

Marcadores bioquímicos óseos durante la premenopausia en mujeres con baja ingesta habitual de calcio

► Graciela Mabel Ponce^{1*}, María Angélica Fajardo^{1*}, Susana Noemí Zeni^{2**},
María Luz de Portela^{3***}

1. Dra. en Bioquímica.
2. Dra. en Química.
3. Dra. en Farmacia y Bioquímica.

* Facultad de Ciencias Naturales UNPSJB, Km 3, Comodoro Rivadavia, 9000 Chubut.

** Cátedra de Bioquímica General y Bucal, Facultad de Odontología UBA, Paraguay 2200, 1113 Buenos Aires.

** Cátedra de Nutrición, Facultad de Farmacia y Bioquímica, UBA, Junín 956, Piso 2º, 1113 Buenos Aires.

Resumen

Se evaluó el remodelamiento óseo en un grupo (GT) de mujeres premenopáusicas (n = 28) del sur argentino, clínicamente sanas, con densitometría normal de columna lumbar y cuello femoral, con predominio de baja ingesta de calcio habitual (ICa). La edad e índice de masa corporal fueron (promedio \pm desviación estándar; mínimo-máximo): 33,2 \pm 8,5 (22-49) años; 23,0 \pm 2,8 (19-30) Kg/m², respectivamente. La mediana y rangos de ICa, calculados en base a encuesta alimentaria fueron: 568 (190-2.117) (mg/día). Con objeto de dilucidar el efecto de la suplementación cálcica, un subgrupo de 7 mujeres (GS), con ICa entre 429-664 mg/día, recibió 800 mg/día de calcio (citrato de calcio), bajo supervisión médica. Se determinaron inicialmente (To) en GT y a los 4 meses (Tf) en GS: *crosslaps* (CTX) y fosfatasa alcalina ósea (FAO), en suero; calcio (Ca), creatinina (Crea) y deoxipiridinolina (Dpir), en orina de 24 horas. Los resultados fueron: mediana (máximo-mínimo): a To, en GT y GS, respectivamente: Ca/crea (mg/mg): 0,110 (0,014-0,372); 0,089 (0,051-0,181); Dpir/crea (nM/mM): 5,2 (3,4-10,3); 5,2 (3,6-10,3); CTX (nM): 2,25 (0,30-6,20); 2,25 (1,49-5,20); FAO (UI/L): 58 (52-64); 58 (56-62). A Tf sólo CTX disminuyó significativamente: 1,16 (0,92-2,5) (p = 0,0175), indicando la capacidad de discernir cambios en el remodelamiento óseo y evidenciar los efectos benéficos de la suplementación.

Palabras clave: marcadores bioquímicos óseos * ingesta de calcio * premenopausia * suplementación cálcica.

Summary

BONE BIOCHEMICAL MARKERS THROUGH PREMENOPAUSE IN WOMEN WITH USUAL LOW CALCIUM INTAKE

Bone markers were studied in 28 healthy premenopausal women (GT), living in Comodoro Rivadavia (Argentina), aged 33.2 \pm 8.5 years (22-49), with normal femoral neck and lumbar spine (L2-L4) bone mineral density. Usual daily calcium intake (CaI), presented a median value and ranges of 568 (190-2.117) (mg/day). A subgroup of 7 women (GS) with CaI lower

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

than 700 mg/day received 800 mg/day of Ca (Ca citrate) during 4 months, under medical supervision. Fasting blood samples and 24 hs urine were collected at the beginning (To) in GT and after the supplementation period (Tf) in GS. Laboratory determinations were: calcium (Ca), creatinine (Crea) and deoxypyridinoline (Dpyr) (Pyrilinks, MetraBiosystems), in urine; crosslaps (CTX) (ELISA, Osteometer, BioTech) and bone alkaline phosphatase (BAPh) (after a selective precipitation with wheat-germ-lectine), in serum. The bone markers in GT and GS, at To, presented the following median values and ranges (between brackets), respectively: Ca/crea (mg/mg): 0.110 (0.014-0.372); 0.089 (0.051-0.181); Dpir/crea (nM/mM): 5.2 (3.4-10.3); 5.2 (3.6-10.3); CTX (nM): 2.25 (0.30-6.20); 2.25 (1.49-5.20); BAPh (UI/L): 58 (52-64); 58 (56-62). CTX was the only marker that at Tf showed a significant decrease ($p = 0.0175$), suggesting its usefulness and sensibility to evidence the benefits of Ca supplementation to achieve a decrease in bone resorption

Key words: bone biochemical markers * calcium intake * premenopause * calcium supplementation.

