

Revisión sistemática de estudios preclínicos sobre el efecto de las vitaminas en la regeneración ósea

Systematic review of preclinical studies on the effect of vitamins on bone regeneration

Melissa Aracely Becerra-Bravo^{1,2*} <https://orcid.org/0000-0002-3672-4153>

Katherine Yhomara Becerra-Bravo² <https://orcid.org/0000-0003-2908-8184>

Josh Aron Garcia-Dextre² <https://orcid.org/0000-0002-6198-7094>

Nelly Maritza Lam-Figueroa^{1,2,3} <https://orcid.org/0000-0003-3747-8123>

Eliberto Ruiz-Ramirez^{1,2} <https://orcid.org/0000-0002-5340-7168>

¹Grupo de Investigación NEURON-UNMSM. Lima, Perú.

²Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

³Instituto de Investigaciones Clínicas, Facultad de Medicina. Lima, Perú.

* Autor para la correspondencia: m.aralylibra5@gmail.com

RESUMEN

Introducción: Las vitaminas son sustancias orgánicas con propiedades biológicas sobre múltiples tejidos del organismo, incluido el tejido óseo; por tanto, pueden participar en el proceso de regeneración ósea.

Objetivo: Evaluar el efecto de las vitaminas en el proceso de regeneración ósea en modelos preclínicos de defectos óseos.

Métodos: La siguiente revisión sistemática se realizó de acuerdo con la guía *Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses*. La pregunta de investigación se construyó de acuerdo con el modelo PICO (Población, Intervención, Comparador, Resultado), y las búsquedas bibliográficas se realizaron en las bases de datos PubMed/Medline, Embase, Web of Science (WOS), Scopus y LILACS. También se consultó literatura gris en PROQUEST y Google Scholar. Se buscó como resultado principal “regeneración ósea”.

Resultados: Se incluyeron 23 artículos para el análisis cualitativo; posteriormente se evaluaron la calidad, a través de la herramienta *Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments* (ARRIVE), y el riesgo de sesgo mediante la herramienta del Centro de Revisión Sistemática para Experimentación con Animales de laboratorio (herramienta de riesgo de sesgo SYRCLE). Los hallazgos principales mostraron la acción de las vitaminas sobre la regeneración ósea en defectos óseos inducidos en animales; sin embargo, no se recuperaron datos sobre los parámetros analizados de manera similar en los estudios.

Conclusiones: La evidencia actual sugiere que la administración de vitaminas promueve la regeneración ósea; sin embargo, se requieren más estudios preclínicos para confirmar el efecto de las vitaminas sobre los defectos óseos.

Palabras clave: regeneración ósea; vitamina E; vitamina D; vitamina C.

ABSTRACT

Introduction: Vitamins are organic substances with biological properties on multiple tissues of the organism, including bone tissue; therefore, they may participate in the process of bone regeneration.

Objective: To evaluate the effect of vitamins on the bone regeneration process in preclinical models of bone defects.

Methods: The following systematic review was performed according to the Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses. The research question was constructed according to the PICO (Population, Intervention, Comparator, Outcome) model, and literature searches were performed in PubMed/Medline, Embase, Web of Science (WOS), Scopus and

LILACS databases. Gray literature was also consulted in PROQUEST and Google Scholar. Bone regeneration” was probed as the main outcome.

Results: Twenty-three articles were included for qualitative analysis; subsequently, quality was assessed using the Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments (ARRIVE) tool and risk of bias was assessed using the Systematic Review Center for Laboratory Animal Experimentation (SYRCLE risk of bias tool). The main findings showed the action of vitamins on bone regeneration in induced bone defects in animals; however, data on the parameters analyzed similarly across studies were not retrieved.

Conclusions: Current evidence suggests that vitamin administration promotes bone regeneration; however, further preclinical studies are required to confirm the effect of vitamins on bone defects.

Keywords: bone regeneration; vitamin E; vitamin D; vitamin C.

Recibido: 22/02/2023

Aceptado: 14/04/2024

Introducción

La regeneración ósea comprende una serie de procesos fisiológicos para la formación de un tejido estable, con la acción de componentes celulares, como los osteoblastos y los osteoclastos.⁽¹⁾ Esto se evidencia de manera clínica en la reparación de las fracturas y la formación continua del hueso durante la vida adulta. Varias condiciones clínicas interfieren en este proceso biológico; por ejemplo, defectos óseos de gran tamaño, traumatismos, infecciones, resecciones quirúrgicas de tumores, anomalías esqueléticas, necrosis o condiciones sistémicas, como osteoporosis, que alteran el adecuado proceso de restablecimiento óseo.⁽²⁾

Actualmente la medicina se interesa por solucionar esta situación que puede presentarse en cualquier paciente. Entre las terapias más conocidas se hallan el injerto óseo autólogo, la implantación de aloinjertos, el injerto vascularizado de peroné, los factores de crecimiento, los andamios osteoconductores y las estrategias locales mejoradas por la ingeniería tisular; sin embargo, estos procedimientos resultan muy costosos y algunos muy invasivos.⁽³⁾

