.20	26	7.5	44
10	17	0.44	40	11.8	79
11	11	0.51	34	4.3	37.4
12	14	0.85	47	6.5	48.2
13	18	0.32	98	6.0	34.3
14	-	0.21	35	12.2	43.1
15	15	0.32	-	6.2	29.8
16	8	0.14	-	4.8	19.2
17	18	0.18	52	12.6	34.6
18	-	0.32	72	2.6	28.1
19	15	0.23	86	6.2	35.3
20	-	0.27	100	5.7	28.5
MEDIA	16	0.31	59	7.0	37.0
DT	5.2	0.16	25.3	2.6	13.7
VALORES NORMALES	11-24	<0.15-0.5	15-80	5.1-18.6	15-41

TABLA XV. PRUEBAS DE DIAGNOSTICO DE MALABSORCION INTESTINAL

caso nº	Prueba del aliento con trioleina ^{14}C %pico triooleina $^{14}CO_2$	P. de absorción de ^{47}Ca fracción horaria de la do- sis absorbida (α)
1	3.43	-
2	4.26	0.35
3	2.79	0.26
4	4.28	0.20
5	1.06	0.25
6	2.42	0.44
7	1.70	-
8	1.74	0.30
9	3.20	0.16
10	1.61	0.32
11	2.81	0.19
12	1.39	0.58
13	2.92	0.16
14	3.54	0.48
15	0.83	-
16	-	0.20
17	4.95	0.50
18	1.45	0.22
19	3.58	0.52
20	-	-
VALORES NORMALES	> 1.92	> 0.22

TA^ALA XVI. RESULTADOS DEL ANALISIS DE LA MICROSCOPIA OPTICA DE LAS BIOPSIAS OSEAS DE LOS PACIENTES CON CBP

caso n ^o	Osteopenia	Osteoide	Osteoblastos cúbicos	Superficie de reabsorción	Osteoclastos
1	-	-	-	-	-
2	2+	+	+	-	-
3	1+	+	1+	-	-
4	1+	1+	2+	-	-
5	2+	+	-	-	-
6	-	-	-	-	-
7	3+	+	-	-	-
8	1+	+	-	-	-
9	-	+	+	+	-
10	-	-	-	-	-
11	2+	+	+	-	-
12	1+	-	-	+	-
13	1+	+	-	-	-
14	-	-	-	-	-
15	2+	-	-	1+	1+
16	3+	1+	+	-	-
17	-	-	-	-	-
18	3+	1+	1+	-	-
19	-	+	+	1+	+
20	2+	1+	-	-	-

osteopenia: ausente(-); muy ligera(1+); moderada (2+); severa (3+)

osteoide: disminuido (-); normal (+); ligeramente aumentado (1+); abundante (2+)

osteoblastos cúbicos: disminuidos (-); normal (+); ligeramente aumentados (1+); -
abundantes (2+)

superficies de reabsorción: disminuidos (-); normal (+); ligeramente aumentados(1+)

osteoclastos: ausentes o disminuidos (-); normal (+); ligeramente aumentados (1+)

TABLA XVII. PARAMETROS HISTOMORFOMETRICOS DE LOS PACIENTES CON CBP

caso nº	Edad (años)	F/M	VT %	TTI mm.	Vos %	Vosf %	Osw um	Sf %	Br %	Oc nº
<i>- Pacientes con CBP -</i>										
1	35	F	26.9	0.21	0.01	0.05	4.2	1.2	1.3	0
2	51	F	16.2	0.12	0.03	0.19	8.7	1.3	0.6	0
3	48	M	18.2	0.06	0.13	0.74	10.2	2.1	0.2	0
4	50	F	17.2	0.11	0.96	5.56	17.4	18.0	0.5	0
5	47	F	29.1	0.20	0.11	0.38	10.7	3.6	1.3	0
6	41	F	23.7	0.09	0.01	0.05	4.1	0.6	0.2	0
7	57	F	15.9	0.09	0.05	0.33	6.1	2.5	0.9	0
8	57	F	21.1	0.13	0.08	0.40	8.6	3.2	0.05	0
9	33	F	24.9	0.13	0.05	0.21	3.8	3.6	0.4	0
10	56	F	23.6	0.13	0.16	0.67	13.3	3.3	0.1	0
11	69	F	16.2	0.15	0.11	0.68	8.2	6.4	0.4	1
12	39	F	19.2	0.12	0.06	0.32	5.8	3.5	0.9	0
13	37	F	24.2	0.11	0.23	0.97	6.4	8.7	1.8	0
14	38	F	27.2	0.16	0.01	0.06	12.6	0.4	0.3	0
15	68	M	19.2	0.13	0.01	0.09	1.4	4.4	4.3	5
16	56	F	9.7	0.08	0.21	2.17	13.6	6.6	0.3	0
17	35	F	37.7	0.20	0.09	0.25	5.4	4.5	1.0	0
18	47	F	15.6	0.09	0.41	2.68	10.7	11.8	0.3	0
19	57	F	25.5	0.14	0.08	0.31	8.2	2.7	2.0	2
20	52	F	16.4	0.13	0.05	0.29	5.1	3.9	0.9	0
MEDIA	48.6		21.4	0.13	0.14	0.82	8.2	4.6	0.9	0.4
DT	10.6		6.2	0.04	0.21	1.31	4.0	4.1	0.9	1.1
<i>-Pacientes control-</i>										
MEDIA	45.0		22.3	0.17	0.25	1.19	13.8	7.0	1.7	2.8
DT	10.9		5.8	0.05	0.20	1.02	6.8	3.9	0.9	2.0

TABLA XVIII. PARAMETROS HISTODINAMICOS DE LOS PACIENTES CON CBP

caso n ^o	marcajes U/D	\bar{M} trabecular um/dia	MLT días	BFR um ³ /um ² /dia
1	U	0	-	0
2	D	0.31	9.0	0.97
3	D*	0	-	0
4	U	0	-	0
5	D	0.65	35.5	0.30
6	D*	0	-	0
7	D	0.61	18.8	0.32
8	D*	0	-	0
9	D	0.78	6.3	0.61
10	D*	0	-	0
11	D	0.42	17.4	0.47
12	U	0	-	0
13	D	0.55	34.3	0.18
14	U	0	-	0
15	ND	ND	ND	ND
16	D	0.97	104.0	0.13
17	D*	0	-	0
18	U	0	-	0
19	D	0.87	11.1	0.74
20	D	0.36	29.8	0.17
MEDIA		0.29	29.5	0.20
DT		0.35	29.9	0.29

D* (corticales)

TABLA XIX. DIFERENCIAS EN CIERTAS CARACTERISTICAS CLINICAS DE LOS PACIENTES CON Y SIN OSTEOPOROSIS

	Edad (años)	Años de post- menopausia	Duración clínica (años)	Años de diagnóstico	Dolor vertebral crónico (Nº pacientes)	Dolor vertebral en crisis (nº pacientes)
<i>Pacientes con osteoporosis</i> (n= 7)	54.5 ± 7.2	9.1 ± 8.0 (6/7)	5.4 ± 2.8	4.2 ± 2.3	3	3
<i>Pacientes sin osteoporosis</i> (n = 13)	45.4 ± 11.0	2.0 ± 1.0 (3/11)	2.0 ± 2.1	1.5 ± 1.7	3	0
<i>p</i>	NS	NS	0.007	0.008	NS	0.01

TABLA XX. DIFERENCIAS DE LOS PARAMETROS HISTODINAMICOS ENTRE LOS PACIENTES CON Y SIN OSTEOPOROSIS

caso nº	marcajes trabeculares/ corticales	\bar{M} trabecular $\mu\text{m}/\text{día}$	MLT días	BFR $\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2/\text{día}$	
2	D	0.31	9.0	0.97	
4	U	0	-	0	
7	D	0.61	18.8	0.32	
11	D	0.42	17.4	0.47	
16	D	0.97	104.0	0.13	
18	U	0	-	0	
20	D	0.36	29.8	0.17	- OSTEOPOROSIS -
1	U	0	-	0	
3	D*	0	-	0	
5	D	0.65	35.5	0.30	
6	D*	0	-	0	
8	D*	0	-	0	
9	D	0.78	6.3	0.61	
10	D *	0.	-	0	
12	U	0	-	0	
13	D	0.55	34.3	0.18	
14	U	0	-	0	
17	D*	0	-	0	
19	D	0.87	11.1	0.74	- NO OSTEOPOROSIS -

D* = corticales

TABLA XXI. DIFERENCIAS EN LOS PARAMETROS BIOQUIMICOS DE COLESTASIS E INSUFICIENCIA HEPATOCELULAR ENTRE LOS PACIENTES CON Y SIN OSTEOPOROSIS

	Bilirrubina total mg/dl	Fosfatasa alcalina VI/l	Sales Biliares Umol/l	Colesterol mg/dl	Albumina g/l	Tasa de pro- tombina %
<i>Pacientes con osteoporosis</i> (n = 7)	10.0 ± 13.2	1453.2 ± 590.7	45.8 ± 24.5	229.5 ± 87.1	36.2 ± 5.1	86.4 ± 23.5
<i>Pacientes sin osteoporosis</i> (n=13)	4.7 ± 6.2	1548.2 ± 820.4	43.6 ± 25.8	332.7 ± 109.0	37.3 ± 4.0	97.3 ± 9.3
p	NS	NS	NS	0.04	NS	NS

TABLA XXII. DIFERENCIAS EN LOS PARAMETROS BIOQUIMICOS DEL METABOLISMO MINERAL ENTRE LOS PACIENTES CON Y SIN OSTEOPOROSIS

	calcio iónico mEq/l	calcio total mg/dl	fósforo mg/dl	magnesio mg/dl	excreción uri naria de calcio Cao/Cr ₀	excreción urinaria de hidroxiprolina mg/24 h.	Hpo/Cr ₀
<i>Pacientes con osteoporosis</i> (n = 7)	2.04 ± 0.28	8.7 ± 0.5	3.7 ± 0.5	1.5 ± 0.6	0.09 ± 0.06	23.2 ± 3.8	0.03 ± 0.01
<i>Pacientes sin osteoporosis</i> (n= 13)	2.20 ± 0.28	9.6 ± 0.8	4.0 ± 0.4	1.9 ± 0.2	0.06 ± 0.02	28.3 ± 14.9	0.04 ± 0.02
p	NS	0.02	NS	NS	NS	NS	NS

TABLA XXIII. DIFERENCIAS EN LOS PARAMETROS HORMONALES DEL METABOLISMO MINERAL ENTRE LOS PACIENTES CON Y SIN OSTEOPOROSIS

	PTH - N pg/ml	PTH - C ng/ml	Calcitonina pg/ml	25-OH D ng/ml	1,25 (OH) ₂ D pg/ml
<i>Pacientes con osteoporosis</i> (n = 7)	12.8 ± 3.9	0.28 ± 0.13	57.0 ± 25.1	5.6 ± 1.7	30.3 ± 10.1
<i>Pacientes sin osteoporosis</i> (n = 13)	17.2 ± 5.2	0.33 ± 0.18	60.0 ± 25.9	7.8 ± 2.7	40.6 ± 14.4
p	NS	NS	NS	NS	NS

TABLA XXIV. DIFERENCIAS EN CIERTAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LOS PACIENTES CON TRASTORNO DE MINERALIZACIÓN RESPECTO A LOS PACIENTES CON OSTEOPOROSIS AISLADA Y A LOS PACIENTES SIN PATOLOGÍA METABÓLICA OSEA

	Edad (años)	Años de post- menopausia	Duración clínica (años)	Años de diagnóstico	Tratamiento con barbitúricos (nº pacientes)	Tratamiento con resin-colesterona mina (nºpacientes)
Pacientes con trastorno de mineralización (n = 3)	51.0 ± 4.6	3.5 ± 3.5	6.6 ± 2.5	5.0 ± 1.7	2*	3*
Pacientes con osteoporosis aislada (n = 4)	57.2 ± 8.2	12.0 ± 8.5	4.5 ± 3.1	3.7 ± 2.8	1	0
Pacientes sin patología metabólica ósea (n = 13)	45.4 ± 11.0	2.0 ± 1.0	2.0 ± 2.1	1.5 ± 1.7	5*	3*

* (mismos pacientes)

TABLA XXV. DIFERENCIAS EN LOS PARAMETROS BIOQUIMICOS DE COLESTASIS E INSUFICIENCIA HEPATOCELULAR DE LOS PACIENTES CON TRASTORNO DE MINERALIZACION RESPECTO A LOS PACIENTES CON OSTEOPOROSIS AISLADA Y A LOS PACIENTES SIN PATOLOGIA METABOLICA OSEA

	Bilirrubina total mg/dl	Fosfatasa alcalina VI/l	Sales biliares umol/l	Colesterol mg/dl	Albumina g/l	Tasa de Pro- trombina %
Pacientes con trastorno de mineralización (n = 3)	10.5 ± 13.7	1625.6 ± 699.4	64.0 ± 21.1	278.0 ± 86.5	38.2 ± 6.7	86.6 ± 23.1
Pacientes con osteoporo- sis aislada (n = 4)	9.7 ± 15.0	1323.9 ± 565.5	27.6 ± 8.3	193.2 ± 78.1	34.6 ± 3.9	86.2 ± 27.5
Pacientes sin patología metabólica ósea (n = 13)	4.7 ± 6.2	1548.2 ± 820.4	43.6 ± 25.8	332.7 ± 109.0	37.3 ± 4.0	97.3 ± 9.7

TABLA XXVI. DIFERENCIAS EN LOS PARAMETROS BIOQUIMICOS DEL METABOLISMO MINERAL DE LOS PACIENTES CON TRASTORNO DE MINERALIZACION RESPECTO A LOS PACIENTES CON OSTEOPOROSIS AISLADA Y A LOS PACIENTES SIN PATOLOGIA METABOLICA OSEA

	calcio iónico mEq/l	calcio total mg/dl	fósforo mg/dl	magnesio mg/dl	excreción uri- naria de calcio Ca _o /Cr _o	excreción urinaria de hidroxiprolina mg / 24 h. Hpo/Cr _p
Pacientes con trastorno de mineralización (n = 3)	2.24 ± 0.09	8.5 ± 0.8	4.1 ± 0.6	1.4 ± 1.0	0.050 ± 0.028	25.7 ± 4.6
Pacientes con osteoporo- sis aislada (n = 4)	1.89 ± 0.29	8.9 ± 0.1	3.4 ± 0.3	1.6 ± 0.3	0.115 ± 0.071	21.5 ± 2.7
Pacientes sin patología metabólica ósea (n = 13)	2.20 ± 0.28	9.6 ± 0.8	4.0 ± 0.4	1.9 ± 0.2	0.060 ± 0.029	28.3 ± 14.9

TABLA XXVII. DIFERENCIAS EN LOS PARAMETROS HORMONALES DEL METABOLISMO MINERAL DE LOS PACIENTES CON TRASTORNO DE MINERALIZACION RESPECTO A LOS PACIENTES CON OSTEOPOROSIS AISLADA Y A LOS PACIENTES SIN PATOLOGIA METABOLICA OSEA

	PTH-N pg/ml	PTH-C ng/ml	Calcitonina pg/ml	25-OH D ng/ml	1,25 (OH) ₂ D pg/ml
Pacientes con trastorno de mineralización (n=3)	13.9 ± 7.5	0.20 ± 0.10	58.0 ± 19.8	4.5 ± 1.8	30.7 ± 13.1
Pacientes con osteoporosis aislada (n=4)	12.0 ± 1.0	0.34 ± 0.13	56.5 ± 31.9	6.4 ± 1.8	30.0 ± 9.5
Pacientes sin patología metabólica ósea (n=13)	17.2 ± 5.2	0.33 ± 0.18	60.0 ± 25.9	7.8 ± 2.7	40.6 ± 14.4



Fig. 1 Trócar de biopsia ósea transiliáca (Trócar de Bordier)

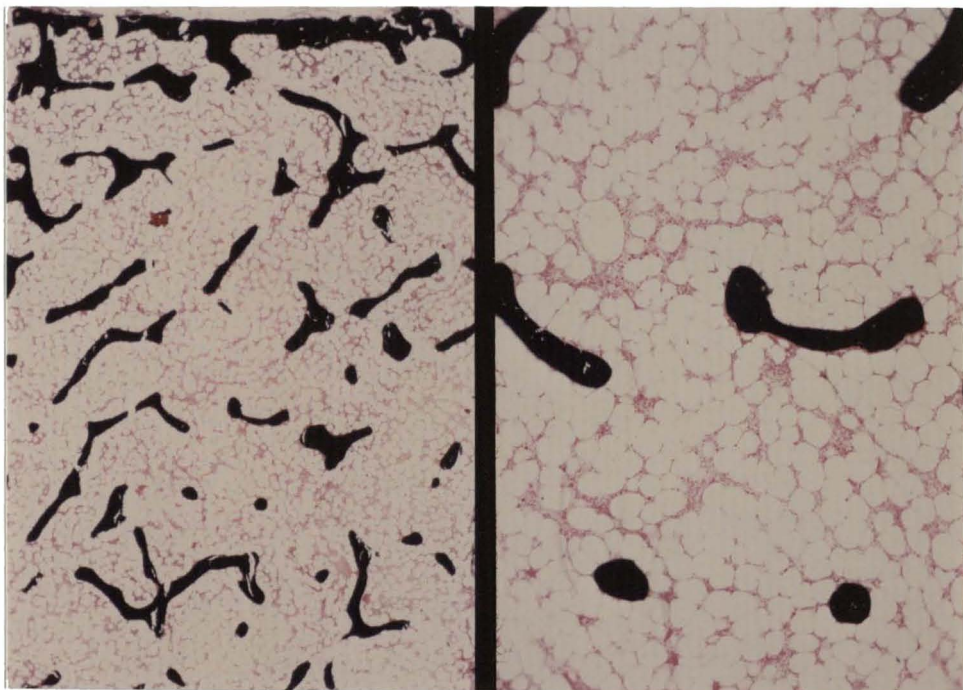


Fig. 2 Osteoporosis (caso nº 7). Disminución de la masa ósea trabecular y cortical (tinción de Von Kossa, 25 x). Detalle de la reducción de la masa ósea trabecular: Véase la disminución del número y grosor de las trabéculas, que no conectan entre sí (tinción de Von Kossa, 100 X).