Introducción

El remodelamiento esquelético es el resultado de la actividad de las células óseas y se evalúa mediante marcadores bioquímicos de formación y resorción. En los últimos años existió un gran avance en el campo de dichos indicadores, los cuales se aplican no sólo para el diagnóstico de patologías óseas, sino también para el seguimiento de individuos en los cuales se hace necesaria la implementación de tratamientos antirresortivos (1).

La fosfatasa alcalina y, más específicamente, su isoforma ósea (FAO) es uno de los marcadores de formación de más amplia utilización (2); entre los marcadores de resorción ósea más difundidos se encuentran la deoxipiridinolina urinaria (Dpir) y los *crosslaps* séricos (CTX) (3). Esta última determinación parece ofrecer mayor sensibilidad y especificidad que las determinaciones tradicionales (4) (5).

Entre los factores que condicionan la adquisición de una masa ósea pico adecuada se encuentra la ingesta de calcio (ICa), por lo cual su deficiencia permanente y subclínica constituye a largo plazo uno de los factores nutricionales asociados a la pérdida de masa ósea en la edad adulta y senil (6).

La Argentina es uno de los países que presenta predominio de bajas ingestas de calcio en la población general (7), independientemente del nivel socioeconómico y de la edad. A su vez, las cifras de incidencia de osteoporosis son muy elevadas (8), lo que se traduce, a largo plazo, en un deterioro de la calidad de vida y en un aumento en los gastos de los servicios de salud.

El efecto de la Ica sobre la resorción ósea se evalúa, en general, en las mujeres posmenopáusicas, en las personas añosas o durante el crecimiento. Existen numerosos estudios que demuestran que una ingesta de calcio adecuada durante el crecimiento, es eficiente

para alcanzar un mejor nivel de masa ósea pico (9). Por otra parte, Mc Kane et al. (10) demostraron que la administración diaria de 1.000 a 2.000 mg de calcio fue eficaz para prevenir y revertir la elevada resorción ósea en mujeres posmenopáusicas y en gerontes.

Sin embargo, la influencia de la Ica durante la premenopausa ha sido poco estudiada. Uno de los trabajos longitudinales más esclarecedores ha sido el de Recker et al. (11), quienes confirmaron que, en mujeres premenopáusicas sanas, existe ganancia de masa ósea durante la tercera década de la vida y que la ingesta de calcio tiene un efecto significativo.

Por ello, el objetivo del presente estudio fue evaluar el remodelamiento óseo en un grupo de mujeres premenopáusicas, clínicamente sanas del sur argentino, que presentaban baja ingesta de calcio habitual.

Materiales y Métodos

SUJETOS DE ESTUDIO

Se estudiaron 28 mujeres voluntarias sanas, premenopáusicas, residentes en Comodoro Rivadavia, que cumplían con los siguientes criterios de inclusión: permanencia en la Patagonia mayor a 5 años; ausencia de: embarazo o lactancia, diabetes, trastornos tiroideos, tratamiento con corticoides, anticonvulsivantes y diuréticos, antecedentes de fracturas e inmovilización prolongada (más de 3 meses).

Las voluntarias manifestaron su consentimiento por escrito para participar en el estudio, de acuerdo a las Normas Éticas Internacionales en vigencia y a las del Comité de Investigación y Docencia del Hospital Regional de Comodoro Rivadavia.

En aquellas mujeres que, presentando ciclos regulares, podría suponerse, por su edad, que se encontraban en un período perimenopáusico ($n = 8$), se reali-

zó la determinación de FSH y LH. Como dichos valores se encontraron dentro de los rangos de referencia para mujeres premenopáusicas (FSH < 30 mUI/L y LH < 20 mUI/L) se infirió que sus niveles estrogénicos eran adecuados.

Todas las mujeres contaban con una densitometría ósea normal de columna lumbar (L2-L4) y de cuello femoral (12) (equipo Lunar DPX, Wisconsin, Madisol, Estados Unidos) recientemente efectuada.