Por ello se han explorado las vitaminas E, D y C, cuyos efectos positivos se han evidenciado a nivel del tejido óseo.^(4,5) Según los estudios clínicos en diferentes comunidades, hogares de acianos o poblaciones hospitalarias, la vitamina D previene las fracturas.⁽⁶⁾ Igualmente, las vitaminas C y E, por su actividad antioxidante y antiinflamatoria, disminuyen el riesgo de osteoporosis y favorecen las células osteológicas;^(7,8) aunque no se ha llegado a un consenso sobre los beneficios de estas vitaminas en el hueso.^(9,10,11)

La vitamina E se conforma por tocoferoles y tocotrienoles, derivados de la cadena lateral isoprenoide del 6-cromanol.⁽¹²⁾ Los tocoferoles tienen cadenas laterales de tres unidades isopentilo, completamente saturadas; el α -tocoferol se considera más importante porque alcanza mayor biodisponibilidad en el organismo.⁽¹³⁾ La vitamina E elimina los radicales peroxilo lipídicos al donar hidrógeno del grupo fenólico en el anillo de cromanol; de esta manera, garantiza su actividad antioxidante.⁽¹²⁾

La vitamina C induce la proliferación celular, promueve la calcificación y regula la fosfatasa alcalina (ALP): las células migran al área afectada para la formación de trabéculas óseas gracias a la producción de mayor cantidad de ALP.⁽¹⁴⁾ Aunque las vitaminas antioxidantes C y E participan en distintos procesos orgánicos; no se sintetizan por el organismo humano; por tanto, deben consumirse mediante la nutrición.⁽¹⁵⁾

Las investigaciones sobre la actividad de las vitaminas en el tejido óseo⁽¹⁶⁾ han demostrado que los receptores para vitamina D (VDR) interactúan con los receptores de estrógeno y el receptor proliferador de peroxixomas, lo cual indica relaciones complejas en el equilibrio de la salud ósea y la inflamación. Los receptores VDR mejoran la expresión de Runt(runx2), osterix(osx) y fosfatasa alcalina.^(4,6) También existe un vínculo directo entre los procesos tempranos de formación ósea, incluso en procedimientos de osteointegración de implantes dentales, que se apoyan en la respuesta inmune periimplantaria de modelos

preclínicos de osteointegración en animales.⁽¹⁷⁾ Por ello el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de las vitaminas en el proceso de regeneración ósea en modelos preclínicos de defectos óseos.

Métodos

Se recopilaron las publicaciones cuyo resultado primario describía el efecto de las vitaminas C, D y E en la regeneración ósea. Los resultados secundarios incluyeron conservación de cresta alveolar y densidad ósea. Los estudios se evaluaron según la guía ARRIVE.⁽¹⁸⁾ La formulación y la estrategia de búsqueda se desarrollaron de acuerdo con el modelo PICOS, al igual que los criterios de inclusión (tabla).

Tabla - Criterios PICOS para la inclusión de estudios

Población (P)	Modelos experimentales de mamíferos
Intervención (I)	Administración de vitaminas E, vitamina D, vitamina C
Comparación (C)	Placebo u otro
Resultados (O)	Regeneración ósea
Diseño de estudio (S)	Estudios experimentales de laboratorio

Se incluyeron los estudios preclínicos en modelos animales libre de patología sistémica, aleatorios o no, que evaluaron los efectos de las vitaminas, comparados con placebo u otras intervenciones, en la regeneración ósea; también los artículos originales que comprendían la administración de terapias con vitaminas E, D y C.

La estrategia de búsqueda se individualizó para las cinco bases de datos elegidas: PubMed/Medline, Scopus, Web of Science, Embase y Lilacs, y se realizó de manera independiente por dos revisores (ERR, MABB) desde el 26 mayo hasta el 16 junio de 2022. En caso de discrepancia se incluyó un tercer revisor (KYBB). No se restringió la fecha de publicación ni idioma. Se utilizó la combinación de

términos Mesh Tiab y Tw. La literatura gris se exploró mediante Google Scholar y PROQUEST.

Los artículos duplicados se identificaron mediante *software* administrador (Endnote™). La selección se hizo sobre la base del título y el resumen a través del *software* Rayyan (<https://www.rayyan.ai/>). Posteriormente, se leyó el texto completo y se examinaron las referencias bibliográficas en busca de estudios no identificados en las bases de datos consultadas.

En la fase 1 de la selección de estudios y después de eliminar los duplicados, se identificaron 1996 artículos, potencialmente concordantes, de las cinco bases de datos revisadas. Se evaluaron títulos y resúmenes, de ellos quedaron 439 artículos. La literatura gris identificó seis artículos. De los textos seleccionados, se leyeron completos 79 para determinar si podían incluirse en la revisión, pero no cumplían con los criterios de inclusión. Se excluyeron 55 artículos que no contaban con los requerimientos establecidos. Finalmente quedaron 23 artículos para el análisis y la evaluación correspondiente. Todos los procesos mencionados se esquematizaron en un diagrama de flujo (fig.).