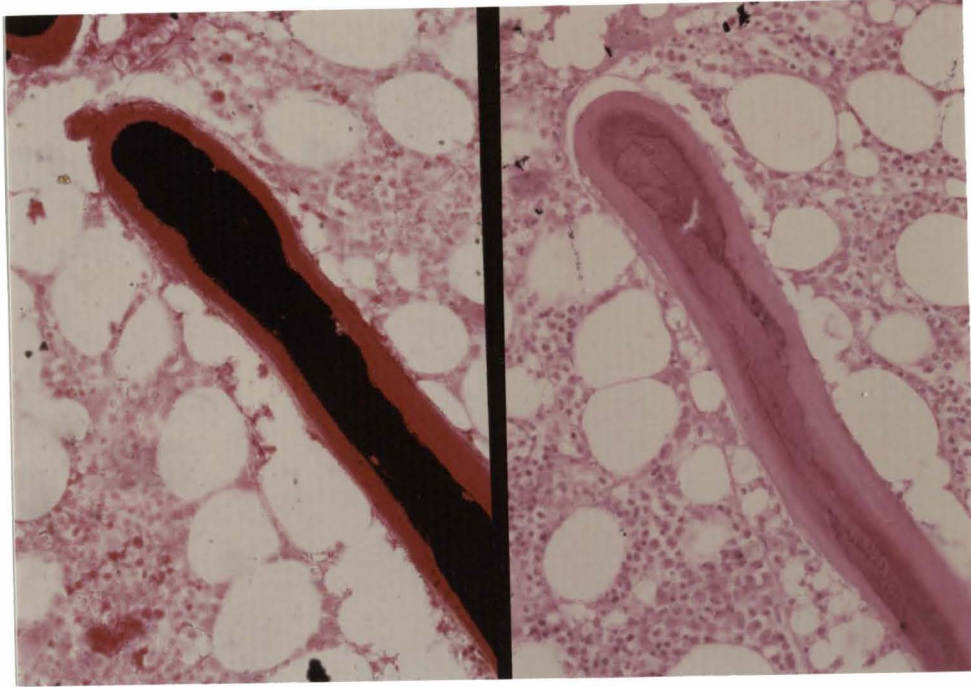


Fig. 3 Trabécula recubierta por ribete de osteoide ligeramente aumentado de grosor. No se observan osteoblastos. Caso n° 18 (tinciones: Von Kossa y hematoxilina-eosina, 250 x).

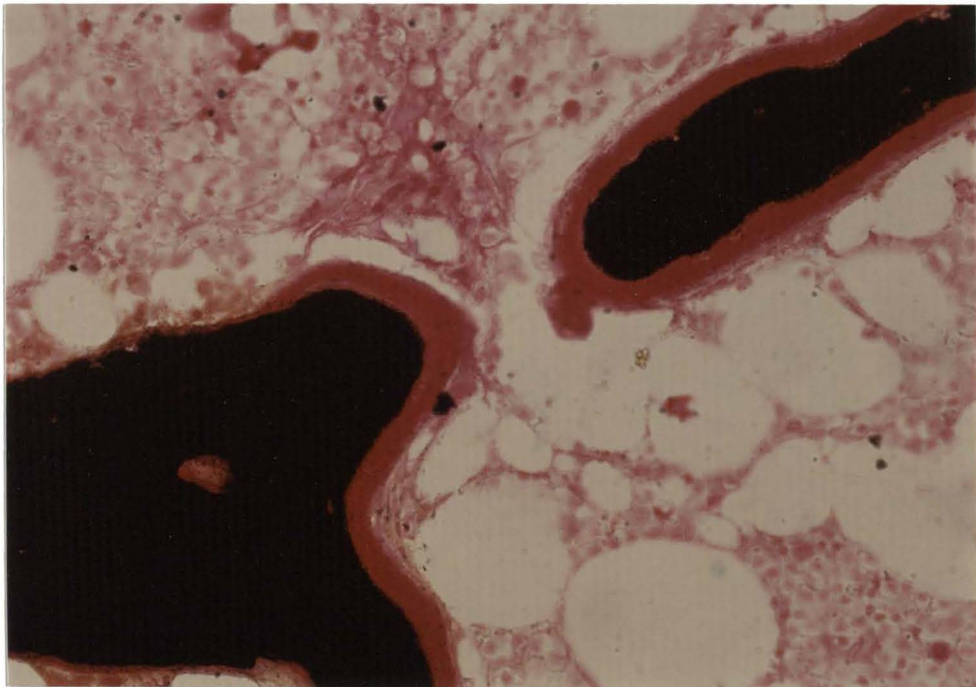


Fig. 4 Superficies trabeculares recubiertas por osteoide. Caso n° 18 (tinción de Von Kossa, 250 x).

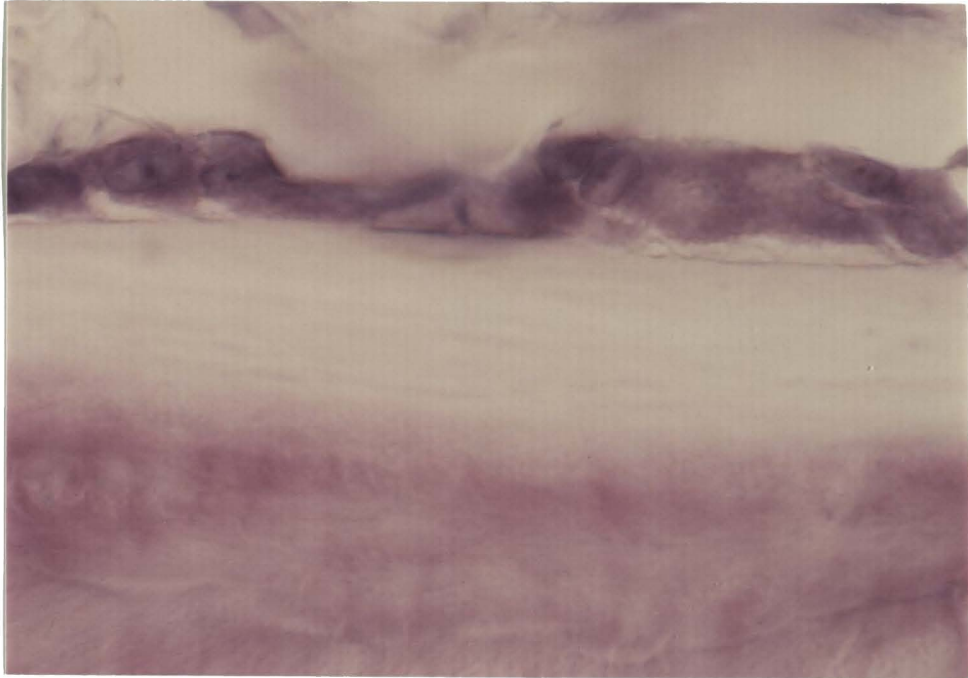


Fig. 5 Banda de osteoide recubierta por ribete de osteoblastos cúbicos. Caso nº 19 (tinción: azul de toluidina, 400 x).

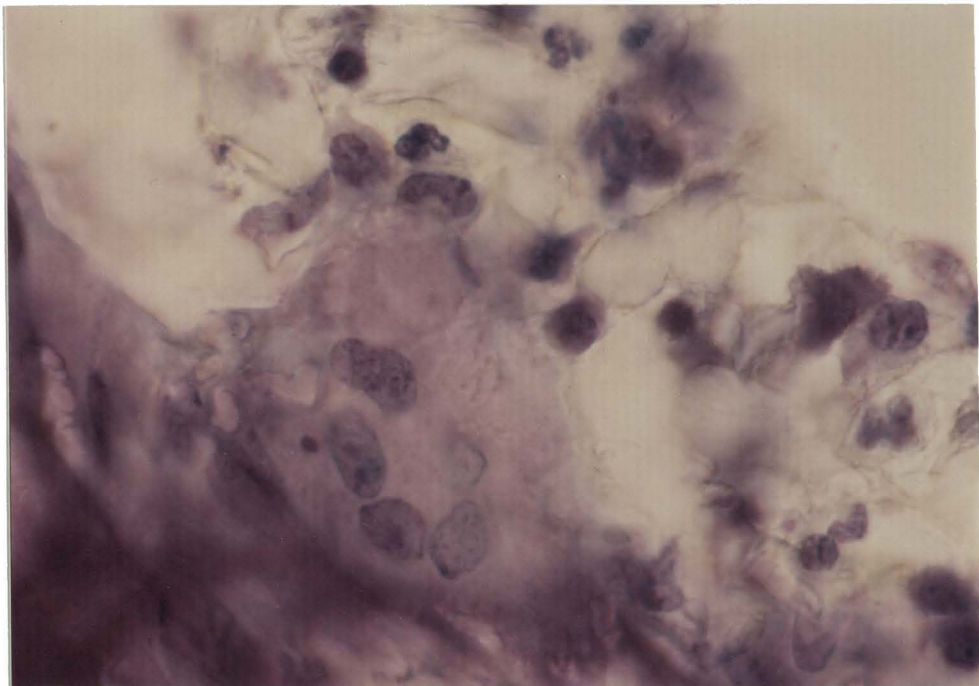
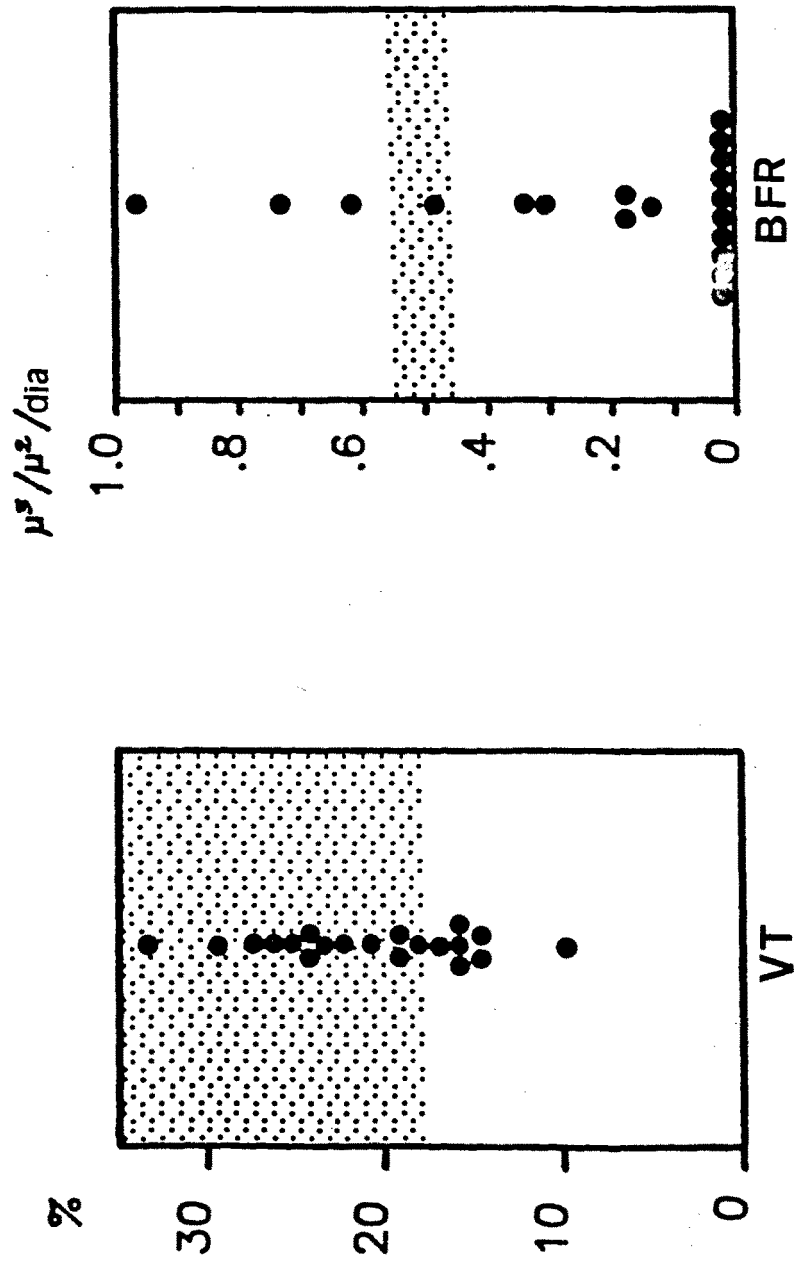


Fig. 6 Osteoclasto multinucleado en laguna de Howship. Caso nº 19 (tinción: azul de toluidina, 400 x).



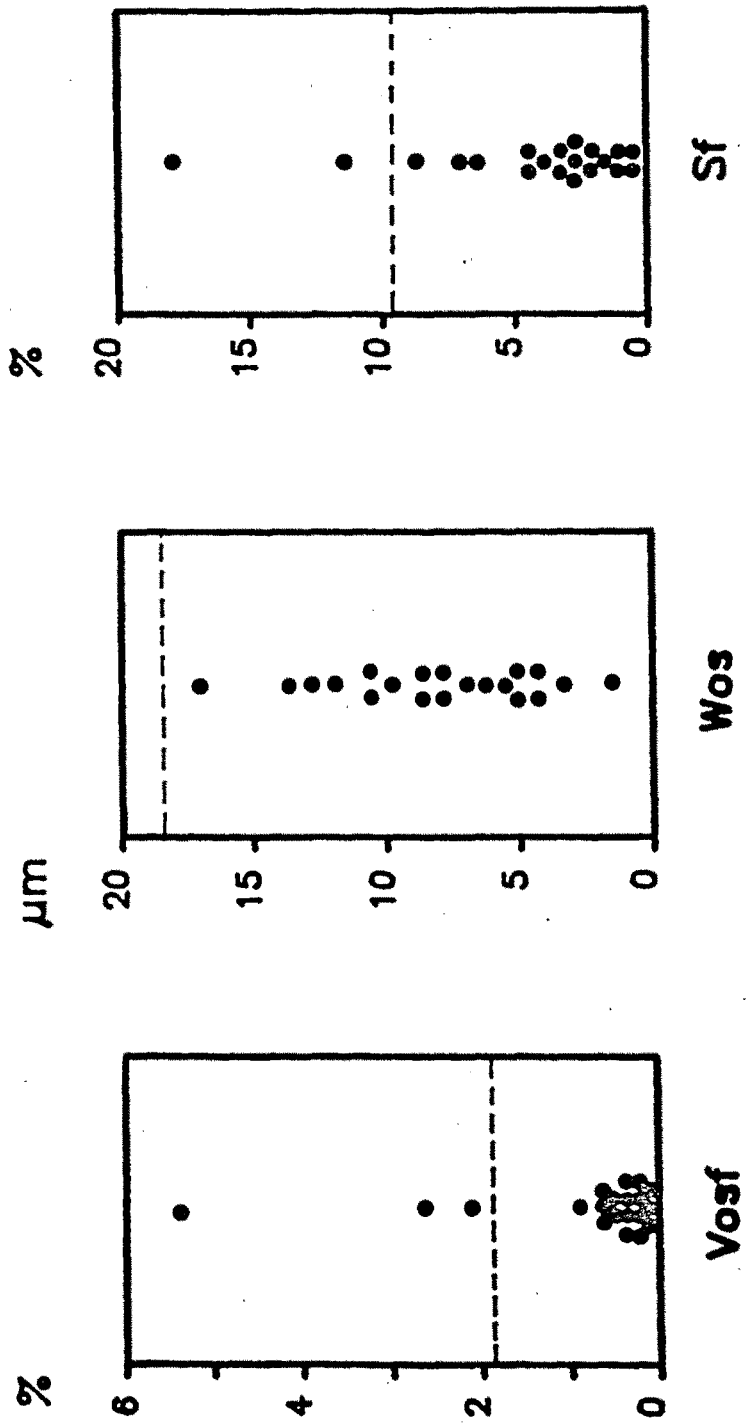
Fig. 7 Ausencia de depósitos de cobre en la superficie trabecular (tinción de rhodanina, 100 x).