A fin de dilucidar el efecto de la suplementación cálcica sobre el cambio en el remodelamiento óseo, a un subgrupo de 7 mujeres voluntarias, con ingestas de calcio entre 43 y 57% de las aconsejadas se le administró un suplemento de citrato de calcio (Citramar NF, Dupomar, Ciudad de Buenos Aires, Argentina). Todo el grupo recibió, durante un período de 4 meses y bajo supervisión médica, 800 mg/día de calcio elemental distribuidos en dos tomas.

ENCUESTA NUTRICIONAL

A todas las mujeres se les realizó una encuesta alimentaria, por recordatorio de la frecuencia de consumo de alimentos durante 7 días consecutivos. Se calculó la ICa utilizando las Tablas Nacionales de Composición Química de Alimentos (13). Los datos faltantes en ellas se obtuvieron de las tablas de Cenexa (14), de las Alemanas (15) o de los rótulos de los alimentos envasados.

OBTENCIÓN DE MUESTRAS

Se recolectó orina de 24 horas y se extrajo sangre sin anticoagulante para la separación del suero.

DETERMINACIONES DE LABORATORIO

En orina:

-**Calcio (Ca):** se determinó mediante método colorimétrico con un equipo comercial (Boehringer, Ciudad de Buenos Aires, Argentina), basado en la formación de un complejo de color entre el calcio y la orto-cresoltaleína. El producto de la reacción es estabilizado mediante el agregado de cianuro de potasio que actúa eliminando las interferencias debidas a metales pesados. La 8-hidroxiquinolina elimina el magnesio. Se cuantificó espectrofotométricamente en un equipo Metrolab 1700 (16). Este método, según los fabricantes del equipo, muestra una correlación satisfactoria con la espectrofotometría de absorción atómica (Nacional Bureau of Standards) con un coeficiente de correlación de 0,86. El coeficiente de variación (CV) interensayo fue 1,7% para los rangos de concentración señalados por los proveedores de los equipos. Además, se evaluó la calidad de la determinación mediante el empleo de un suero control comercial, obteniendo un CV intraensayo de 1,72%.

- **Creatinina (Crea):** se determinó mediante método cinético con un equipo comercial (Wiener, Rosario, Argentina). La creatinina y otros compuestos de la muestra reaccionan con el ácido pícrico en medio alcalino dando un complejo de color naranja rojizo brillante que se cuantifica espectrofotométricamente. Los cromógenos no creatinina, reaccionan dentro de los primeros 30 segundos de iniciada la reacción, que se comporta como cinética de primer orden para la creatinina. De esta manera, entre los 30 segundos y los 5 minutos posteriores al inicio de la reacción, el incremento de color se debe exclusivamente a la creatinina (16). El CV interensayo fue 2,5% para los rangos de concentración señalados por los proveedores de los equipos. El CV intraensayo fue de 0,60%.

-**Deoxipiridinolina (Dpir):** se realizó con un equipo comercial (Metra Biosystems, Mountain View, Estados Unidos), basado en enzimoimmunoensayo de competencia, que utiliza anticuerpos monoclonales de deoxipiridinolina adheridos. La deoxipiridinolina en la muestra compete con el complejo deoxipiridinolina-fosfatasa alcalina por los anticuerpos y la reacción es detectada con el sustrato de p-nitrofenilfosfato. Para su cuantificación se empleó un lector de placa vertical (Metrolab 950) (17) (18). Los CV intra e interensayo, fueron 5,5% y 4,6%, respectivamente, para un rango de 3-300 nM/L, con sensibilidad de 1,1 nM/L.

En sangre

-**Crosslaps:** se determinó mediante el empleo de un equipo comercial Crosslaps™, ELISA, Osteometer, Rodovre, Denmark, que utiliza un péptido inmovilizado con una secuencia específica de aminoácidos para la parte C-telopéptido de la cadena alfa 1 del colágeno tipo I (19). Para su cuantificación se empleó un lector de placa vertical (Metrolab 920).

-**Fosfatasa alcalina ósea:** se determinó colorimétricamente con p-nitrofenilfosfato por diferencia entre la fosfatasa alcalina total y la remanente, luego de realizar una precipitación selectiva de la isoenzima ósea con lectina de germen de trigo (Wiener, Rosario, Argentina) (20). Se midió espectrofotométricamente a 520 nm. Mediante este ensayo la reactividad cruzada con la isoforma hepática es menor al 5%. Los CV intra e interensayo fueron 6 y 7%, respectivamente.