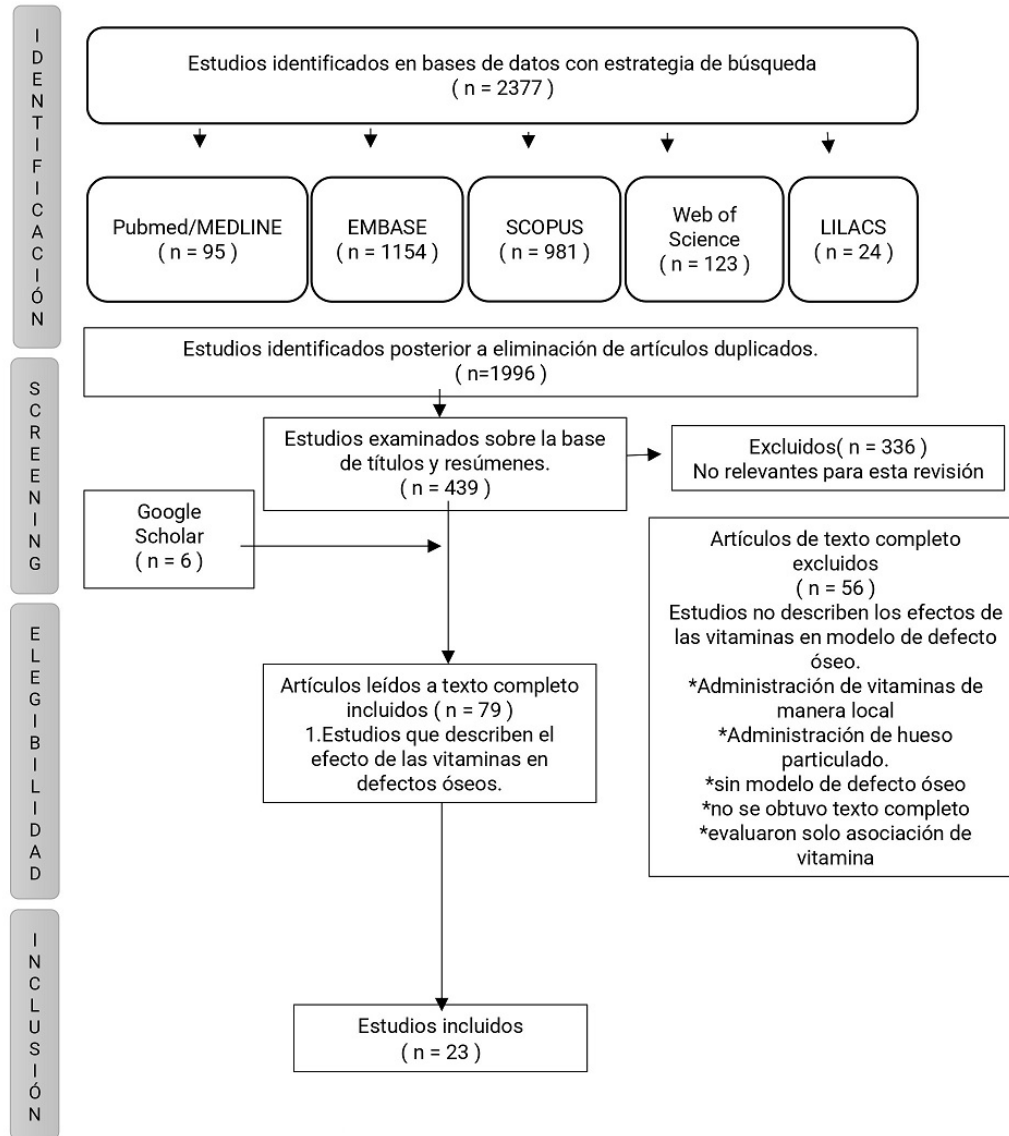


Fig. - Diagrama de flujo PRISMA 2020.

Se elaboró una tabla en Microsoft Excel con autor, año, país, diseño de estudio, fuentes de financiación, las características de la población (especie, género y número de muestra) y la intervención (dosis de vitaminas, vías de administración, tipo de control); así como los métodos de medición y los resultados (histológicos, radiológicos, densidad mineral ósea, bioquímicos), evaluados de manera cualitativa porque no hubo datos suficientes para agruparlos cuantitativamente.

Los estudios utilizaron diferentes modelos animales, sitios de administración, dosis, sitio de lesión y duración del seguimiento. Esta heterogeneidad impidió efectuar el metaanálisis por pares.

Los resultados primarios consideraron que la formación de hueso se podía medir con diferentes técnicas, entre ellas análisis histológico o análisis radiográfico (tomografía computarizada, micro-tomografía y radiografía estándar). Cualquier complicación y evento adverso relacionado con el uso de vitaminas se manejó como secundario.

Se establecieron los ítems: declaración ética, procedimientos experimentales, animales de experimentación, aleatorización, ocultación de la asignación, cálculo de tamaño de la muestra, integridad de la información, cegamiento del evaluador y conflicto de interés financiero. Para evaluar los estudios, de acuerdo con los aspectos de la directriz ARRIVE, se otorgó un punto si cumplía con el ítem y 0 en caso contrario. La valoración fue cuantitativa con un máximo de 26 puntos para la observancia total de los ítems.