FIG 8. VOLUMEN TRABECULAR (VT) E INDICE DE FORMACION OSEA (BFR) EN LA CBP



La zona sombreada de la figura corresponde a los valores normales

FIG 9. VOLUMEN FRACCIONAL DE OSTEOIDE (Vosf), GROSOR DE OSTEOIDE (Wos) Y SUPERFICIE DE FORMACION (Sf) EN LA CBP



Las líneas discontinuas indican los límites superiores de la normalidad

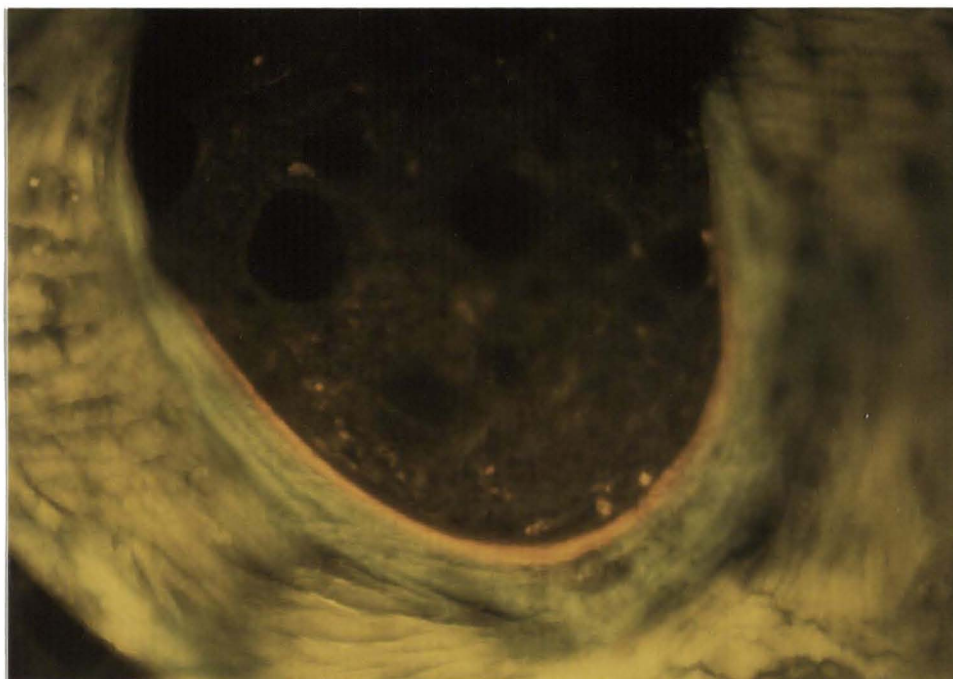


Fig. 10 "Marcaje" único de tetraciclina (caso n° 18, 160 x).

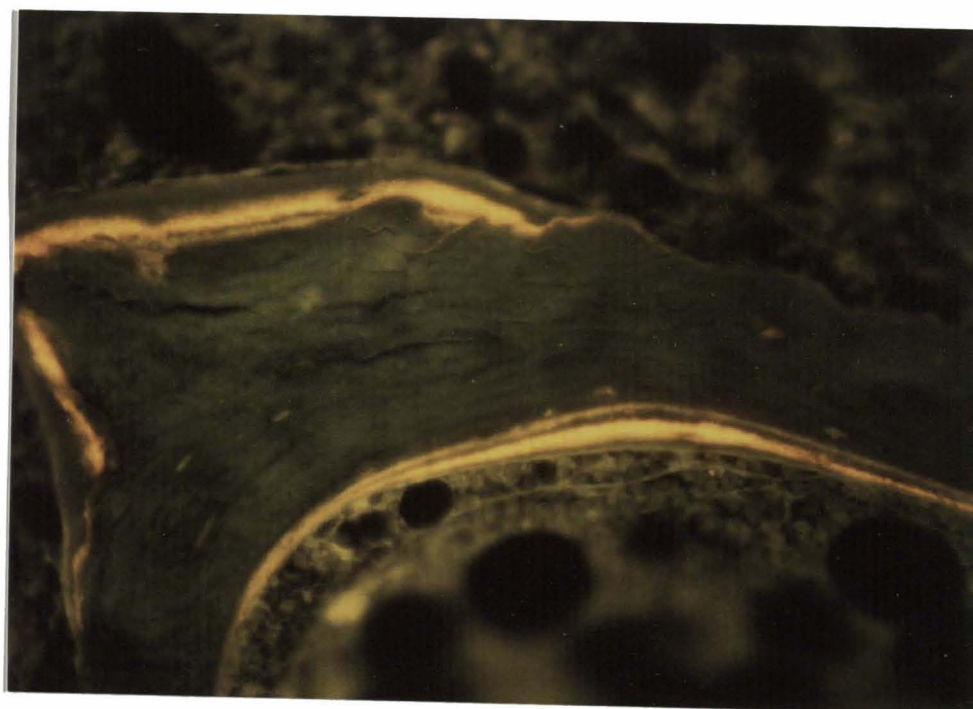


Fig. 11 Trabécula con dobles "marcajes" de tetraciclina. Obsérvense las dos bandas fluorescentes en la superficie de la trabécula (caso n° 11, 160 x).

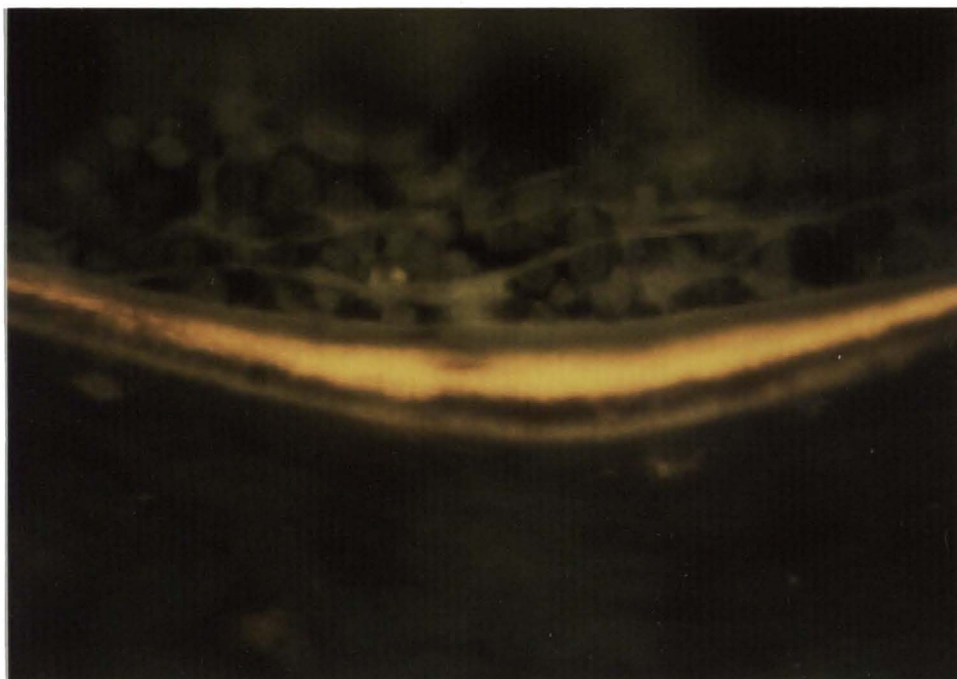


Fig. 12 "Marcaje" doble de tetraciclinas. (Caso n^o 11, 250 x).

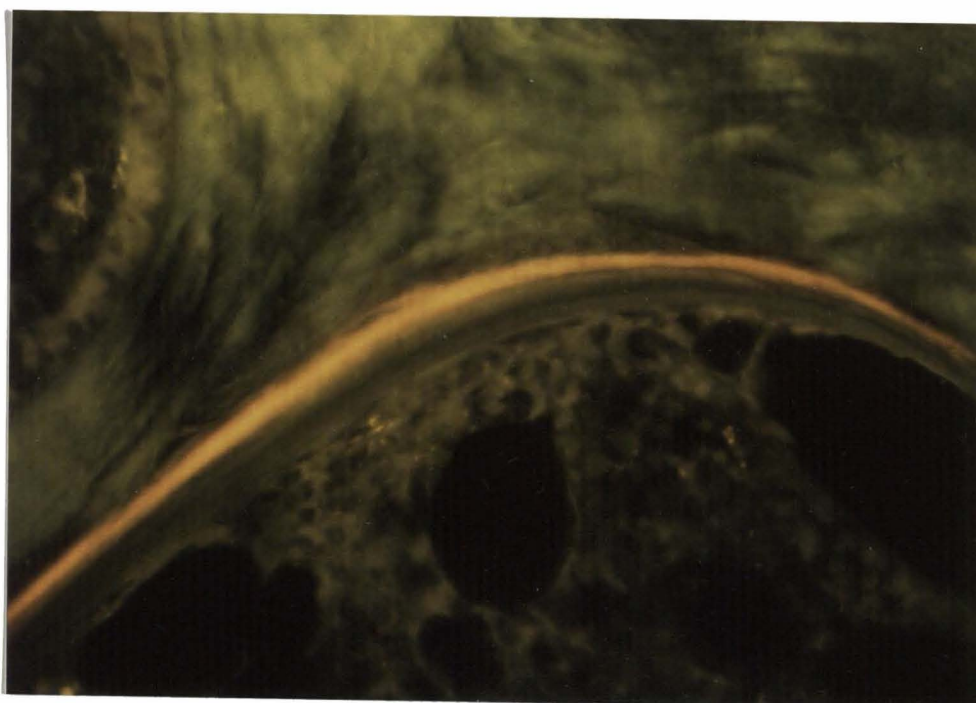


Fig. 13 Observése la nitidez y buena definición de esta banda única de fluorescencia en la superficie de una trabécula (caso n^o 4, 250 x).

FIG 14. RELACION ENTRE LA EDAD Y EL VOLUMEN TRABECULAR(VT) DE LOS PACIENTES CON CBP

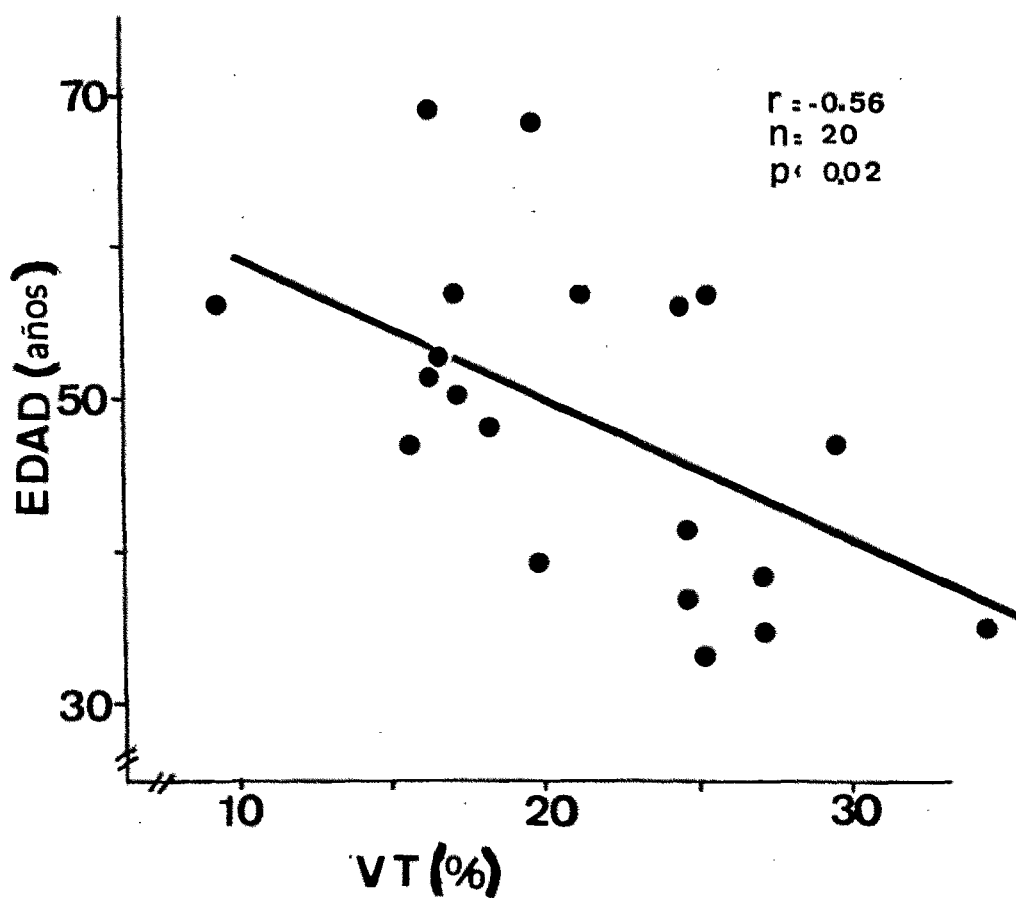
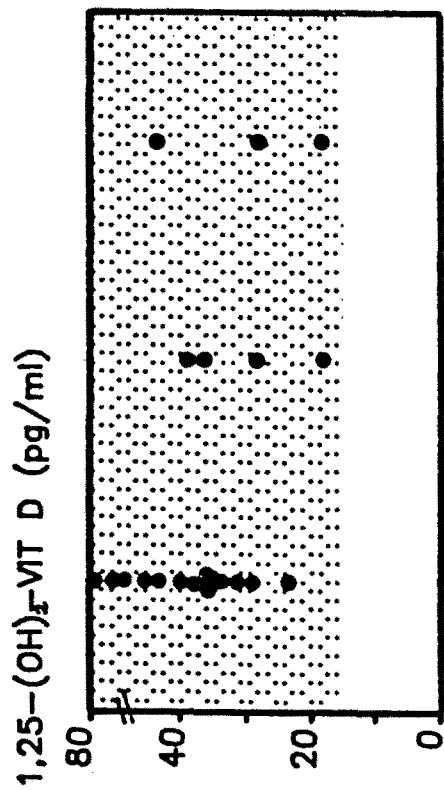
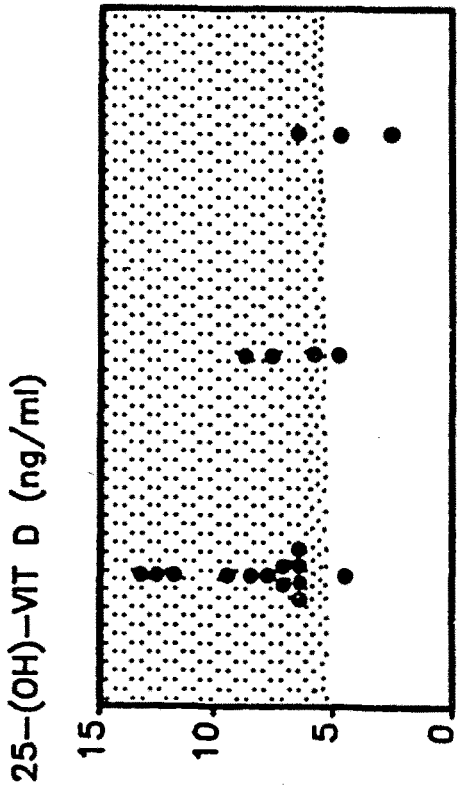