-**Hormona foliculo estimulante (FSH):** se realizó un ensayo inmunoenzimático que utiliza dos diferentes anticuerpos monoclonales anti-FSH, uno ligado a los pocillos y el otro conjugado con peroxidasa de rábano (HRPO). En la técnica, se realiza una incubación durante la cual, la FSH presente en la muestra y estándares, se unen a los dos anticuerpos monoclonales al mismo tiempo, formando un "sandwich". Luego de esta incubación, el material no unido es removido por ciclos de lavado-aspiración. La actividad enzimática

que se desarrolla en la fase sólida será directamente proporcional a la concentración de FSH en las muestras y estándares, y evidenciada por incubación de la fase sólida con la solución de cromógeno (tetrametilbenzidina, TMB) en *buffer* sustrato (Roche, Mannheim, Alemania). La intensidad del color se midió espectrofotométricamente a 450 nm (21).

-Hormona luteinizante (LH): se realizó un ensayo inmunoenzimático que utiliza dos diferentes anticuerpos monoclonales anti-LH, uno ligado a los pocillos y el otro conjugado con peroxidasa de rábano (HRPO). En la técnica, se realiza una incubación durante la cual, la LH presente en la muestra y estándares se unen a los dos anticuerpos monoclonales al mismo tiempo, formando un "sandwich". Luego de esta incubación, el material no unido es removido por ciclos de lavado-aspiración. La actividad enzimática que se desarrolla en la fase sólida será directamente proporcional a la concentración de LH en las muestras y estándares y evidenciada por incubación de la fase sólida con la solución de cromógeno (tetrametilbenzidina, TMB) en *buffer* sustrato (Roche, Mannheim, Alemania). La intensidad del color se midió espectrofotométricamente a 450 nm (21).

Análisis Estadístico

Los resultados se expresaron como media \pm desvío estándar y rangos, cuando presentaron distribución normal, o como mediana y rangos (o cuartiles), en los casos de distribución no normal. La naturaleza de la distribución de las variables cuantitativas se exploró a través del *test* de Shapiro-Wilk. Los cambios en los mar-

cadore urinario y séricos de las mujeres premenopáusicas suplementadas se evaluaron por el método de Wilcoxon-Mann-Whitney (22).

Resultados

En la Tabla I se resumen las características físicas del grupo y los resultados de la densitometría ósea (DMO) de columna lumbar y cuello femoral.

La mediana de la ingesta de calcio del total de mujeres (GT) fue de 568 mg/día, con un rango de 190-2.117 mg/día y cuartiles Q_{25} - Q_{75} : 431-888 mg/día, respectivamente. La distribución del total de mujeres según el porcentaje de adecuación de la ICa se muestra en la Figura 1, donde puede observarse que sólo el 15% de las mujeres superan la cifra aconsejada de ICa de 1.000 mg/día (6).

El subgrupo GS fue seleccionado entre el 61% de mujeres que presentó una ICa inferior al 70% de la cifra actualmente aconsejada (IA) para este grupo de edad de 1.000 mg/día. El subgrupo que aceptó recibir la suplementación cálcica quedó constituido por 7 mujeres que, al inicio del estudio, presentaron una mediana de ICa de 483 mg/día, con un rango entre 429-664 mg/día, cifras que representan entre 43% y 66% de la IA.

La Tabla II muestra los resultados de los marcadores Ca/crea, Dpir/crea en orina, como así también CTX y FAO séricos, del grupo total de mujeres premenopáusicas (GT) y los del grupo de mujeres premenopáusicas suplementadas (GS), al inicio (To) y a

Tabla I. Características del total de mujeres premenopáusicas (n = 28). Promedio \pm DE (mínimo - máximo) .