El riesgo de sesgo se midió por dos revisores (ERR, NMLF) con RoB de SYRCLE, herramienta desarrollada por el Centro de Revisión Sistemática para evaluar la calidad metodológica de los artículos a partir de la clasificación del sesgo en estudios con animales de laboratorio.⁽¹⁹⁾ Se apreciaron el sesgo de selección, el sesgo de desempeño, el sesgo de detección, el sesgo de deserción, el sesgo de notificación, entre otros.

Los datos no se analizaron estadísticamente porque los estudios se realizaron en diferentes poblaciones, con distinto tiempo de seguimiento, dosis de medicación y métodos de evaluación en el tejido óseo.

Resultados

Se incluyeron 23 estudios preclínicos, publicados hasta 2022, sobre el efecto de las vitaminas en modelos de defecto óseo inducido. Todos en idioma inglés. Los estudios revisados utilizaron el modelo de defecto óseo para evaluar el proceso de regeneración ósea con el uso de vitaminas E, D y C. Estas se administraron,

solas o en combinación, de manera sistémica por vía intraperitoneal, intramuscular, subcutánea y vía oral. Las dosis variaron en cada estudio.

Los modelos animales experimentales utilizaron conejos New Zeland, ratas Holtzman, ratas Sprague-Dawley, ratas Wistar, ratones Balb/c y pollos, para un total de 1032 animales, distribuidos de 6 a 15 por cada grupo. El período experimental se estableció entre 28 y 84 días. El proceso de regeneración ósea se evaluó mediante histología, radiología, bioquímica, micro-tomografía, biomecánica y gammagrafía.

Dos estudios indicaron que la vitamina E no repara el tejido óseo.^(20,21) En 2019 *Nguyen* y otros,⁽²⁰⁾ mediante el modelo de osteonecrosis de la mandíbula, evidenciaron que el grupo con 40 UI/kg al día de tocoferol mostraba mayor cantidad de vasos sanguíneos inviables en los canales haversianos; por tanto, no tenía una buena cicatrización ósea. Asimismo, *Seo* y otros⁽²¹⁾ indicaron que la administración de tocoferol producía en el hueso mayor porosidad y retraso en la cicatrización, en comparación con los demás grupos.

Sin embargo, se demostraron los beneficios de la vitamina E para las células óseas en la formación de tejido,⁽²²⁾ la fuerza biomecánica,⁽²³⁾ el tiempo de reparación⁽²⁴⁾ y una mejor curación del hueso.^(12,25,26) Igualmente, se constató que la vitamina D previene la apoptosis de células osteológicas,⁽²⁷⁾ mejora la curación de fracturas,⁽²⁸⁾ beneficia la formación de callo⁽²⁹⁾ y aumenta la producción de células;⁽³⁰⁾ aunque dos estudios no señalaron ninguna utilidad para las fracturas óseas.^(31,32) Entre los resultados de la vitamina C se obtuvieron la diferenciación de células óseas,⁽³³⁾ la formación de callo óseo⁽³⁴⁾ y la reparación del hueso;^(14,5,35,36) mas *Giordano* y otros⁽¹⁶⁾ no encontraron diferencias en la curación de fracturas óseas.

La regeneración osteológica implica la recuperación total del tejido, pero, en ocasiones, se forma un tejido defectuoso o se prolonga el proceso; por ello se requieren medicamentos que contribuyan a la activación de células para el restablecimiento del hueso en el menor tiempo posible. La administración de vitaminas E, D y C podría favorecer la formación de tejido, a nivel de osteoblastos y osteoclastos, para la regeneración ósea.

Algunos datos no determinaron diferencias con la administración de la vitamina C y D, posiblemente porque, al ser estudios preclínicos, administraron las vitaminas

en dosis muy bajas o no tuvieron en cuenta que algunos roedores poseen una deficiencia en los mecanismos de absorción de dichas vitaminas; por eso se recomienda el empleo de ratones como modelos experimentales en este tipo de estudios.

No obstante, ambas vitaminas favorecieron la regeneración osteológica a partir de distintos mecanismos: la vitamina C indujo la formación de colágeno tipo I, mientras que la vitamina D garantizó la absorción y la fijación de calcio a nivel del tejido óseo.⁽³⁷⁾ De acuerdo con los resultados, la administración sistémica de vitamina E permitió la formación ósea y la cicatrización en menor tiempo.