FIG 15. NIVELES SERICOS DE VITAMINA D EN LA

CBP



Sin patologia ósea sólo + alter. mineralización
osteoporosis

La zona sombreada de la figura corresponde a los valores normales

FIG 16. RELACION ENTRE LOS AÑOS DE EVOLUCION DE LA CBP Y EL VOLUMEN FRACCIONAL DE OSTEODE

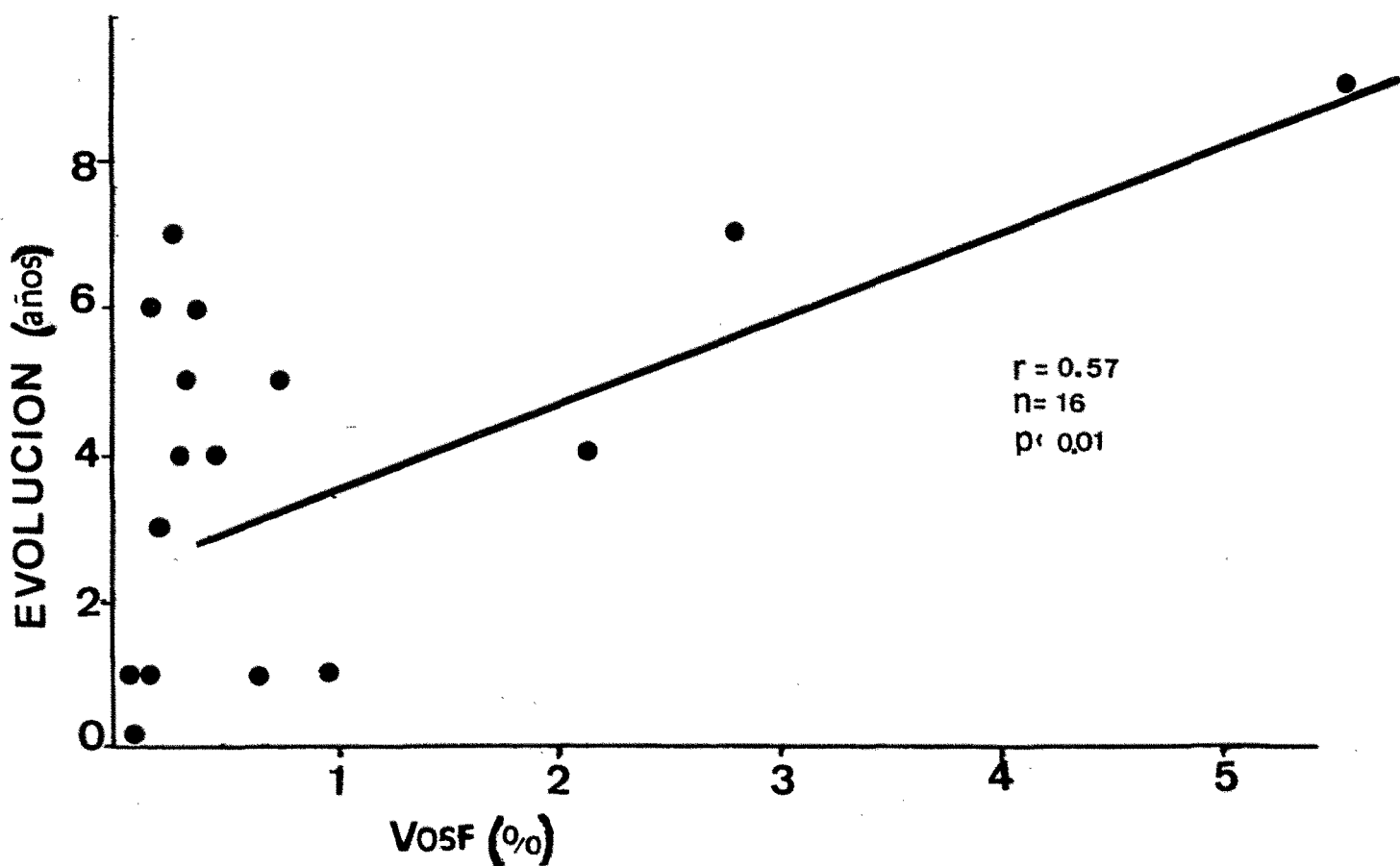


FIG17. RELACION ENTRE VOLUMEN TRABECULAR Y NIVELES SERICOS DE 25-OH VIT. D

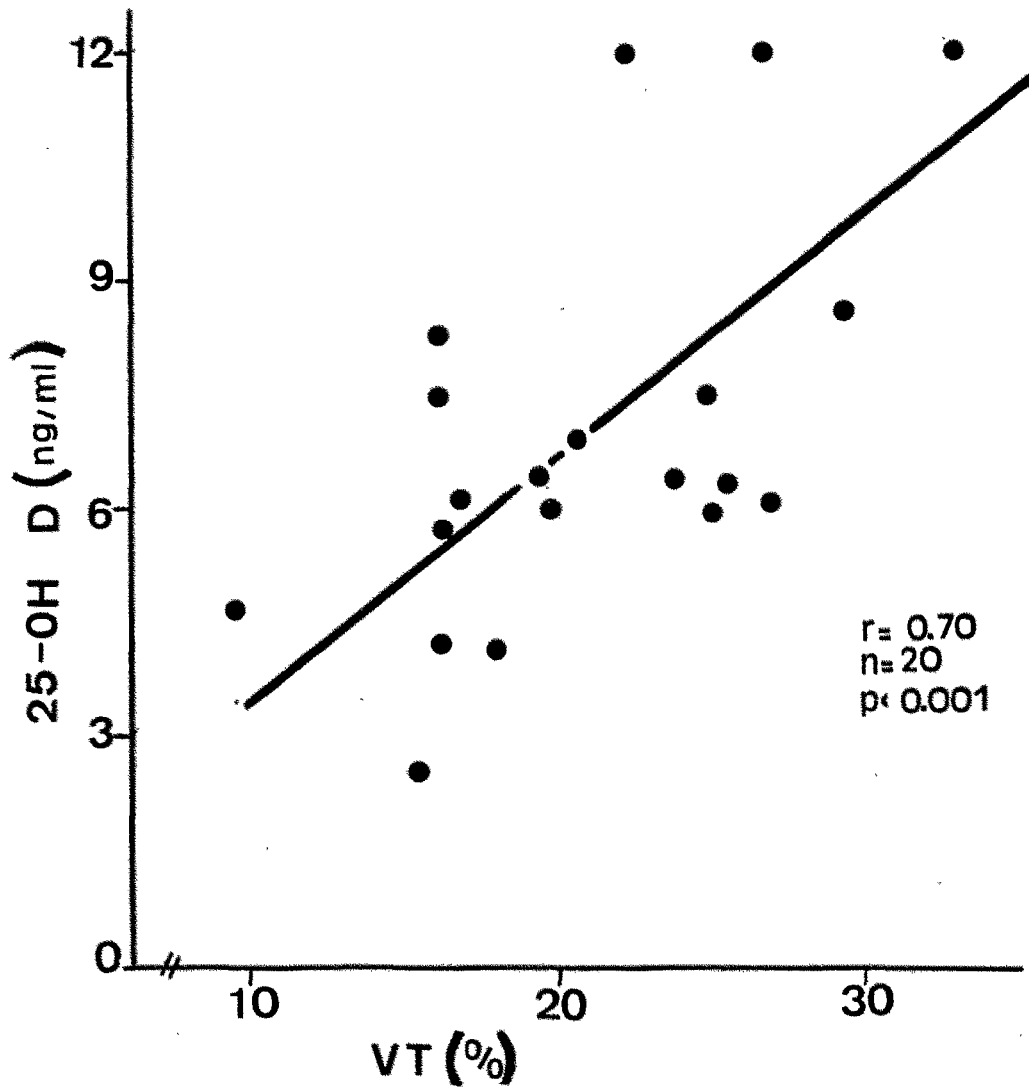
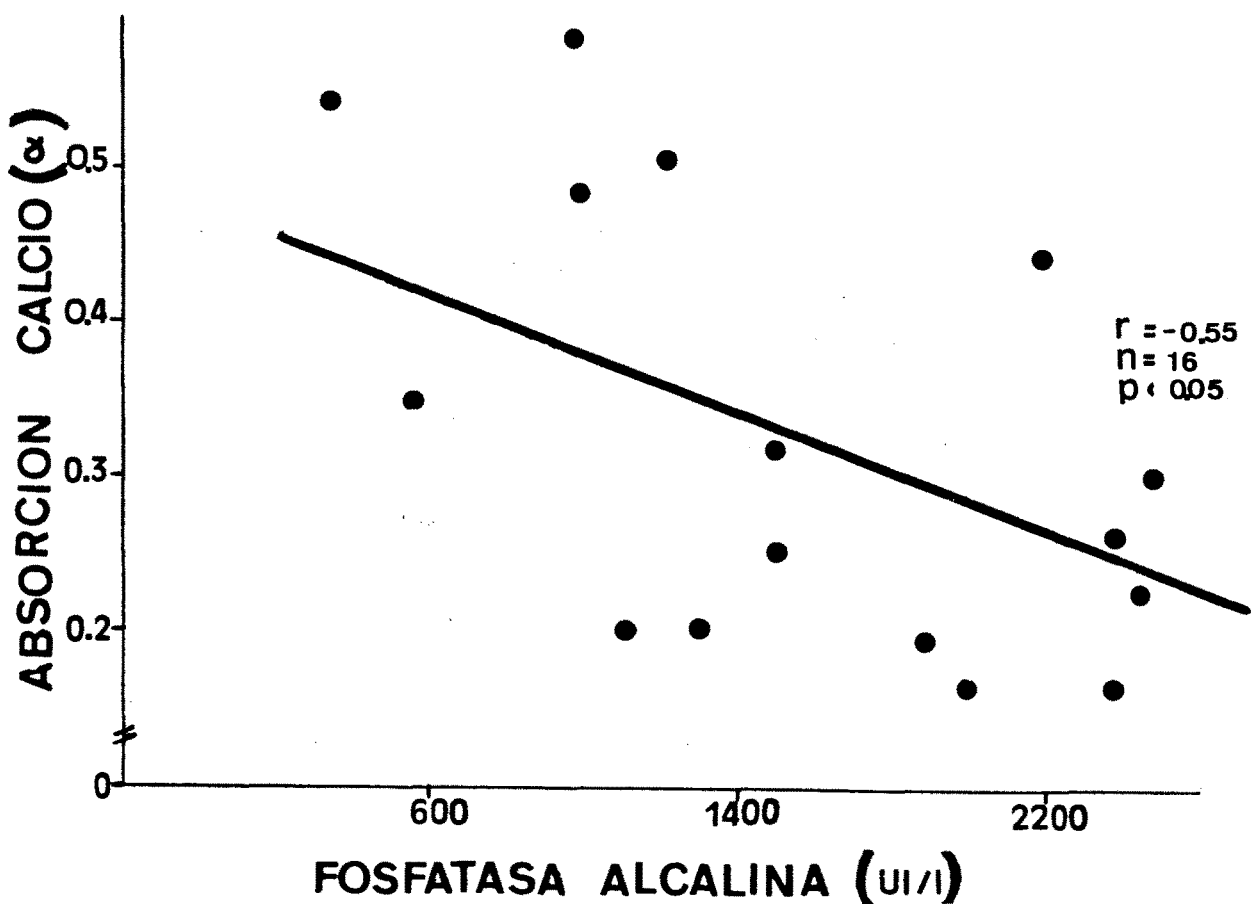
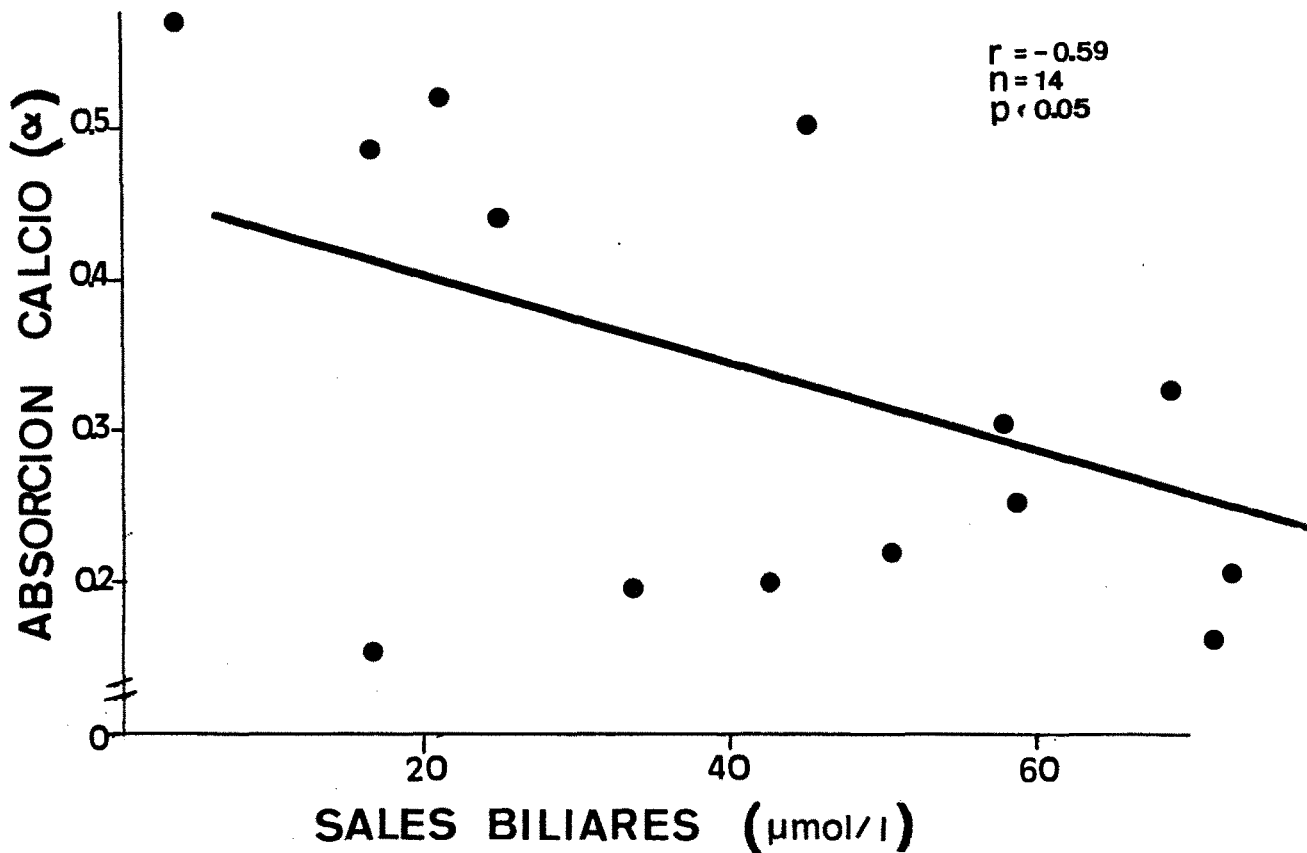


FIG18.RELACION ENTRE LA ABSORCION INTESTINAL DE CALCIO Y LA SEVERIDAD DE LA COLESTASIS BIOLÓGICA



- COMENTARIOS Y CONCLUSIONES

PATOLOGIA METABOLICA OSEA ASOCIADA A LA CBP. TIPO Y PREVALENCIA. SUS

CARACTERISTICAS HISTOLOGICAS

Este estudio demuestra que la osteoporosis es la enfermedad metabólica ósea que comúnmente se asocia a la CBP. Siete pacientes de esta serie (35%) tenían una osteoporosis al ser su volumen trabecular óseo inferior al considerado normal para su edad y sexo, además, cuatro de ellos tenían fracturas vertebrales junto a osteopenia radiológica. Ya en un estudio preliminar, basándonos sólo en criterios radiológicos, habíamos hallado una prevalencia de osteopenia del 57% en un grupo de 14 pacientes, frente a un 8% de un grupo control (184). Estos resultados son similares a los hallados por otros autores. Así, en una serie de 36 pacientes con colestasis crónica estudiados por Stellan et al (177), seis pacientes (17%) tenían una disminución del volumen trabecular, pero cuando además se utilizaba como criterio alternativo en el diagnóstico de osteoporosis la existencia de fracturas vertebrales, la prevalencia de esta enfermedad aumentaba a un 36%. De forma similar, Hodgson et al. (147) determinan una disminución del volumen trabecular en dos de 13 pacientes con CBP (15.4%) pero cuando evalúan la masa ósea mediante densitometría fotónica dual hallan que seis pacientes (46%) tenían una densidad mineral de columna lumbar inferior al umbral teórico de fractura. No todos los investigadores están de acuerdo en estas prevalencias de osteoporosis en la CBP, de tal forma que Cuthbert et al. (146) detectan una prevalencia del 9% en su serie de 11 pacientes mientras que Matloff et al. (144) hallan que nueve de sus 10 pacientes estudiados (90%) tenían una osteoporosis, sin embargo, la elevada prevalencia de osteoporosis en esta serie es cuestionable ya que los pacientes habían sido seleccionados por presentar dolor óseo (7/10), fracturas espontáneas (6/10) u osteopenia difusa radiológica (7/10), pero es importante resaltar que ninguno de estos pacientes con síntomas o signos de patología ósea presentaba una osteomalacia.

La valoración de los parámetros histomorfométricos y dinámicos no sólo nos ha permitido definir la osteoporosis como la enfermedad ósea -- asociada a la CBP, sino además, nos ha permitido concluir que los pacientes con CBP tienen un estado de bajo turnover óseo, con disminución de -- la formación y de la reabsorción ósea. Esta afirmación se basa en la -- existencia de un escaso número de marcajes dobles de tetraciclina en hueso trabecular junto a una reducción del índice de formación ósea y en la existencia de una superficie de reabsorción ósea normal o disminuida en el 95% de los casos de nuestra serie.

Diez de los 19 pacientes evaluados tenían sólo marcajes únicos en hueso trabecular y no se detectaban marcajes dobles a este nivel, lo que indica que la formación de nuevo hueso trabecular o no ocurría o estaba tan deprimida que el depósito de osteoide era insuficiente para permitir la resolución de dos bandas de fluorescencia. En cinco de estos pacientes tampoco se visualizaron dobles marcajes de tetraciclina en hueso cortical, por lo que a pesar de que los enfermos fueron interrogados al respecto, no podemos descartar que no ingirieran los dos ciclos de tetraciclina o bien que se produjera una malabsorción de la tetraciclina administrada.

La reducción del índice de grosor trabecular (TTI) y del grosor promedio de osteoide (Wos) junto a una disminución de la velocidad de aposición (\bar{M}) (14 casos) y del índice de formación ósea (BFR) (15 casos) son otros parámetros que demuestran la existencia de un déficit de formación ósea en un elevado porcentaje de los pacientes que constituyen nuestra serie. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Hodgson et al. (147) y con los descritos recientemente por otros (177). El primer grupo de investigadores halla en su serie una disminución significativa del -- porcentaje de dobles marcajes de fluorescencia en la superficie trabecular y del índice de formación ósea (BFR) de tal forma que concluyen que 11 de los 13 pacientes analizados tenían una disminución importante de -- la formación ósea que atribuyen a una reducción de la función osteoblástica, pues la población de osteoblastos que recubría las bandas de os---

teoide era normal en número y en aspecto morfológico. Estos mismos autores, realizan la hipótesis de que esta inhibición de la función osteoblástica podría estar en relación con el efecto tóxico de sustancias producto de la colestasis y sugieren que el cobre podría ser el agente implicado en este mecanismo (147).

Nosotros hemos analizado la posible existencia de depósitos de cobre en todas las biopsias óseas de los pacientes de nuestra serie mediante una tinción específica para este metal y mediante análisis dispersivo de energía de RX (EDAX) aplicado a las biopsias óseas de los dos pacientes con colestasis más severa y con estadio histológico IV de su hepatopatía y no se ha evidenciado la existencia de depósitos de cobre. Por consiguiente, con las técnicas que hemos utilizado, no hemos detectado depósitos anómalos de cobre en el tejido óseo. Estos hallazgos sugieren que el cobre no es el agente responsable de la reducción de la función osteoblástica o que su depósito sea un mecanismo implicado en la patología ósea de los pacientes con CBP.

Nuestros resultados no concuerdan con los de otros grupos de investigadores (144,145) que sugieren que la patología ósea asociada a la CBP se caracteriza por un estado de alto turnover óseo. Matloff et al. (144) llegan a esta conclusión al valorar la velocidad de aposición ósea que era normal en cinco de los 10 pacientes que componían su serie. Sin embargo, el volumen (Vosf) y grosor promedio de osteoide (Wos) estaban disminuidos en la mayoría de estos pacientes, y además cinco de ellos sólo presentaban "marcajes" únicos de tetraciclina en hueso trabecular, con ausencia de bandas dobles de fluorescencia. Estos autores no incluyeron en el cálculo de la velocidad de aposición las biopsias óseas con marcajes únicos, al interpretar que este hecho quizá era secundario a una malabsorción de tetraciclinas, sin valorar que podía representar un grado de aposición ósea muy disminuido. Ello, junto a la falta de cálculo del índice de formación ósea, hace que su interpretación de la patología ósea asociada a la CBP como de alto turnover óseo sea francamente cuestionable. Por otro lado, Herlong et al. (145) determinan en un grupo de 15 pacientes con CBP una velocidad de aposición y un índice de forma-

ción ósea medios normales, aunque en el límite inferior de la normalidad y Cuthbert et al. (146), al evaluar una serie de 11 pacientes con CBP, hallan que los parámetros referidos a volumen y superficie de osteoide son bajos o están dentro de la normalidad y se asocian a una reducción del grado de aposición ósea en el 55% de sus casos, siendo este parámetro normal en las biopsias restantes. Por todo ello, y aunque el estado de bajo turnover óseo con déficit de la formación ósea constatado en nuestra serie parece ser la característica histológica ósea más sobresaliente de la CBP, no se puede excluir que un porcentaje de estos pacientes presenten una formación ósea normal, hecho que hemos hallado en cuatro de nuestros enfermos.

También existen controversias respecto a la intensidad de la reabsorción ósea que interviene en el desarrollo de la patología ósea de la CBP. En nuestro grupo de pacientes la superficie de reabsorción, que se relacionó con el número de osteoclastos, fue significativamente inferior a la del grupo control de tal forma que 14 pacientes (70%) tenían una superficie de reabsorción disminuida y sólo en cuatro pacientes (20%) la reabsorción ósea era normal. Dos trabajos recientes han evidenciado un aumento de las superficies de reabsorción en las biopsias óseas de un porcentaje elevado de pacientes con CBP (146,147), sin embargo, ello no implica necesariamente un incremento real del proceso de reabsorción ósea ya que simplemente puede reflejar una disminución de la formación ósea a nivel de la superficie trabecular previamente sometida a la acción osteoclástica, más, en ausencia de un incremento del número de osteoclastos. Así, un aumento de las superficies de reabsorción puede interpretarse como otra manifestación indirecta de un déficit de formación ósea. Sin embargo, Cuthbert et al. (146) sugieren que el aumento de la reabsorción ósea hallado en el 73% de los casos de su serie podría ser el mecanismo inicial implicado en el desarrollo de la patología ósea que complica la CBP. De forma similar, Stelson et al. (177) hallan un incremento de la superficie y de los marcadores bioquímicos de reabsorción ósea, sólo en las pacientes premenopáusicas de su serie, por lo que también sugieren que el incremento de la reabsorción puede

contribuir a la pérdida de masa ósea en la CBP. Estos hallazgos, no son confirmados por otros autores que, coincidiendo con nuestros resultados, hallan que los parámetros histológicos de reabsorción ósea son normales o están disminuidos en la CBP (134,147). Por ello, pensamos que la base fisiopatológica de la osteoporosis en la CBP es secundaria a un déficit de la función osteoblástica más que a un incremento de la reabsorción ósea.

Como se ha descrito previamente, la osteomalacia fue considerada por diversos grupos de trabajo como la patología ósea que comúnmente se asociaba a la CBP. Sin embargo, en la última década un porcentaje elevado de los investigadores de esta patología ósea están de acuerdo en que a pesar de que se puede desarrollar una osteomalacia en algunos pacientes ello es infrecuente, por lo menos en Estados Unidos (144,147). Pero, y aún en 1980 Reed et al. (139) siguen hallando que un 70% de los pacientes que formaban su serie presentaban una osteomalacia. La discordancia que existe entre estos hallazgos ha sido atribuida por Compston (133) a distintos factores: 1). la evolución en los últimos años de las técnicas de procesamiento de las biopsias óseas con lo que se ha conseguido la no decalcificación del espécimen óseo y la utilización de marcadores "in vivo", lo que ha permitido obtener información de la dinámica ósea, 2). las variaciones en la valoración de los hallazgos histológicos, y por consiguiente, la adopción de criterios no siempre estrictos para el diagnóstico histológico de osteomalacia, y por último 3). la falta de homogeneidad de las poblaciones estudiadas al estar formadas bien por pacientes seleccionados al presentar signos o síntomas sugestivos de patología ósea o bien por tratarse de series de pacientes con distintos grados de severidad de su hepatopatía. Nosotros no hemos hallado ningún caso de osteomalacia entre los 20 pacientes con CBP que comprendían nuestra serie tras analizar sus biopsias óseas sin decalcificación previa del espécimen, con utilización de marcadores óseos "in vivo" y tras adoptar unos criterios histológicos estrictos de diagnóstico de osteomalacia. Sin embargo, tres pacientes (15%) presentaban un trastorno moderado de la mineralización ósea asociado a osteoporosis que no era suficiente-

mente severo para ser clasificado como osteomalacia. Al analizar sus biopsias se evidenciaba una hiperosteoidosis, con un incremento del volumen fraccional de osteoide asociado en dos casos a un incremento de la superficie de formación, sin embargo, las bandas de osteoide tenían un grosor promedio dentro de los límites de la normalidad. El estudio dinámico confirmó el diagnóstico al evidenciarse en hueso trabecular la existencia de sólo bandas únicas de fluorescencia, bien delimitadas, en dos casos y una prolongación del intervalo de mineralización en el caso restante. La existencia de este trastorno de mineralización no es sorprendente, a pesar de que diversos grupos de investigación no hallan esta patología ósea en sus pacientes con CBP (144,146,147). Sin embargo, otros autores como Compston et al. (133) hallan en dos de 32 pacientes con colestasis crónica (6.2%) una osteomalacia "débil" y de forma similar, Kekayoglou et al. determinan en uno de sus 12 casos evaluados (8.3%) una hiperosteoidosis moderada.

Es más, Rosenberg (185) plantea la cuestión de si el diagnóstico de osteomalacia que se basa únicamente en criterios histológicos es válido, pues considera que la osteomalacia es básicamente un síndrome clínico atribuido a un déficit de vitamina D y confirmado por criterios histológicos. En nuestra serie ningún paciente presentaba síntomas o signos radiológicos sugestivos de osteomalacia y a pesar de que uno de los tres casos con trastorno de mineralización tenía una moderada hipocalcemia (no asociada a hipoalbumemia) con niveles plasmáticos de fósforo normales, los otros dos pacientes no presentaban alteraciones bioquímicas sugestivas de osteomalacia. Sin embargo, dos de ellos tenían niveles séricos de 25-OHD bajos. El análisis histológico descartó definitivamente el diagnóstico de osteomalacia.

FACTORES IMPLICADOS EN EL DESARROLLO DE LA PATOLOGIA METABOLICA OSEA ASOCIADA A LA CBP.

A). OSTEOPOROSIS

El desarrollo de osteoporosis no se relacionó con la severidad de la hepatopatía, al no existir diferencias significativas en los parámetros clínicos y bioquímicos de los pacientes con y sin osteoporosis. Sin embargo, la presencia de osteoporosis se relacionó con la duración de la enfermedad, de tal forma que la duración de la clínica de colestasis de los pacientes con osteoporosis fue significativamente más prolongada que la de los pacientes sin osteoporosis, y además, habían transcurrido más años desde el diagnóstico de la CBP en los pacientes con osteoporosis.

Estos resultados difieren parcialmente de los de Hodgson et al. (147) que determinan que la pérdida de masa ósea en la CBP no se relaciona con la duración ni con la severidad de la enfermedad hepática. Tampoco Herlong (145) y Matloff (144) hallan una correlación significativa entre el volumen trabecular y la severidad de la colestasis valorada por el grado de hiperbilirrubinemia y la concentración de la fosfatasa alcalina. Los resultados de la presente Tesis tampoco demuestran que haya una correlación entre la disminución del volumen trabecular y la intensidad de la colestasis. Sin embargo, sí que se observa que los pacientes con mayor duración de la enfermedad son los que tienen osteoporosis. Probablemente ninguno de los parámetros utilizados en el presente estudio sea buen indicativo de la intensidad de la colestasis, que por otra parte puede modificarse en el transcurso de la CBP.

Si bien se ha demostrado en nuestro grupo de pacientes que la duración de la enfermedad implicaba en riesgo para el desarrollo de osteoporosis, también es cierto que, aunque no significativamente, los enfermos con osteoporosis tenían una edad superior a la de los pacientes sin osteoporosis y además, el volumen trabecular se relaciona-

ba de forma inversa con la edad. Ello plantea la hipótesis de que la pérdida de masa ósea esté más en relación con el envejecimiento o involución que con la hepatopatía en sí. Por otro lado, la mayoría de pacientes con osteoporosis eran mujeres postmenopáusicas de tal forma que seis de las siete pacientes con osteoporosis (85.7%) pero sólo tres de las once pacientes sin osteoporosis (27.2%) eran postmenopáusicas. Esta relación entre osteoporosis y estado postmenopáusico plantea una segunda hipótesis, según la cual la pérdida de masa ósea podría estar más influenciada por la deprivación estrogénica que por la colestasis crónica. Sin embargo, considerando que un tercio de las mujeres norteamericanas de raza blanca con una edad superior a 45 años padecen una osteoporosis (185) y que su prevalencia aproximada en España es en este grupo de población alrededor de un 30% (187), la prevalencia de osteoporosis es francamente superior en las pacientes con CBP, dado que seis de las nueve mujeres postmenopáusicas (66.6%) y siete de once mujeres con una edad superior a 45 años (63.6%) padecían una osteoporosis. Ello sugiere que la pérdida de masa ósea en las pacientes con CBP no puede ser justificada únicamente por la deprivación estrogénica o por el envejecimiento, aunque probablemente sean factores que contribuyan a su desarrollo. Arnaud (142) ya había sugerido que la osteoporosis en la CBP podría estar en relación con el déficit estrogénico de la postmenopausia, sin embargo, los resultados de los trabajos en que se determinó una mayor frecuencia de osteoporosis en la CBP, y a diferencia de nuestros hallazgos, no confirmaron esta sugerencia. Así, sólo dos de las ocho pacientes con osteoporosis que formaban la serie de Matloff eran postmenopáusicas (25%) (144) y todas las pacientes estudiadas por Hodgson et al. (147) eran mujeres que reglaban regularmente. Sin embargo, más recientemente Stellan et al. (177) hallan que la disminución del volumen trabecular de su serie de pacientes con CBP en relación a un grupo control de edad y sexo similares sólo alcanzaba significación estadística al comparar los subgrupos de mujeres postmenopáusicas. Este hallazgo refuerza nuestra hipótesis según la cual el estado postmenopáusico es un factor que contribuye al desarrollo de pérdida de masa ósea en las mujeres con CBP.

La malabsorción intestinal de calcio es otro factor implicado en el desarrollo de osteoporosis en la CBP, ya que cuatro de cinco pacientes con osteoporosis (80%) pero sólo dos de once pacientes sin osteoporosis (18%) tenían un déficit de la absorción intestinal de calcio.

La presencia e intensidad de la malabsorción de calcio se relacionó indirectamente con la severidad de la colestasis al existir una relación inversa entre la capacidad intestinal de absorción de calcio y la concentración plasmática de sales biliares totales y de la fosfatasa alcalina. Por ello y a pesar de que la malabsorción de calcio no se relacionó con la existencia de esteatorrea, ni existieron diferencias cuantitativas del 14 CO_2 exhalado tras la administración de trioleína - marcada entre los pacientes con y sin osteoporosis, su relación con la severidad de la colestasis biológica nos permite sugerir que el mecanismo implicado en su desarrollo sea la formación intraluminal de jabones insolubles de calcio por precipitación de calcio de la dieta con los ácidos grasos no absorbidos. Por tanto, la malabsorción intestinal de calcio no sería más que una consecuencia indirecta del déficit de sales biliares en la luz intestinal secundario a la colestasis crónica. Distintos autores coinciden en la sugerencia de esta afirmación aunque basándose en distintas relaciones. Así, mientras Herlong et al (145) hallan que la malabsorción intestinal de calcio en la CBP se relaciona con la intensidad de la ictericia pero poco con la excreción fecal de grasas, hallazgo que confirma Matloff (144), Kekayoglou et al. (134) determinan que la malabsorción de calcio se relaciona significativamente con la excreción de grasas en heces, pero poco con la intensidad de la ictericia. De cualquier forma, la malabsorción intestinal de calcio y la colestasis crónica se relacionan entre sí.

Por otro lado, y de acuerdo con los resultados de otros autores, (151,167) no hemos hallado una relación significativa entre malabsorción intestinal de calcio y concentración sérica del metabolito activo de la vitamina D, $1,25\text{ (OH)}_2\text{D}$, cuyos niveles han sido normales en todos los pacientes que formaban nuestra serie. Sin embargo, aunque la rela--

ción no fue significativa, se observó una tendencia en el sentido que -- los pacientes con peor absorción intestinal de calcio tenían niveles de 25-OHD más bajos. Este hecho de una reducción de la vitamina D, además del fenómeno de la colestasis, podría contribuir al déficit de absorción de calcio en la CBP.

En la pérdida de masa ósea asociada a la CBP no se puede implicar la influencia de un hiperparatiroidismo secundario. Diecinueve de los -- veinte pacientes, incluidos los casos con déficit de 25-OH D, tenían una concentración sérica de parathormona amino-terminal (PTH-N) dentro de -- los límites de la normalidad y en ninguna de las biopsias óseas analizadas se observaron manifestaciones histológicas de hiperparatiroidismo. Estos resultados son similares a los descritos por la mayoría de autores de tal forma que permiten concluir a Arnaud (142) y a Hodgson (147) que en el curso de la CBP no se desarrolla un hiperparatiroidismo secundario, salvo en los casos con hipovitaminosis D en que pueden determinarse concentraciones elevadas de PTH. De todas formas, incluso en las escasas series en que se han detectado niveles altos de PTH en un reducido porcentaje de pacientes en la mayoría de ellos no se han hallado cambios histológicos relacionados con esta alteración hormonal (146,147).

Un paciente de nuestra serie (caso nº 3) presentaba una hipercalcemia asociada a un incremento moderado de la concentración plasmática de PTH-N. Este paciente fue seguido durante tres años, al cabo de los cuales se practicó una tomografía axial computorizada de glándulas paratiroides que evidenció la existencia de una masa sólida localizada en una glándula paratiroides, compatible con un adenoma. El diagnóstico de un hiperparatiroidismo primario en un paciente con CBP sugiere una coincidencia de ambos procesos, infrecuente pero no excepcional. Reed et al. (139) detectaron una hiperplasia de las cuatro glándulas paratiroides en un paciente con CBP que desarrolló una hipercalcemia con niveles séricos elevados de PTH-N. Este paciente había sido sometido a tratamiento con vitamina D y la hipercalcemia desarrollada durante el tratamiento persistió tras su retirada, lo que sugirió a estos autores que podría tratarse de un hiperparatiroidismo oculto que

se manifestó biológicamente tras la corrección de la hipovitaminosis D. Por otro lado, si se considera que la prevalencia de hiperparatiroidismo primario en la población general es de 1-3 casos/mil habitantes (188,189) es posible una coincidencia de ambos procesos como ocurrió en nuestro paciente.

El tratamiento con calcio y dosis elevadas de vitamina D no evitó que los pacientes con CBP desarrollaran una osteoporosis. Seis de los siete pacientes con osteoporosis y sólo tres de los trece pacientes sin osteoporosis habían seguido este tratamiento durante un período que oscilaba entre uno y nueve años. De ello no se puede concluir que la terapéutica con calcio y vitamina D favorezca la pérdida de masa ósea, sino que, al ser los pacientes osteoporóticos los que tenían más años de evolución clínica y de diagnóstico de su hepatopatía habían sido sometidos a este tratamiento, actuación terapéutica que no se llevó a cabo en los pacientes diagnosticados más tardíamente. Estos resultados coinciden con los de otros investigadores que tras aplicar un protocolo terapéutico con calcio y vitamina D a sus pacientes con CBP concluyen que esta terapéutica no impide la pérdida de masa ósea que sigue evolucionando a pesar del tratamiento instaurado (145). Sólo Cuthbert et al. (146) que el tratamiento parenteral con vitamina D puede retardar el desarrollo de osteoporosis en la CBP, sin embargo los restantes autores no aconsejan esta terapéutica, de tal forma que Arnaud (142) sugiere tras una revisión de este tema, que el tratamiento con vitamina D no estaría indicado en la CBP excepto administrado a dosis bajas para mantener niveles séricos normales de 25-OHD y en aquellos casos con malabsorción intestinal de calcio. El empleo de otros agentes terapéuticos como el fluoruro sódico y la calcitonina asociados a calcio se plantean como alternativas terapéuticas quizá sometidas a futuras investigaciones. El tratamiento con fluoruro sódico induce un aumento de la masa ósea al estimular la formación ósea a nivel de hueso trabecular y por ello es uno de los fármacos recomendados en el tratamiento de la osteoporosis de bajo "turnover" óseo. Sin embargo, al mismo tiempo, su administración prolongada induce un trastorno de la mineralización ósea, por lo que su utilización terapéutica en los pacientes con CBP y osteoporosis

debe ser cuidadosamente evaluada (190). Por otro lado, el tratamiento con calcitonina de la osteoporosis asociada a la CBP no tiene un fundamento fisiopatológico dado que la acción de esta hormona sintética es disminuir la reabsorción ósea, proceso que no hemos hallado incrementado en nuestros pacientes con CBP. Sólo la realización de protocolos terapéuticos que evalúen la eficacia de ambos fármacos en la osteoporosis asociada a la CBP podrán avalar uno u otro tratamiento.