Durante la formación ósea se liberaron radicales libres por la activación de neutrófilos y macrófagos. Un exceso de radicales libres inhibió la diferenciación de osteoblastos⁽³⁸⁾ y activó los osteoclastos;⁽³⁹⁾ pero las propiedades antioxidantes de la vitamina E disminuyeron los radicales libres y contribuyeron al restablecimiento óseo. En tanto, el alfa-tocoferol redujo el tiempo de formación de tejido e incrementó la calidad de hueso regenerado en un modelo de distracción ósea.⁽²⁴⁾

Otras investigaciones han referido que los tocotrienoles podrían prevenir o revertir la pérdida del tejido óseo.^(40,41) *Smith* y otros⁽⁴²⁾ reportaron que la suplementación con 500 UI/kg de alfa-tocoferol durante 13 semanas, en modelos inducidos de osteoporosis, previno la lesión del tejido óseo. Por su parte, *Hermizi* y otros,⁽⁴³⁾ mediante un modelo de inducción de osteoporosis en ratas, señalaron que el alfa-tocoferol minimizó la resorción ósea. Igualmente, *Norazlina* y otros⁽⁴⁴⁾ administraron 30mg/kg de alfa-tocoferol a ratas ovariectomizadas durante 10 meses, y con ello evitaron la disminución de la densidad mineral ósea (DMO) a nivel del fémur y la vértebra lumbar; además, mejoró la microestructura del tejido óseo en ratas osteoporóticas.

Ni los animales ni los humanos producen vitamina E de manera fisiológica, pero al administrarse las isoformas de vitamina E se metabolizan en el hígado, llegan al torrente sanguíneo y se distribuyen por los tejidos.^(45,46) *Kasai* y otros⁽⁴⁷⁾ informaron que, en ratas normales, el alfa-tocoferol en dosis baja (2,2 mg/kg), media (9,3 mg/kg) y alta (45,1 mg/kg) no producía efectos adversos en el hueso. En cambio, *Frank* y otros⁽¹¹⁾ demostraron que las dosis altas de alfa-tocoferol prolongan el tiempo de protrombina y los eventos hemorrágicos.

La administración de vitamina D, en todas sus formas activas, incrementó el porcentaje de formación ósea, previno la apoptosis de células osteológicas, aceleró el proceso de cicatrización en el hueso, promovió mayor resistencia a la fractura y benefició la mineralización del callo óseo. Se ha confirmado la intervención de la vitamina D en el metabolismo óseo⁽⁴⁸⁾ cuando regula el equilibrio de calcio en el organismo, y permite su absorción intestinal y reabsorción renal; además de sus propiedades antioxidantes.⁽⁴⁹⁾

Reid y otros⁽⁶⁾ agregaron suplemento de vitamina D (D2 y D3), con dosis menores a 800 UI por día, a individuos menores de 20 años, y la densidad mineral ósea solo resultó significativa en el cuello femoral de los siete sitios evaluados (columna lumbar, trocánter, cuerpo total o antebrazo, cadera total, cuello femoral); debido a la heterogeneidad de los estudios concluyeron que no tenía propósito utilizar vitamina D en personas sanas.

Zhou y otros⁽⁴⁹⁾ utilizaron H₂O₂, especie reactiva de oxígeno, en células madre mesenquimales para mostrar los efectos protectores de la vitamina D3 ante el estrés oxidativo. El H₂O₂ redujo la diferenciación de células osteogénicas, la actividad de la fosfatasa alcalina y la deposición de calcio; mientras que la vitamina D3 disminuyó la lesión celular, mediante la vía Sirt1/FoxO1; produjo menos niveles de estrés oxidativo, y manifestó nuevas funciones a nivel del modelado y la remodelación óseos. No obstante, otras publicaciones han explicado que la vitamina D no contribuye a la curación de fracturas^(50,51) ni produce efectos en el tejido óseo.⁽¹⁰⁾

La vitamina C presentó resultados positivos a nivel de células osteoblásticas y acortó los tiempos en la curación de lesiones del tejido óseo. Esto se debe a la actividad antioxidante de la vitamina C, que también se encarga de la regulación y la proliferación de osteoblastos. La administración de ácido ascórbico en células análogas de osteoblastos favoreció la acumulación de colágeno, y permitió la inducción de genes para la expresión de osteoblastos, fosfatasa alcalina y osteocalcina.⁽⁵²⁾ *Chin* e *Ima-Nirwana*⁽⁸⁾ informaron que la vitamina C evitó la pérdida de tejido osteológico en modelos de defecto óseo; también observaron que dosis bajas o moderadas aumentaban la síntesis de procolágeno y la proliferación de osteoblastos, lo cual garantizaba una mejor densidad mineral ósea, y reducía el riesgo de fractura y osteoporosis.

Aunque solo un estudio indicó posibles eventos adversos en la formación ósea con la administración local de vitamina C,⁽⁵⁾ se ha evidenciado que en altas dosis podría incrementar el estrés oxidativo y la apoptosis de células óseas, lo cual provoca defectos en la formación del hueso.⁽⁸⁾ Fujita y otros⁽⁹⁾ reportaron que el alfa-tocoferol beneficiaba la fusión de osteoclastos e impedía el proceso de formación de tejido óseo normal, pero se necesitan más estudios para probar los efectos adversos en el tejido óseo y a nivel sistémico.

La presente revisión identificó estudios preclínicos a través de una búsqueda sistematizada, y, mediante una escala cuantitativa y otra cualitativa, valoró la calidad y el riesgo de sesgo de cada estudio. Sin embargo, tuvo limitaciones como la naturaleza heterogénea de los estudios por las características de la población, el tamaño de la muestra, el tiempo de administración del medicamento y el período de seguimiento. La población está en riesgo de validación externa pues al ser estudios preclínicos no se pudo extrapolar directamente. Ningún estudio indicó el cegamiento en la evaluación y los resultados.

Conclusiones

Las vitaminas E, D y C han mostrado beneficios a nivel del tejido óseo. Gracias a sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias podrían utilizarse en la regeneración ósea; pero se requiere más evidencia científica que respalde el inicio de ensayos en humanos y el efecto en cirugías a nivel de tejido óseo.

Referencias bibliográficas

1. Borrelli J, Pape C, Hak D, Hsu J, Lin S, Giannoudis P, *et al.* Physiological challenges of bone repair. *J Orthop Trauma.* 2012;26(12):708-11. DOI: <https://doi.org/10.1097/bot.0b013e318274da8b>

2. Dimitriou R, Jones E, McGonagle D, Giannoudis P. Bone regeneration: Current concepts and future directions. *BMC Med.* 2011;9(66):2-10. DOI: <https://doi.org/10.1186/1741-7015-9-66>
3. Li S, Zhao J, Xie Y, Tian T, Zhang T, Cai X. Hard tissue stability after guided bone regeneration: a comparison between digital titanium mesh and resorbable membrane. *Int J Oral Sci.* 2021;13(1):37. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41368-021-00143-3>
4. Delfrate G, Mroczek T, Mecca L, Andreis J, Fernandes D, Lipinski L, *et al.* Effect of pentoxifylline and α -tocopherol on medication-related osteonecrosis of the jaw in rats: Before and after dental extraction. *Arch Oral Biol.* 2022;137:105397. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2022.105397>
5. Uysal T, Amasyali M, Olmez H, Enhos S, Karslioglu Y, Gunhan O. Effect of vitamin C on bone formation in the expanded inter-premaxillary suture. Early bone changes. *J Orofac Orthop.* 2011;72(4):290-300. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00056-011-0034-3>
6. Reid I, Bolland M, Grey A. Effects of vitamin D supplements on bone mineral density: A systematic review and meta-Analysis. *Lancet.* 2014;383(9912):146-55. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61647-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61647-5)
7. Mohamad S, Shuid A, Mohamed N, Fadzilah F, Mokhtar S, Abdullah S, *et al.* The effects of alpha-tocopherol supplementation on fracture healing in a postmenopausal osteoporotic rat model. *Clinics.* 2012;67(9):1077-85. DOI: [https://doi.org/10.6061/clinics/2012\(09\)16](https://doi.org/10.6061/clinics/2012(09)16)
8. Chin K, Ima-Nirwana S. Vitamin C and bone health: evidence from cell, animal and human studies. *Curr Drug Targets.* 2018;19(5):439-50. DOI: <https://doi.org/10.2174/1389450116666150907100838>
9. Fujita K, Iwasaki M, Ochi H, Fukuda T, Ma C, Miyamoto T, *et al.* Vitamin E decreases bone mass by stimulating osteoclast fusion. *Nat Med.* 2012;18(4):589-94. DOI: <https://doi.org/10.1038/nm.2659>
10. Melhus G, Solberg L, Dimmen S, Madsen JE, Nordsletten L, Reinholt F. Experimental osteoporosis induced by ovariectomy and vitamin D deficiency does not markedly affect fracture healing in rats. *Acta Orthop.* 2007;78(3):393-403. DOI: <https://doi.org/10.1080/17453670710013988>

11. Frank J, Weiser H, Biesalski H. Interaction of vitamins E and K: effect of high dietary vitamin E on phylloquinone activity in chicks. *Int J Vitam Nutr Res.* 1997 [acceso 27/11/2022];67(4):242-7. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9285253/>
12. Shuid A, Mohamad S, Muhammad N, Fadzilah F, Mokhtar S, Mohamed N, *et al.* Effects of α -tocopherol on the early phase of osteoporotic fracture healing. *J Orthop Research.* 2011;29(11):1732-8. DOI: <https://doi.org/10.1002/jor.21452>
13. Jiang Q. Natural forms of vitamin E: Metabolism, antioxidant, and anti-inflammatory activities and their role in disease prevention and therapy. *Free Radic Biol Med.* 2014;72:76-90. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2014.03.035>
14. Maruli A, Gunawan B, Jusuf A. The role of vitamin C in enhancement of fracture healing in fracture with periosteal stripping at Sprague-Dawley white rats femur. *Indon J Orthop.* 2021 [acceso 27/11/2022];41(1):9-14. Disponible en: <https://www.neliti.com/publications/90658/the-role-of-vitamin-c-in-enhancement-of-fracture-healing-in-fracture-with-perios>
15. Vallibhakara S, Nakpalat K, Sophonsritsuk A, Tantitham C, Vallibhakara O. Effect of vitamin E supplement on bone turnover markers in postmenopausal osteopenic women: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Nutrients.* 2021;13(12):4226. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu13124226>
16. Giordano V, Albuquerque R, do Amaral N, Chame C, de Souza F, Apfel M. Supplementary vitamin C does not accelerate bone healing in a rat tibia fracture model. *Acta Ortop Bras.* 2012;20(1):10-2. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1413-78522012000100001>
17. Nastri L, Moretti A, Migliaccio S, Paoletta M, Annunziata M, Liguori S, *et al.* Do dietary supplements and nutraceuticals have effects on dental implant osseointegration? A scoping review. *Nutrients.* 2020;12(1):268. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu12010268>
18. Percie N, Hurst V, Ahluwalia A, Alam S, Avey M, Baker M, *et al.* The ARRIVE guidelines 2.0: Updated guidelines for reporting animal research. *Br J Pharmacol.* 2020;177(16):3617. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000411>