B). TRASTORNO DE LA MINERALIZACION OSEA

Tres pacientes presentaban un trastorno moderado de la mineralización ósea asociado a osteoporosis. Se trataba precisamente del grupo de pacientes con una duración media más prolongada de las manifestaciones clínicas de su hepatopatía y en los que habían transcurrido más años tras el diagnóstico de su CBP. Por otro lado, y a pesar de no haber hallado ninguna relación entre los marcadores de colestasis biológica y los parámetros de valoración de osteoide, se trataba del grupo de pacientes con una alteración más severa de los parámetros bioquímicos de colestasis. Estos hallazgos, a pesar del escaso número de pacientes que incluye este grupo, nos permite sugerir que la prolongación y severidad de la colestasis biológica son factores de riesgo para el desarrollo de un trastorno de la mineralización ósea en la CBP.

En una revisión de la "osteomalacia hepática" realizada en 1982, ya se sugiere que el desarrollo de osteomalacia es más común en aquellos pacientes con colestasis prolongada (163). Sin embargo, Dibble et al. (155) no hallan diferencias entre los pacientes con y sin osteomalacia en relación a la duración de los síntomas secundarios a colestasis, salvo un aumento de la frecuencia de osteomalacia en relación a la duración del prurito. Todos sus pacientes con osteomalacia tenían una evolución clínica de más de un año de duración, por lo que sugieren que para que se desarrolle una osteomalacia se precisa una duración de la colestasis superior a un año, aunque ello no implica que en una colestasis muy prolongada deba desarrollarse una osteomalacia.

La ausencia de osteomalacia en nuestra serie de pacientes con CBP, en la que casi la mitad de sus componentes seguían tratamiento continuado con calcio y dosis elevadas de vitamina D₂, plantea la hipótesis de si la profilaxis con vitamina D evita en estos pacientes el desarrollo del trastorno de mineralización ósea, o bien, que el desarrollo del trastorno de mineralización ósea sea menos intenso. De hecho, los tres pacientes de nuestra serie con un trastorno moderado de la mineralización ósea habían seguido este tratamiento durante un período de tiempo que oscilaba entre uno y siete años.

Compston et al. (138) hallaron una marcada diferencia en la severidad de la osteomalacia que presentaban sus pacientes con CBP en función de si habían seguido o no tratamiento profiláctico con vitamina D, de tal forma que los pacientes que habían sido sometidos a esta terapéutica presentaban una osteomalacia "moderada" en comparación a los pacientes no tratados, por lo que la profilaxis con vitamina D puede evitar que los pacientes con CBP desarrollen una osteomalacia "severa". El trastorno moderado de la mineralización ósea que presentaban tres de nuestros pacientes podría tratarse de una fase "precoz o inicial" de una osteomalacia que quizá su evolución a ella se llegaría a producir con una mayor duración de la CBP o bien, que se hubiera desarrollado en caso de no haberse instaurado el tratamiento con vitamina D.

El déficit de vitamina D ha sido considerado el factor responsable de la osteomalacia en la CBP y ha sido atribuido a distintos factores comentados en un apartado previo. (Tabla VIII). Cuatro de nuestros pacientes (20%) tenían una disminución de los niveles séricos de 25-OHD, pero sólo dos de ellos presentaban un trastorno de la mineralización ósea. Es importante resaltar que las determinaciones séricas del metabolito 25-OHD no estaban falseadas por la administración exógena de vitamina D, dado que este tratamiento había sido suspendido un tiempo prudencial (tres meses) previa la inclusión de los pacientes en el protocolo, al ser la vida media plasmática de la vitamina administrada de 4 a 5 días, y la persistencia del efecto tras ser retirada - de 6 a 18 semanas (128), muestra de ello es que dos de los cuatro pacien-

tes con déficit de 25-OHD seguían tratamiento con vitamina D, y de ellos, uno era el paciente con niveles séricos más bajos.

El déficit de 25-OH D observado en dos de los tres pacientes con trastorno moderado de la mineralización ósea sugiere que el "status" deficitario de vitamina D interviene en el desarrollo de esta patología ósea asociada a la CBP, que además, es predecible, aunque no absolutamente, por esta alteración hormonal. Sin embargo, es controvertida la correlación entre el grado de depresión de la concentración sérica de 25-OH D y la presencia de este proceso histológico (137). El tercer paciente de nuestra serie con trastorno de la mineralización ósea presentaba unos niveles de 25-OH D dentro de la normalidad, aunque en sus límites bajos. De forma similar Long et al. (137) no hallan una relación entre la existencia de un déficit de 25-OH D y la presencia de osteomalacia y dos de los cinco pacientes con osteomalacia estudiados por Reed et al. (139) tenían niveles normales de 25-OH D, aunque en el límite bajo de la normalidad.

Por otro lado, dos de los 17 pacientes sin trastorno de la mineralización ósea tenían unos niveles séricos bajos de 25-OH D. Esto no es sorprendente, de tal forma que cuatro de los 15 pacientes (20%) que formaban la serie de Hodgson et al., en la que no se detectó ningún caso de osteomalacia, tenían un déficit de 25-OH D (147). De forma similar, Kaplan et al. (151) hallan unos niveles bajos de 25-OH D en uno de los 10 pacientes que formaban su serie en la que no se diagnosticó ningún caso de osteomalacia. El mecanismo por el que ciertos pacientes con CBP desarrollan niveles bajos de 25-OH D no asociados a una evidencia histológica de osteomalacia es desconocido. Quizá ello represente una duración insuficiente del déficit de vitamina D para el desarrollo de osteomalacia, o bien, que en el desarrollo de esta patología ósea intervengan otros factores adicionales.

C). VITAMINA D. ASPECTOS DE SU METABOLISMO EN LOS PACIENTES CON CBP.

Aunque no se ha investigado de forma expresa el metabolismo de la vitamina D (absorción, excreción,..) en esta serie de pacientes, es inte

resante resaltar ciertos aspectos de su metabolismo observados en este trabajo:

Síntesis endógena de vitamina D. El desarrollo de niveles bajos de vitamina D es relativamente frecuente en países con escasa exposición a la radiación ultravioleta, como por ejemplo Gran Bretaña. Sin embargo, es evidente que en España la insolación no es deficitaria, como se observa en la tabla XXVIII, que expone las horas de insolación anual registradas en Cataluña. Por otro lado, sólo uno de los 20 pacientes que formaban nuestra serie (caso nº 20), tenía una exposición al sol deficitaria por una reclusión en su domicilio durante los dos últimos años y se trataba precisamente de un paciente con niveles séricos normales de 25-OH D. Los restantes pacientes tenían una exposición solar habitual (aire libre) superior a una hora al día. De ello se deduce que, salvo que la ictericia cutánea sea un factor que interfiera la síntesis endógena de vitamina D, hecho que no se ha confirmado, no se puede considerar este mecanismo como responsable de los niveles bajos de 25-OH D en cuatro de nuestros pacientes. Es posible de todas formas que, tal como se ha comentado en un apartado previo, el "sol de España" sea un factor protector del desarrollo de osteomalacia en los pacientes con CBP.

Inducción enzimática por medicamentos a metabolitos inactivos. Ocho pacientes seguían tratamiento regular con fenobarbital con el fin de disminuir su prurito, de ellos, sólo dos pacientes tenían un "status" deficitario de vitamina D. Por otro lado, sólo dos de los tres pacientes con un trastorno moderado de la mineralización ósea seguían tratamiento con barbitúricos y de ellos, sólo un paciente tenía niveles séricos de 25-OH D bajos. Por ello, tampoco se puede concluir que el tratamiento con fenobarbital sea una causa evidente del déficit de 25-OH D observado en el 20% de nuestros pacientes, ni que sea un factor responsable del desarrollo del trastorno de mineralización observado en tres de nuestros pacientes.

Influencia de la terapéutica con resín-colesteramina en los niveles séricos de 25-OH D. La resín-colesteramina, al interferir la circulación entero-hepática y la absorción intestinal de la vitamina D de la dieta, ha sido considerada por ciertos autores como un factor de riesgo mayor para el desarrollo de un déficit de 25-OH D y de osteomalacia en los pacientes con CBP (149). Sin embargo, otros investigadores (139) obtienen resultados más inciertos. Nosotros, de forma similar a estos últimos, no hemos hallado una franca relación entre tratamiento prolongado con resín-colesteramina y desarrollo de niveles bajos de 25-OH D, ya que sólo dos de los cuatro pacientes con déficit de 25-OH D seguían este tratamiento para control de su prurito, aunque, se trataba precisamente de pacientes con trastorno de la mineralización ósea.

1,25 Dihidroxitivitamina D en la CBP. Los niveles séricos del metabolito activo de la vitamina D, 1,25 (OH)₂ D, fueron normales en todos los pacientes de nuestra serie, incluso en aquellos pacientes con déficit de 25-OH D. Estos resultados son similares a los obtenidos por Herlong et al. (145) y por Kaplan et al. (151) que sugieren que esta concentración de 1,25 (OH)₂ D es suficiente para que a pesar de la existencia de niveles deficitarios de 25-OH D la mineralización ósea se produzca normalmente. Además, de acuerdo con nuestros resultados, tampoco hallaron una correlación entre los niveles séricos de este metabolito renal de la vitamina D con la absorción intestinal de calcio, por lo que concluyen que no se puede atribuir a la 1,25 (OH)₂ D un papel patogenético en el desarrollo de la patología ósea de la CBP.

Influencia de la colestasis en los niveles séricos de los metabolitos de la vitamina D. No hemos hallado ninguna relación entre el grado de colestasis bioquímica o la presencia de esteatorrea y el "status" de vitamina D, valorado por los niveles séricos de 25-OH D. Sin embargo, la concentración sérica de la 1,25 (OH)₂ D se correlacionó inversamente con la bilirrubinemia y con el estadio histológico de la CBP. Estos resultados son similares a los de otros investigadores (140,145,147) que tampoco hallaron una correlación entre los parámetros bioquímicos de co-

lestasis o la excreción fecal de grasas y los niveles séricos de 25-OH D. Sin embargo y a diferencia de nuestros resultados, estos autores no hallaron una correlación entre niveles de 1,25 (OH)₂D y severidad de la colestasis bioquímica. De todas formas el significado de esta relación es incierto al ser normales los niveles séricos de 1,25 - - (OH)₂D en todos nuestros pacientes.

TABLA XXVIII. INSOLACION ANUAL DE CATALUÑA. Datos meteorológicos de -
Septiembre de 1981 a Agosto de 1982.

<u>Provincia</u>	<u>Horas de sol/año</u>
<i>Gerona</i>	2.159
<i>Lérida</i>	2.758
<i>Barcelona</i>	2.227
<i>Tarragona</i>	2.019

RESUMEN Y CONCLUSIONES

En esta tesis se ha investigado el tipo, prevalencia, fisiopatología y factores implicados en el desarrollo de la patología metabólica ósea asociada a la cirrosis biliar primaria. Para ello se ha estudiado una serie de 20 pacientes con cirrosis biliar primaria, a los que se practicó un estudio radiológico de la columna vertebral, un análisis cuantificado estático y dinámico de la histología ósea y una valoración del metabolismo mineral. Tras analizar los resultados de estas exploraciones, podemos hacer las siguientes conclusiones:

- 1º.- La osteoporosis es la enfermedad metabólica ósea que comúnmente se asocia a la cirrosis biliar primaria. Su prevalencia fue del 35% en nuestra serie analizada.
- 2º.- Los pacientes con cirrosis biliar primaria de nuestro medio no desarrollan una osteomalacia, aunque no es infrecuente que presenten un trastorno moderado de la mineralización ósea. Un 15% de los pacientes desarrollaron este trastorno asociado a una osteoporosis.
- 3º.- La osteoporosis asociada a la cirrosis biliar primaria es de bajo "turnover" óseo y su base fisiopatológica es un déficit de la formación ósea, no asociado a un aumento de la reabsorción. El 71% de los pacientes con osteoporosis tenían un déficit de la formación ósea, alteración que también presentaban el 83% de los pacientes sin osteoporosis. Ello permite sugerir que un elevado porcentaje de pacientes con cirrosis biliar primaria y masa ósea normal están en alto riesgo de desarrollar una osteoporosis.
- 4º.- La patología metabólica ósea de la cirrosis biliar primaria probablemente no es secundaria al depósito de cobre en el tejido óseo. La tinción específica para este metal y el análisis dispersivo de la energía de RX no demostraron un aumento signifi

cativo de este metal en el tejido óseo.

- 5º.- El desarrollo de osteoporosis no se relacionó con la severidad de la colestasis. Sin embargo, se relacionó con la duración de la CBP, de forma que los pacientes con osteoporosis tenían una clínica de colestasis significativamente más prolongada que los pacientes sin osteoporosis y además, habían transcurrido más años tras su diagnóstico.*
- 6º.- El estado postmenopáusico es un factor de riesgo importante para el desarrollo de osteoporosis en la CBP, ya que la mayoría de pacientes con osteoporosis eran mujeres postmenopáusicas. Sin embargo, no se puede atribuir únicamente a la deprivación estrogénica el desarrollo de esta enfermedad ósea.*
- 7º.- El envejecimiento puede contribuir al desarrollo de osteoporosis en los pacientes con CBP, dado que la edad media de los pacientes con osteoporosis fue superior aunque no significativamente a la de los pacientes sin osteoporosis. Además, se observó una relación inversa entre la edad y el volumen trabecular.*
- 8º.- La malabsorción intestinal de calcio es otro factor implicado en la patogenia de la osteoporosis asociada a la CBP, ya que ha sido significativamente más frecuente en el grupo de pacientes con osteoporosis. Además, la absorción intestinal de calcio se relacionó inversamente con el grado de colestasis biológica, pero no se correlacionó con los niveles séricos de 1,25 dihidroxivitamina D.*
- 9º.- Un 20% de los pacientes con CBP tienen un déficit de 25-hidroxivitamina D. Sin embargo, los niveles séricos de 1,25 dihidroxivitamina D fueron normales en todos los casos.*

10^o.- *Los niveles séricos de 25-hidroxivitamina D no se correlacionaron con la severidad de la colestasis ni con la existencia de esteatorrea.*

11^o.- *El desarrollo de un trastorno moderado de la mineralización ósea es más frecuente en los pacientes con déficit de 25-hidroxivitamina D, ya que dos de los tres pacientes con este trastorno tenían niveles bajos de 25-hidroxivitamina D. Sin embargo, el "status" deficiente de vitamina D no es exclusivo de los pacientes con trastorno de la mineralización ósea.*

BIBLIOGRAFIA

- 1) Addison T, Gull W. *On a certain affection of the skin-alfa-plana, beta tuberosa.* *Guy's Hosp Rev* 1851; 7: 265-270.
- 2) Rodés J. *Cirrosis biliar primaria.* En Rodés J, Bruguera M, Sánchez-Tapias JM, ed. *Manual de las enfermedades del hígado y vías biliares.* Barcelona, Científico Médica 1982; 277-286.
- 3) Christensen E, Crowe J, Doniach D. *Clinical pattern and course of disease in primary biliary cirrhosis based on analysis of 236 patients.* *Gastroenterology* 1980; 78: 236-246.
- 4) Triger DR, Berg PA, Rodés J. *Epidemiology of primary biliary cirrhosis.* *Liver* 1984; 4: 195-200.
- 5) Parés A, Bruguera M, Rodés J, Villagrassa M, Guardia J, Serés I, Vilar-dell F. *Epidemiología de la cirrosis biliar primaria en Cataluña.* *Med Clin (Barc)* 1984; 82: 237-241.
- 6) Scheuer PJ. *Primary biliary cirrhosis.* *Proc Roy Soc Med* 1967; 60: 1257-1262.
- 7) Ludwig J, Dickson ER, McDonald GSA. *Stagging of chronic. Non-supurative cholangitis (syndrome of primary biliary cirrhosis).* *Virchows Arch - Path Anat and Histol* 1978; 379: 104-112.
- 8) Scheuer PJ. *Liver biopsy interpretation.* London Bailliere Tindall 1980; 47-56.
- 9) Gerber MA, Orr W, Denk H, Schaffner F, Popper H. *Hepatocelular hyalin in cholestasis and cirrhosis: its diagnostic significance.* *Gastroenterology* 1973; 64: 89-94.
- 10) Rodés J, Parés A, Bruguera M. *¿Es la cirrosis biliar primaria una enfermedad de tipo autoinmune?* *Med Clin (Barc)* 1987; 88: 292-299.
- 11) Feizi T. *Immunoglobulins in chronic liver disease.* *Gut* 1968; 9: 193-198.
- 12) Klastkin G, Kantor FS. *Mitochondrial antibody in primary biliary cirrhosis and other diseases.* *Ann Int Med* 1972; 77: 533-541.