19. Hooijmans C, Rovers M, de Vries R, Leenaars M, Ritskes-Hoitinga M, Langendam M. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. *BMC Med Res Methodol.* 2014;14(1):1-9. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2288-14-43>
20. Nguyen T, Eo M, Seo M, Myoung H, Kim S, Lee J. Effects of pentoxifylline and tocopherol on a rat-irradiated jaw model using micro-CT cortical bone analysis. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2019;276(12):3443-52. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00405-019-05600-8>
21. Seo M, Myoung H, Lee J, Yang H, Woo K, Lee S, *et al.* Effects of pentoxifylline and tocopherol on an osteoradionecrosis animal model. *J Cranio-Maxillofacial Surg.* 2020;48(7):621-31. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2020.02.008>
22. Akçay H, Kuru K, Tatar B, Şimşek F. Vitamin E promotes bone formation in a distraction osteogenesis model. *J Craniofac Surg.* 2019;30(8):2315-8. DOI: <https://doi.org/10.1097/scs.0000000000005685>
23. Mohamad S, Shuid A, Mokhtar S, Abdullah S, Soelaiman I. Tocotrienol supplementation improves late-phase fracture healing compared to alpha-tocopherol in a rat model of postmenopausal osteoporosis: A biomechanical evaluation. *Evid Complement Alternat Med.* 2012;2012:2-7. DOI: <https://doi.org/10.1155/2012/372878>
24. Kurklu M, Yildiz C, Kose O, Yurttas Y, Karacalioglu O, Serdar M, *et al.* Effect of alpha-tocopherol on bone formation during distraction osteogenesis: A rabbit model. *J Orthop Traumatol.* 2011;12(3):153-8. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10195-011-0145-z>
25. Turk CY, Halici M, Guney A, Akgun H, Sahin V, Muhtaroglu S. Promotion of fracture healing by vitamin E in rats. *J Int Med Res.* 2004;32(5):507-12. DOI: <https://doi.org/10.1177/147323000403200508>
26. Durak K, Sonmez G, Sarisozen B, Ozkan S, Kaya M, Ozturk C. Histological assessment of the effect of α -tocopherol on fracture healing in rabbits. *J Int Med Res.* 2003;31(1):26-30. DOI: <https://doi.org/10.1177/147323000303100104>
27. Pal S, Khan K, China S, Mittal M, Porwal K, Shrivastava R, *et al.* Theophylline, a methylxanthine drug induces osteopenia and alters calciotropic hormones, and prophylactic vitamin D treatment protects against these changes in rats. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2016;295:12-25. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.taap.2016.02.002>

28. Aydoğan NH, Özel I, İltar S, Kara T, Özmeriç A, Alemdaroğlu K. The effect of vitamin D and bisphosphonate on fracture healing: An experimental study. *J Clin Orthop Trauma*. 2016;7(2):90-4. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcot.2016.01.003>
29. Saito M, Shiraishi A, Ito M, Sakai S, Hayakawa N, Mihara M, *et al.* Comparison of effects of alfacalcidol and alendronate on mechanical properties and bone collagen cross-links of callus in the fracture repair rat model. *Bone*. 2010;46(4):1170-9. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bone.2009.12.008>
30. Cao Y, Mori S, Mashiba T, Kaji Y, Manabe T, Iwata K, *et al.* 1 α ,25-Dihydroxy-2 β (3-hydroxypropoxy) vitamin D3 (ED-71) suppressed callus remodeling but did not interfere with fracture healing in rat femora. *Bone*. 2007;40(1):132-9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bone.2006.07.023>
31. Seo E, Einhorn T, Norman A. 24R,25-dihydroxyvitamin D3: an essential vitamin D3 metabolite for both normal bone integrity and healing of tibial fracture in chicks. *Endocrinol*. 1997;138(9):3864-72. DOI: <https://doi.org/10.1210/endo.138.9.5398>
32. Lindgren J, DeLuca H, Mazess R. Effects of 1,25(OH)₂D₃ on bone tissue in the rabbit: studies on fracture healing, disuse osteoporosis, and prednisone osteoporosis. *Calcif Tissue Int*. 1984;36(5):591-5. DOI: <https://doi.org/10.1007/bf02405372>
33. Farhadian N, Miresmaeili A, Azar R, Zargaran M, Moghimbeigi A, Soheilifar S. Effect of dietary ascorbic acid on osteogenesis of expanding midpalatal suture in rats. *J Dent (Tehran)*. 2015 [acceso 27/11/2022];12(1):39-48. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26005453/>
34. Sarisözen B, Durak K, Dinçer G, Bilgen O. The effects of vitamins E and C on fracture healing in rats. *J Int Med Res*. 2002;30(3):309-13. DOI: <https://doi.org/10.1177/147323000203000312>
35. Duygulu F, Yakan B, Karaoglu S, Kutlubay R, Karahan OI, Ozturk A. The effect of zymosan and the protective effect of various antioxidants on fracture healing in rats. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2007;127(7):493-501. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00402-007-0395-7>

36. Yilmaz C, Erdemli E, Selek H, Kinik H, Arikan M, Erdemli B. The contribution of vitamin C to healing of experimental fractures. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2001;121(7):426-8. DOI: <https://doi.org/10.1007/s004020100272>
37. Lindholm T, Sevastikoglou J. The effect of 1alpha-hydroxycholecalciferol on the healing of experimental fractures in adult rats. *Acta Orthop Scand.* 1978;49(6):485-91. DOI: <https://doi.org/10.3109/17453677808993227>
38. Garrett I, Boyce B, Oreffo R, Bonewald L, Poser J, Mundy G. Oxygen-derived free radicals stimulate osteoclastic bone resorption in rodent bone in vitro and in vivo. *J Clin Invest.* 1990;85(3):632-9. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI114485>
39. Reilly P, Schiller H, Bulkley G. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites. *Am J Surg.* 1991;161(4):488-503. DOI: [https://doi.org/10.1016/0002-9610\(91\)91120-8](https://doi.org/10.1016/0002-9610(91)91120-8)
40. Chin K, Mo H, Soelaiman I. A review of the possible mechanisms of action of tocotrienol - a potential antiosteoporotic agent. *Curr Drug Targets.* 2013;14(13):1533-41. DOI: <https://doi.org/10.2174/13894501113149990178>
41. Chin K, Ima-Nirwana S. The biological effects of tocotrienol on bone: a review on evidence from rodent models. *Drug Des Devel Ther.* 2015;9:2049-61. DOI: <https://doi.org/10.2147/dddt.s79660>
42. Smith B, Lucas E, Turner R, Evans G, Lerner M, Brackett D, *et al.* Vitamin E provides protection for bone in mature hindlimb unloaded male rats. *Calcif Tissue Int.* 2005;76(4):272-9. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00223-004-0269-8>
43. Hermizi H, Faizah O, Ima-Nirwana S, Ahmad Nazrun S, Norazlina M. Beneficial effects of tocotrienol and tocopherol on bone histomorphometric parameters in Sprague–Dawley male rats after nicotine cessation. *Calcif Tissue Int.* 2008;84(1):65-74. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00223-008-9190-x>
44. Norazlina M, Ima-Nirwana S, Gapor MT, Khalid BAK. Palm vitamin E is comparable to alpha-tocopherol in maintaining bone mineral density in ovariectomised female rats. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2000;108(4):305-10. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-2000-7758>
45. Chin K, Ima-Nirwana S. The effects of α -tocopherol on bone: a double-edged sword? *Nutrients.* 2014;6(4):1424. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu6041424>

46. Hosomi A, Arita M, Sato Y, Kiyose C, Ueda T, Igarashi O, *et al.* Affinity for alpha-tocopherol transfer protein as a determinant of the biological activities of vitamin E analogs. *Fed Eur Bioch.* 1997;409(1):105-8. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(97\)00499-7](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(97)00499-7)
47. Kasai S, Ito A, Shindo K, Toyoshi T, Bando M. High-dose α -tocopherol supplementation does not induce bone loss in normal rats. *PLoS One.* 2015;10(7). DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132059>
48. Muresan G, Hedesiu M, Lucaciu O, Boca S, Petrescu N. Effect of vitamin D on bone regeneration: a review. *Medicin.* 2022;58(10). DOI: <https://doi.org/10.3390/medicina58101337>
49. Zhou J, Wang F, Ma Y, Wei F. Vitamin D3 contributes to enhanced osteogenic differentiation of MSCs under oxidative stress condition via activating the endogenous antioxidant system. *Osteoporos Int.* 2018;29(8):1917-26. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00198-018-4547-0>
50. Doepfner W. Consequences of calcium and-or phosphorus deficient diets on various parameters of callus formation and on growth rate in young rats. *Br J Pharmacol.* 1970 [acceso 27/11/2022];39(1):188-9. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5420093/>
51. Einhorn T, Bonnarens F, Burstein A. The contributions of dietary protein and mineral to the healing of experimental fractures. A biomechanical Study. *J Bone Joint Surg.* 1986 [acceso 27/11/2022];68(9):1389-95. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3782211/>
52. Franceschi R, Iyer B. Relationship between collagen synthesis and expression of the osteoblast phenotype in MC3T3-E1 cells. *J Bone Miner Res.* 1992;7(2):235-46. DOI: <https://doi.org/10.1002/jbmr.5650070216>

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.