- 13) Fox RA, James DE, Scheuer PJ. Impaired delayed hypersensitivity in - primary biliary cirrhosis. *Lancet* 1969; 1: 959-962.
- 14) Thomas HC, Potter BJ, Sherlock S. Is primary biliary cirrhosis an immune complex disease? *Lancet* 1977; 2: 1.261-1.263.
- 15) Goldberg MT, Kaplan MM, Misamura T. Evidence against an immune complex pathogenesis of primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 1982; - 86:677-683.
- 16) Ercilla G, Parés A, Arriaga F, Brugera M, Castillo R, Rodés J, Vives J. Primary biliary cirrhosis associated with HLA-DRW₃. *Tissue Antigens* 1979; 14: 449-453.
- 17) Epstein O, Thomas HC, Sherlock S. Primary biliary cirrhosis is a dry gland syndrome with features of chronic graft-versus-host disease. *Lancet* 1980; 1: 1166-1168.
- 18) Rodés J, Bruguera M, Parés A. Cirrosis biliar primaria. Patogénesis y tratamiento. *Gastroenterol Hepatol* 1984; 7: 448-459.
- 19) Bloomer JR, Allen RM, Klatskin G. Serum bile acids in primary biliary cirrhosis. *Arch Intern Med.* 1976; 136: 57-61.
- 20) Williams CH, McDonald IA, Parck-Dicksoy H. Primary bile acid kinetics in patients with primary biliary cirrhosis and in normal subjects. *Clin Invest Med* 1979; 2: 29-40.
- 21) Ros E, García-Pugés A, Reixach M, Cusó E, Rodés J. Fat digestion and exocrine pancreatic function in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 1984; 87: 180-187.
- 22) Parés A, Rimola A, Bruguera M, Más E, Rodés J. Renal tubular acidosis in primary biliary cirrhosis. *Gastroenterology* 1981; 80: 681-686.
- 23) Fleming CR, Dickson CR, Whaner HW. Pigmented corneal rings in non-Wilsonian liver disease. *Ann Intern Med* 1977; 86:285-288.
- 24) Epstein O, Boss AMB, Lyon DB, Sherlock S. Hair copper in primary biliary cirrhosis. *Am J Clin Nutr* 1980; 33: 965-967.
- 25) Sherlock S. Cholestasis. En: Sherlock S, ed. *Diseases of the liver - and biliary sistem*, 5^a ed. Oxford. Blackwell Scientific Publications - - 1975: 260-304.
- 26) Parés A, Bruguera M, Rodés J. Cirrosis biliar primitiva asintomática. *Gastroenterol Hepatol* 1979; 2: 126-130.

- 27) *Acidos biliares séricos en las enfermedades hepatobiliares. Lancet - 1983; 2: 261-263.*
- 28) *Golding PL, Smith M, Williams R. Multysistem involvement in chronic liver disease. Studies on the incidence and pathogenesis. Am J Med 1973; 55: 772-782.*
- 29) *Berg PA, Klein R, Linderborn-Fotinos J. Antimitochondrial antibodies in primary biliary cirrhosis. J Hepatol 1986; 2: 123-131.*
- 30) *Parés A, Bruguera M, Rodés J. Cirrosis biliar primitiva. Evolución - clínica y criterios de valor pronóstico. Gastroenterol Hepatol 1981; 4: 76-81.*
- 31) *Long RG, Scheuer PJ, Sherlock S. Presentation and course of asymptomatic primary biliary cirrhosis. Gastroenterology 1977; 72: 1204-1207.*
- 32) *Golding PL, Brown R, Mason AMS. "Sicca complex" in liver diseases. - Br Med J 1970; 4: 340-342.*
- 33) *Rodríguez-Roisin R, Parés A, Bruguera M, Coll J, Picado C, Agustí-Vidal A, Burgos F, Rodés J. Pulmonary involvement in primary biliary cirrhosis. Thorax 1981; 36: 208-212.*
- 34) *Guañabens N, Brancós MA, Parés A, Gómez R, Bruguera M, Rodés J, Rodés J. Patología articular en la cirrosis biliar primitiva. Gastroenterol Hepatol 1984; 7: 551-555.*
- 35) *Sherlock S, Scheuer PJ. The presentation and diagnosis of 100 patients with primary biliary cirrhosis. N Engl J Med 1973; 289: 674-678.*
- 36) *Clarke AK, Galbraith RM, Hamilton EBA, Williams R. Rheumatic disorders in primary biliary cirrhosis. Ann Rheum Dis 1978; 37: 42-47.*
- 37) *Crowe JP, Christensen E, Butler J, Wheeler P, Duniach P, Keenan J, Williams R. Primary biliary cirrhosis: The prevalence of hypothyroidism and its relationship to thyroid autoantibodies and sicca syndrome. Gastroenterology 1980; 78: 1437-1441.*
- 38) *Sumerfield JA, Elias E, Hungerford MB, Nikapota VLB, Dick R, Sherlock S. The biliary system in primary biliary cirrhosis. Gastroenterology 1976; 70: 240-246.*

- 39) Rai GS, Hamlyn AN, Dahl RGC, Morley AR, Wilkinson R. Primary biliary cirrhosis, cutaneous capillaritis and Ig M associated membranous -- glomerulonephritis *Br Med J* 1977; 1: 817-818.
- 40) Parfitt AM, Kleerekoper. The divalent ion homeostatic system-- physiology and metabolism of calcium, phosphorus, magnesium, and bone. En: Maxwell MH, Kleeman C.R, ed. *Clinical disorders of fluid electrolyte - metabolism*. 3^a ed. New York, McGraw-Hill Book Company 1980; 269-398.
- 41) Sebert JL, Meunier PJ. Rôle physiopathologique de la vitamine D et de ses metabolites dans l'osteomalacia. En: Fournier A, Garabedian M, Sebert JL, Meunier PJ, ed *Vitamin D et maladies des os et du metabolisme mineral*. Paris, Masson 1984; 152-165.
- 42) Parfitt AM, The physiologic and clinical significance of bone histomorphometric data. En: Recker RR. *Bone histomorphometry: Techniques and interpretation*. Florida, CRC Press 1983; 143-224.
- 43) Jowsey J. Bone structure. En: Jowsey J, ed. *The bone biopsy*. New - York, Plenum Medical Book Company 1977; 15-42.
- 44) Jowsey J. Bone morphology: bone tissue. En: Jowsey J, ed. *Metabolic diseases of bone (I)*. Philadelphia, WB Saunders 1977; 48-57.
- 45) Ham AW. Bone and bones. En: Ham AW, Cormack DH, ed. *Histology*, 8^a ed, Philadelphia, JB. Lippincott Company 1979; 377-395.
- 46) Parfitt A.M. *Progress in Endocrinology and metabolism*. Mechanisms of calcium transfer between blood and bone and their cellular basis: -- morphological and Kinetic approaches to bone turnover. *Metabolism* 1976; 25: 809-844.
- 47) Teitelbaum SL, Bullough PG. The pathophysiology of bone and joint - disease. *Am J Pathol* 1979; 96: 282-354.
- 48) Nordin BEC, Crilly RG, Smith DA. Osteoporosis. En: Nordin BEC, ed. *Metabolic bone and stone disease*. 2^a ed. Edinburgh. Churchill Livingstone 1984; 1-70.

- 49) Guidelines for the clinical evaluation of drug used in the treatment of osteoporosis. US. Department of health, education and welfare. Public Health Service. Food and Drug Administration 1980. New Publication No. (FDA) 80-3094.
- 50) Riggs BL, Melton III LJ. Involutional osteoporosis. *N Eng J Med* -- 1986; 314: 1676-1686.
- 51) Riggs BL. Osteoporosis. En: Wyngaarden JB, Smith LH, ed. *Cecil text book of Medicine*, 17^a ed. Philadelphia. WB Saunders 1985; 1456-1461.
- 52) krane SM, Holick MF, Metabolic bone disease. En: Petersdorf RG, -- Adams RD, Braunwald E, Isselbacher KJ, Martin JB, Wilson JD. ed. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 10^a ed. Auckland. Mc Graw-Hill International Book Company 1983; 1949-1954.
- 53) Whedon GD. Osteoporosis. *N Eng J Med* 1981; 305: 397-398.
- 54) Lindsay R, Hart DM, Forrest C, Baird C. Prevention of Spinal osteoporosis in oophorectomised women. *Lancet* 1980; 2: 1151-1153.
- 55) Meier DE, Orwoll ES, Jones JM. Marked disparity between trabecular and cortical bone loss with age in healthy men: measurement by vertebral computed tomography and radial photon absorptiometry. *Ann Intern Med* 1984; 101: 605-612.
- 56) Christiansen C, Rodbro P. Does postmenopausal bone loss respond to estrogen replacement therapy independent of bone loss rate? *Calcif Tissue Int* 1983; 35: 720-722.
- 57) Genant HK, Cann CE, Ettinger B, Gordon GS. Quantitative computed tomography of vertebral spongiosa: a sensitive method for detecting -- early bone loss after ooforectomy. *Ann Intern Med* 1982; 97: 699-705.
- 58) Factores de riesgo en la osteoporosis postmenopáusica. *Lancet (ed esp)* 1985; 7: 348-350.
- 59) Stewart AF, Adler M, Byers CM, Segre GV, Broadus AE. Calcium homeostasis in immobilization: an example of resorptive hypercalciuria. *N -- Engl J Med* 1982; 306: 1136-1140.

- 60) *Osteoporosis y actividad Lancet (ed esp) 1983; 3: 367-368.*
- 61) Riggs BL, Melton LJ III. Evidence for two distinct syndromes of involuntional osteoporosis. *AM J Med* 1983; 75: 899-901.
- 62) Richelson LS, Wahner HW, Melton LJ III, Riggs BL. Relative contribution of aging and estrogen deficiency to postmenopausal bone loss. *N - Eng J Med* 1984; 311: 1273-1275.
- 63) Ettinger B, Genant HK, Cann CE. Long term estrogen replacement -- therapy prevents bone loss and fractures. *Ann Int Med* 1985; 102: 319--324.
- 64) Hillyard CJ, Stevenson JC, MacIntyre I. Relative deficiency of plasma-calcitonin in normal women. *Lancet* 1978; 1: 961-962.
- 65) Stevenson JC Hillyard CJ, Abeyasekera G, Guek Phang K, MacIntyre I. Calcitonin and the calcium-regulating hormones in postmenopausal women: effect of estrogens. *Lancet* 1981; 1: 693-695.
- 66) Tieggs RD, Body J.J., Wahner HW, Barta J, Riggs BL, Heath III H. - Calcitonin secretion in postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med* 1985; 312: 1097-1100.
- 67) Heaney RP. Calcium metabolic changes at menopause. Their possible - relationship to post-menopausal osteoporosis. En: Barzel V.S. ed. *Osteoporosis II*. New York Grune & Stratton 1979; 101-110.
- 68) Gallagher JC, Riggs BL, Eisman J, Hamstra A, Arnaud SB, DeLuca HF. Intestinal calcium absorption and serum vitamin D metabolites in normal subjects and osteoporotic patients: effect of age and dietary calcium. *J Clin Invest* 1979; 64: 729-736.
- 69) Heaney RP, Gallagher JC, Johnston CC, Neer R, Parfitt AM, Whedon - G.D. Calcium nutrition and bone health in the elderly. *Am J Clin Nutr* 1982; 36: 986-1013.
- 70) Bullamore JR; Wilkinson R, Gallagher JC, Nordin BEC. Effect of age on calcium absorption. *Lancet* 1970; 2: 535-537.
- 71) Gallagher JC, Riggs BL. Current concepts in nutrition. *Nutrition - and bone disease*. *N Engl J Med* 1978; 298: 193-195.

- 72) Gallagher JC, Riggs BL, Eisman J, Arnaud SB, De Luca HF. Impaired production of 1,25 dihydroxyvitamin D in postmenopausal osteoporosis. *Clin Res* 1976; 24: 580-584.
- 73) Riggs BL. Therapeutic approach on the basis of pathogenetic factors in involutional osteoporosis. En: Genari C, Segre G, ed. *First international conference on osteoporosis. Social and clinical aspects. Excerpta Medica. Amsterdam* 1984; 225-235.
- 74) Aloia JF, Cohn SH, Vasmani A, Yeh JK, Yuen K, Ellis K. Risk factors for postmenopausal osteoporosis. *Am J Med* 1985; 78: 95-100.
- 75) Francis RM, Peacock M, Storer JH, Davies AEJ, Brown WB, Nordin BEC. Calcium malabsorption in the elderly: The effect of treatment with oral 25-hydroxyvitamin D₃. *Europ J Clin* 1983; 13: 391-396.
- 76) Nordin BEC, Peacock M, Crilly RG, Marshall DH. Calcium absorption and plasma 1,25 (OH)₂ D levels in post-menopausal osteoporosis. In: -- Norman AW, Schaefer K, Herrath DV, et al. eds. *Vitamin D: basic research and its clinical application (proceedings of the Fourth Workshop on Vitamin D. Berlin West Germany) Berlin. Walter de Gruyter* 1979; 99-106.
- 77) Slovik DM, Adams JS, Neer RM, Holick MF, Potts JT Jr. Deficient -- production of 1,25-dihydroxyvitamin D in elderly osteoporotic patients. *N Engl J Med.* 1981; 305: 372-374.
- 78) Del Olmo JA. Osteoporosis. Osteomalacia. En: Rotés Querol J, ed. - *Reumatología Clínica. Barcelona. Espax* 1983; 351-363.
- 79) Morgan B. Envejecimiento y osteoporosis. En: Nordin BEC, ed. *Clínica Endocrinológica. Osteoporosis. Barcelona. Salvat* 1974; 1: 29-44.
- 80) Hahn BN. Osteopenic bone diseases. En: McCarty DJ, ed. *Arthritis - and allied conditions 10^a ed. Philadelphia. Lea & Fabiger* 1985; 1579--1600.
- 81) Greenfield GD. Loss of bone density. En: Greenfield GD, ed. *Radiology of bone diseases. 2^a ed. Philadelphia. JB Lippincott Company* 1975; 9-47.

- 82) Parfitt AM, Kleerekoper M. Diagnostic value of bone histomorphometry and comparison of histologic measurements and biochemical indices of bone remodeling. En: Christiansen C, Arnaud CD, Nordin BEC, Parfitt AM, Pech WA, Riggs BL, ed. *Osteoporosis. Copenhagen International Symposium on Osteoporosis 1984*; 127-131.
- 83) Price PA, Parthemore J.G. New biochemical marker for bone metabolism. Measurement by radioimmunoassay of bone Gla protein in the plasma of normal subjects and patients with bone disease. *J Clin Invest* 1980; 66: 878-883.
- 84) Brown JP, Delmas PD, Malaval L, Meunier PJ. Serum bone Gla-protein: a specific marker for bone formation in postmenopausal osteoporosis. *Lancet* 1984; 1: 1091-1095.
- 85) Epstein S, Poser J, McClintock R, Johnston CC, Bryce G, Hui S. Differences in serum bone Gla-protein with age and sex. *Lancet* 1984; 1: 307-310.
- 86) Rico H, Cabranes JA, Núñez-Torron M, Higuera JC, Hernández ER. Valores de osteocalcina (BGP) en la osteoporosis postmenopáusica, antes y después del tratamiento con calcitonina. *Med Clin (Barc)* 1986; 86: 791-793.
- 87) Bikle DD. Osteomalacia and Rickets. En: Wyngaarden JB, Smith LH, ed. *Cecil textbook of Medicine*, 17^a ed. Philadelphia, WB Saunders 1985; 1425-1431.
- 88) De Luca H.F. Metabolism of vitamin D. En: De Luca, ed. *Vitamin D. Metabolism and function*. Berlin, Springer-verlag 1979; 11-23.
- 89) Frame B, Parfitt AM. Osteomalacia: current concepts. *Ann Intern Med* 1978; 89: 966-982.
- 90) Lane JM, Werntz JR, Healey JH, Vigorita VJ. Metabolic bone disease in the elderly. *Clin Rheum Dis* 1986; 12: 49-70.
- 91) Meunier PJ. Histomorphometry of the skeleton. En: Peck W.A. *Bone and mineral research. A yearly survey of developments in the field of bone and mineral metabolism*. Amsterdam. Excerpta Medica 1983.
- 92) Meunier PJ, Chavassieux P. L'histomorphometrie. Moyen d'évaluation de la masse osseuse. *Rev Rhum* 1985; 52: 669-673.

- 93) Byers P.D. *The diagnostic value of bone biopsies* En: Avioli LV, -- Krane SM, ed. *Metabolic bone disease*. New York. Academic Press 1977; - 184-231.
- 94) Aherne W.A., Dunnill M.S. *Introductory survey*. En: Aherne WA, Dunnill MS. *Morphometry*. London. Edward Arnold 1982; 1-9.
- 95) Vigorita V.J. *The bone biopsy protocol for evaluating osteoporosis and osteomalacia*. *Am J Pathol* 1984; 8: 925-930.
- 96) Fallon MD, Teitelbaum SL. *The interpretation of fluorescent tetracycline markers in the diagnosis of metabolic bone diseases*.
- 97) Teitelbaum SL. *Osteoporosis and the bone biopsy*. En: Avioli LV, ed. *The osteoporotic syndrome. Detection, prevention and treatment*. New -- York. Grune & Stratton 1983; 115-121.
- 98) Meunier P. Coupron P. *Iliac trabecular bone volumen in 236 con-----trolls. Representativeness of iliac samples*. En: Jaworski ZFG. *Bone Morphometry. Proceedings of First International Workshop*. Ottawa. 1973; -- 100-105.
- 99) Whyte MP, Bergfeld MA, Murphy WA, Avioli LV, Teitelbaum SL. *Postmenopausal osteoporosis: A heterogeneous disorder as assessed by histomorphometric analysis of iliac crest bone from untreated patients*. *Am J - Med* 1982; 72: 193-202.
- 100) Bullough PG, Vigorita VJ. *Osteomalacia. Atlas of orthopaedic pathology with clinical and radiologic correlations*. New York. Gruner Medical Publishing 1984.
- 101) Teitelbaum SL. *The histopathology of osteomalacia*. *Metab Dis Rel* 1980; 2: 475-482.
- 102) Segre GV. *Heterogeneity and metabolism of parathyroid hormone*. En: De Groot, ed. *Endocrinology*. New York, Grune & Stratton 1979.
- 103) Insogna KL, Lewis AM, Lipinski BA, Brynat C, Barat D. *Effect of - age on serum immunoreactive parathyroid hormone and its biological - - effects*. *J Clin Endocrinol Metab* 1981; 53: 1072-1075.

- 104) Raisz LG, Kream BE. Regulation of bone formation *N Engl J Med* -- 1983; 309: 29-35.
- 105) MacIntyre. Acciones fisiológicas de la calcitonina. *Triángulo* -- 1983; 21: 119-124.
- 106) Deftos LJ, First BP. Calcitonin as a drug. *Ann Inter Med* 1981; 95: 192-197.
- 107) Austin LA, Heath III H. Calcitonin. *Physiology and pathophysiology. N Engl J Med* 1981; 304: 269-278.
- 108) Stevenson JC. Differen Leggate J, Farisch E, Fletcher CD y Somerville JM. Calcitonin and postmenopausal osteoporosis. *Clin Endocrinol* 1984; 20: 85-92.
- 109) Stevenson JC. Differentias effects of aging and menopause on calcitonin secretion. En: Pecile A, ed. *Calcitonin 1984. Chemistry, Physiology, Pharmacology and Clinical aspects. Excerpta Medica. Amsterdam* 1985; 145-152.
- 110) Wallach S, Cohn S, Atkins H, Ellis K, Kohberger R, Aloia J, Zanzi I. Effect of salmon calcitonin on skeletal mass in osteoporosis. *Curr Ther Res* 1977; 22: 556-572.
- 111) Norman AW. Metabolism of vitamin D. En: Norman AW, ed. *Vitamin D. The calcium homeostatic steroid hormone. New Hork Academic Press* 1979; 134- 198.
- 112) Schachter D, Finkelstein JD, Kowarski S. Metabolism of vitamin D. Preparation of radioactive vitamin D and its intestinal absorption in the rat. *J Clin Invest* 1964; 43: 787-796.
- 113) Ponchon G, De Luca HF. The role of the liver in the metabolism of vitamin D. *J Clin Invest* 1969; 48: 1273-1279.
- 114) Turker G, Gagnon RE, Haussler MR. Vitamin D₃-25-hydroxylasa: Tissue occurrence and apparent lack of regulation. *Arch Biochem Biophys* - 1973; 155: 47-52.
- 115) Haussler MR, McCain TA. Basic and clinical concepts related to vitamin D metabolism and action (firs of two parts). *N Engl J Med* 1977; 297: 974-983.

- 116) Avioli LV, Haddad JG. The vitamin D family revised. *N Engl J Med* 1984; 311: 47-49.
- 117) Norman AW, Roth J, Orci L. The vitamin D endocrine system: steroid metabolism, hormone receptors and biological response (calcium -- proteins). *Endocrine Reviews* 1982; 3: 331-336.
- 118) Henry HL, Norman AW. Vitamin D: Metabolism and biological actions. *Ann Rev Nutr* 1984; 4: 493-520.
- 119) R. Kumar. The metabolism of 1,25-Dihydroxyvitamin D₃. *Endocrine Reviews* 1980; 1: 258-267.
- 120) Kumar R. Hepatic and intestinal osteodystrophy and the hepatobiliary metabolism of vitamin D. *Ann Inter Med* 1983; 98: 662-663.
- 121) Kumar R, Nagubandi S, Mattox VR, Lodowski JM. Enterohepatic physiology of 1,25-Dihydroxyvitamin D₃. *J Clin Invest* 1980; 65: 277-284.
- 122) Arnaud SB, Goldsmith RS, Lambert PW, Go VL. 25-Hydroxyvitamin D₃. Evidence of an enterohepatic circulation in man. *Proceedings of the Society for experimental biology and medicine* 1975; 149: 570-572.
- 123) Clements MR, Chalmers TM, Fraser DR. Enterohepatic circulation of vitamin D: A reappraisal of the hypothesis. *Lancet* 1984; 1: 1376-1379.
- 124) Compston JE, Ledger JE. Vitamin D. *Lancet* 1983; 2: 45-46.
- 125) Compston JE, Creamer B. Plasma levels and intestinal absorption of 25-OH D₃ in patients with small bowel resection. *Gut* 1977; 18: 171-175.
- 126) Compston JE, Merret AL, Ledger JE, Creamer B. Faecal tritium excretion after intravenous administration of 3H-25 hydroxyvitamin D₃ in control subjects and in patients with malabsorption. *Gut* 1982; 23: 310-315.
- 127) Wasserman RH, Taylor AN. Vitamin D₃ -induced calcium-binding protein in chick intestinal mucosa. *Science* 1966; 152: 791-793.

- 128) De Luca HF. Vitamin D endocrinology. *Ann Intern Med* 1976; 85: - - 367-377.
- 129) Seidel H. Permanente Gallensfistel und osteoporose beim Menschen. *Munich Med Wochenschr* 1910; 57: 2033-2035.
- 130) Loeper M, Lemaire A, Lesobre R. *Arch Mal Appar Ding* 1939; 29: - - 577-582.
- 131) Ahrens EH, Payne MA, Kunkel HG, Blondheim SH, Eisenmenger WJ. Primary biliary cirrhosis. *Medicine (Balt)* 1950; 29: 299-364.
- 132) Atkinson M, Nordin BEC, Sherlock S. Malabsorption and bone disease in prolonged obstructive jaundice. *Q J Med* 1955; 99: 299-312.
- 133) Compston JE. Hepatic osteodystrophy: vitamin D metabolism in patients with liver disease. *Gut* 1986; 27: 1073-1090.
- 134) Kehayoglou AK, Holdsworth CD, Agnew JE, Whelton MJ, Sherlock S. - Bone disease and calcium absorption in primary biliary cirrhosis. *Lancet* 1968; 1: 715-719.
- 135) Adjukiewicz AB, Agnew JE, Byers PD, Wills MR, Sherlock S. The relief of bone pain in primary biliary cirrhosis with calcium infusions. *Gut* 1974; 15: 788-793.
- 136) Long RG, Varghese Z, Meinhard EA, Skinner RK, Wills MR, Sherlock S. Parenteral 1,25-dihydroxycholecalciferol in hepatic osteomalacia. - *BR Med J* 1978; 1: 75-77.
- 137) Long RG, Meinhard E, Skinner RK, Varghese Z, Wills MR, Sherlock S. Clinical, biochemical, and histological studies of osteomalacia, -- osteoporosis, and parathyroid function in chronic liver disease. *Gut* - 1978; 19: 85-90.
- 138) Compston JE, Crowe JP, Wells IP, Horton LWL, Hirst D, Merrett AL, Woodhead JS, Williams R. Vitamin D prophylaxis and osteomalacia in - - chronic cholestatic liver disease. *Dig Dis* 1980; 25: 28-32.
- 139) Reed JS, Meredith SC, Memchausky BA, Rosenberg IH, Boyer JL. Bone disease in primary biliary cirrhosis: reversal of osteomalacia with -- oral 25-hydroxyvitamin D. *Gastroenterology* 1980; 78: 512-517.

- 140) Dibble JB, Sheridan P, Losowsky MS. A survey of vitamin D deficiency in gastrointestinal and liver disorders. *Q J Med* 1984; 53: 119-134.
- 141) Stellan AJ, Davies A, Compston J, Williams R. Osteoporosis in chronic cholestatic liver disease. *Q J Med* 1985; 57: 783-790.
- 142) Arnaud SB. 25-hydroxyvitamin D₃ treatment of bone disease in primary biliary cirrhosis.
- 143) Kaplan MM. Primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med* 1987; 316: 521-529.
- 144) Matloff DS, Kaplan MM, Neer RM, Goldberg MJ, Bitman W, Wolfe HJ. Osteoporosis in primary biliary cirrhosis: effects of 25-hydroxyvitamin D₃ treatment. *Gastroenterology* 1982; 83: 97-102.
- 145) Herlong HF, Recker RR, Maddrey WC. Bone disease in primary biliary cirrhosis: histologic features and response to 25-hydroxyvitamin D. *Gastroenterology* 1982; 83: 103-108.
- 146) Cutbhart JA, Pak CYC, Zerwekh JE, Glass KD, Combes B. Bone disease in primary biliary cirrhosis: increased bone resorption and turnover in the absence of osteoporosis or osteomalacia. *Hepatology* 1984; 4: 1-8.
- 147) Hodgson SF, Dickson ER, Wahner HW, Jhonson KA, Mann KG, Riggs BL. Bone loss and reduced osteoblast function in primary biliary cirrhosis. *Ann Intern Med* 1985; 103: 855-860.
- 148) Wills MR, Savory J. Vitamin D metabolism and chronic liver disease. *Ann Clin Lab Sci* 1984; 14: 189-197.
- 149) Compston JE, Thompson RPH. Intestinal absorption of 25-hydroxyvitamin D and osteomalacia in primary biliary cirrhosis. *Lancet* 1977; 1: 721-724.
- 150) Wagonfeld JB, Nemchausky BA, Bolt M, Horst JV, Boyer JL, Rosenberg IH. Comparison of vitamin D and 25-hydroxyvitamin D in the therapy of primary biliary cirrhosis. *Lancet* 1976; 2: 391-394.

- 151) Kaplan MM, Goldberg MJ, Matloff DS, Neer RM, Goodman DBP. Effect of 25-hydroxyvitamin D₃ on vitamin D metabolites in primary biliary -- cirrhosis. *Gastroenterology* 1981; 81: 681-685.
- 152) Compston JE, Horton LWL, Thompson RPH. Treatment of osteomalacia associated with primary biliary cirrhosis with parenteral vitamin D₂ - oral 25-hydroxyvitamin D₃. *Gut* 1979; 20: 133-136.
- 153) Long RG, Skinner RK, Wills MR, Sherlock S. Serum 25-hydroxyvita-- min D in untreated parenchymal and cholestatic liver disease. *Lancet* - 1976; 2: 650-652.
- 154) Long RG, Wills MR. Hepatic osteodystrophy. *BR J Hosp Med* 1978; -- 312-321.
- 155) Dibble JB, Sheridan P, Hampshire R, hardy GJ, Losowsky MS. Osteo-- malacia, vitamin D deficiency and cholestasis in chronic liver disease. *Q J Med* 1982; 51: 89-103.
- 156) Hepatic osteodystrophy. *Lancet* 1977; 1: 988-989.
- 157) Bone biopsy and vitamin D in primary biliary cirrhosis. *Lancet* -- 1978; 1: 1.138.
- 158) Long RG. Hepatic osteodystrophy: outlook good but some problems - unsolved. *Gastroenterology* 1980; 78: 644-647.
- 159) Skinner RK, Long RG, Sherlock S, Wills MR. 25-hydroxylation of vi-- tamin D in primary biliary cirrhosis. *Lancet* 1977; 1: 720-721.
- 160) Krawitt EL, Grundman MJ, Mawer EB. Absorption, hydroxylation and excretion of vitamin D₃ in primary biliary cirrhosis. *Lancet* 1977; 2: 1246-1249.
- 161) Jung RT, Davie M, Siklos P, Chalmers TM, Hunter JO, Lawson DEM. - Vitamin D metabolism in acute and chronic cholestasis. *Gut* 1979; 20: - 840-847.
- 162) Long RG, Barragry JM, Mitchenere P, Beer MS, Boucher BJ, Cohen RD. Effect of conjugated and unconjugated hyperbilirubinemia on the plasma 25- hydroxyvitamin D response to ultraviolet radiation in the rat. *Clin Sci* 1980; 59: 293-296.

- 163) *Hepatic osteomalacia and vitamin D. Lancet 1982; 1: 943-944.*
- 164) *Guañabens N, Serrano S, Osteodistrofia de la cirrosis biliar primaria. Med Clin (Barc) 1985; 57 : 599.*
- 165) *Barragry JM, Long RG, France MW, Wills MR, Boucher BJ, Sherlock S. Intestinal absorption of cholecalciferol in alcoholic liver disease -- and primary biliary cirrhosis. Gut 1979; 20: 559-564.*
- 166) *Danielsson A, Lorentzon R, Larsson SE. Intestinal absorption and 25-hydroxylation of vitamin D in patients with primary biliary cirrhosis. Scand J Gastroenterol 1982; 17: 349-355.*
- 167) *Bengoa J, Sitrin MD, Meredith S, Kelly SE, Shah N, Baker AL, Rosenberg IH. Intestinal calcium absorption and vitamin D status in chronic cholestatic liver disease. Hepatology 1984; 4: 261-265.*
- 168) *Danielsson A, Lorentzon R, Larsson SE. Normal hepatic vitamin D - metabolism in icteric primary biliary cirrhosis associated with pronounced vitamin D deficiency symptoms. Hepato Gastroenterol 1982; 29: 6-8.*
- 169) *Thompson WG, Thompson GR. Effect of cholestyramine on the absorption of vitamin D₃ and calcium. Gut 1969; 10: 717-722.*
- 170) *Kumar MD. Hepatic and intestinal osteodystrophy and the hepatobiliary metabolism of vitamin D. Ann Int Med 1983; 98: 662-663.*
- 171) *Davies M, Mawer EB, Klass HJ, Lumb GA, Berry JL, Warnes TW. Vitamin D deficiency, osteomalacia and primary biliary cirrhosis. Response to orally administered vitamin D₃ Dig Dis 1983; 28: 145-153.*
- 172) *Mawer EB, Klass HJ, Warnes TW, Berr JL. Metabolism of vitamin D - in patients with primary biliary cirrhosis and alcoholic liver disease. Clin Sci 1985; 69: 561-570.*
- 173) *Pentikäinen PJ, Pentikäinen LA, Azarnoff DL, Dujovne CA. Plasma - levels and excretion of oestrogens in urine in chronic liver disease. - Gastroenterology 1975; 69: 20-27.*

- 174) Kekayoglou K, Hadziyannis ST, Kostamis P, Malamos B. The effect of medium chain trygliceride on ⁴⁷calcium absorption in patients with primary biliary cirrhosis. *Gut* 1973; 14: 653-656.
- 175) Whelton MJ, Kehayoglou AK, Agnew JE, Turnberg LA, Sherlock S. -- ⁴⁷ Calcium absorption in parenchymatous and biliary liver disease. *Gut* 1971; 12: 978-983.
- 176) Farrington K, Epstein O, Varghese Z, Newman SP, Moorhead JF, Sherlock S. Effect of oral 1,25-dihydroxycholecalciferol on calcium and -- phosphate malabsorption in primary biliary cirrhosis. *Gut* 1979; 20: -- 616-619.
- 177) Stellan AJ, Webb A, Compston Y, Williams R. Low bone turnover state in primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 1987; 7: 137-142.
- 178) Piqué JM, Pallarés M, Piera C, Navarro S, Vilar Bonet J, Gassull M.A. La prueba del aliento con trioleína ¹⁴C como método de detección de la presencia o ausencia de esteatorrea. *Med Clin (Barc)* 1983; 81: - 151-154.
- 179) Marshall DH, Nordin BEC. Kinetic analysis of plasma radioactivity after oral ingestion of radiocalcium. *Nature* 1969; 222: 797-800.
- 180) Meunier P, Edouard C. Quantification of osteoid tissue in trabecular bone methodology and results in normal iliac bone. En: Jaworski -- EFG. Bone Morphometry. Proceedings of First International Workshop. -- Ottawa. 1973; 191-196.
- 181) Melsen F, Mosekilde L. Tetracycline double-labeling of iliac trabecular bone in 41 normal adults. *Calcif Tiss Res* 1978; 26: 99-102.
- 182) Melsen F, Mosekilde L. Dynamic studies of trabecular bone formation in normal and certain pathological conditions. *Metab Bone Dis Rel Res* 1978; 1: 45-48.
- 183) Melsen F, Mosekilde L. Trabecular bone mineralization lag time determined by tetracycline double-labeling in normal and certain pathological conditions. *Acta Path Microbiol Scand* 1980; 88: 83-88.

- 184) Brancós MA, Parés A, Bartrons S, Gómez R, Bruguera M, Rodés J, Rotés-Querol J. Las manifestaciones osteoarticulares en la cirrosis biliar primitiva. *Rev Esp Reumatol* 1979; 6: 82-89.
- 185) Rosenberg IH. When is vitamin D-responsive bone disease not osteomalacia? *Hepatology* 1984; 4: 157-158.
- 186) Nordin BEC. International patterns of osteoporosis. *Clin Orthop* - 1960; 45: 17-30.
- 187) Rico H, Del Río A, Lozano C, Ciguenza R, Espinós D. Parámetros de masa ósea en la población normal española. *Rev Clin Esp* 1978; 148: 475-478.
- 188) Christensson T, Hellström K, Wengle B, Alveryd A, Wikland Prevalence of hipercaelcemia in a health screening in Stockholm. *Act Med Scand* 1976; 200: 131-137.
- 189) Boonstra CE, Jackson CE. Hyperparathyroidism detected by routine serum calcium analysis. *Ann Intern Med* 1969; 63: 468-474.
- 190) Lane JM, Healey JH, Schwartz E, Vigorita VJ, Schneider R, Einhorn TA, Suda M, Robbins W. Treatment of osteoporosis with sodium fluoride and calcium. Effects on vertebral fracture incidence and bone histomorphometry. *Orthop Clin North Am* 1984; 15: 729-745.
- 191) Wallach S, Cohn S, Atkins HL, Ellis KJ, Kohberger R, Aloí JF, Zanzi I. Effect of salmon calcitonin on skeletal mass in osteoporosis. *Current Therapeutic Research* 1977; 22: 556-572.