Edad (años)	33,2 \pm 8,5 (22 - 49)
Peso (kg)	61,4 \pm 8,8 (48 - 91)
Altura (m)	1,63 \pm 0,05 (1,52 - 1,75)
Índice de masa corporal (IMC) (Kg/m ²)	
< 20 (n = 4)	19,3 \pm 0,5 (18,8 - 19,9)
(20 - 24,9) (n = 19)	22,4 \pm 1,2 (20,2 - 24,2)
(25 - 29,9) (n = 5)	27,7 \pm 2,0 (25,4 - 29,7)
> 30 (n = 0)	-----
DMO Columna Lumbar (L2-L4) (g/cm ²)	1,241 \pm 0,098 (1,049 - 1,441)
% del adulto normal joven	103 \pm 8 (87 - 120)
DMO cuello de fémur (g/cm ²)	1,029 \pm 0,088 (0,893 - 1,271)
% del adulto normal joven	105 \pm 9 (91 - 130)

Tabla II. Marcadores bioquímicos del grupo total (GT) a To y del grupo suplementado (GS) a To y Tf # Mediana y rangos

	Ca/crea (mg/mg)	Dpir/crea (nM/mM)	CTX (nM)	FAO (UI/L)
GT	0,110 ^a (0,014 – 0,372)	5,2 ^a (3,4 – 10,3)	2,25 ^a (0,30 – 6,20)	58 ^a (52 – 64)
GS To	0,089 ^a (0,051 – 0,181)	5,2 ^a (3,6 – 10,3)	2,25 ^a (1,49 – 5,20)	58 ^a (56 – 62)
GS Tf	0,059 ^a (0,026 – 0,115)	6,7 ^a (3,1 – 10,1)	1,16 ^b (0,92 – 2,50)	60 ^a (51 – 69)

Superíndices diferentes en la misma columna, indican diferencias significativas (p = 0,0175).

los 4 meses del tratamiento (Tf). Como puede observarse no existieron diferencias significativas a To entre GT y GS, para ninguno de los indicadores estudiados.

A Tf sólo el CTX sérico disminuyó en forma significativa en relación a To en GS (p = 0,0175).

En las Figuras 2, 3, 4 y 5 se han representado las distribuciones de los indicadores estudiados en el grupo total y en el subgrupo suplementado al comienzo y al final del tratamiento. En dichas figuras pueden observarse las medianas y el intervalo entre los cuartiles 25 y 75. Como puede advertirse no existieron diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los indicadores estudiados, entre los valores de GT y de GS al inicio del estudio.

Por otra parte, también puede distinguirse que en el subgrupo GS sólo el CTX sérico disminuyó en forma significativa en Tf en relación a To (p = 0,0175) (Tabla II) (Fig. 4).

En base a los resultados anteriores se han representado los valores individuales de CTX al inicio y al final del tratamiento en el subgrupo suplementado. Como

puede apreciarse en la Figura 6 este indicador disminuyó en todas las mujeres estudiadas.

No existió correlación entre la ICa a To y los marcadores bioquímicos estudiados.

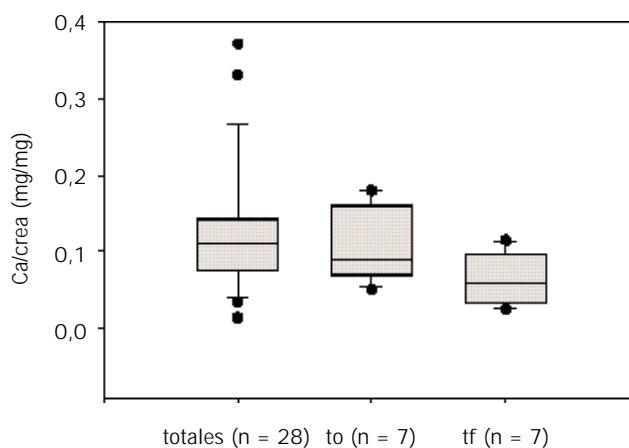
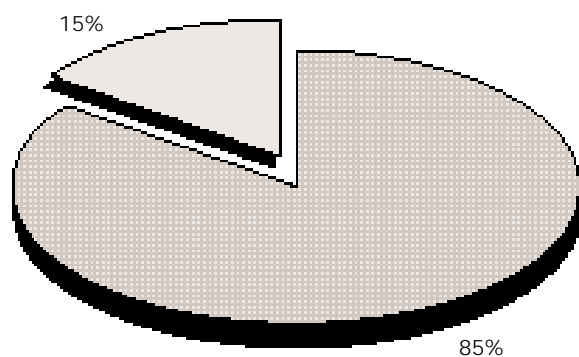


Figura 2. Distribución de Ca/crea en GT a to y en GS a to y tf.



□ ICa < 1.000 mg/día ■ ICa > 1.000 mg/día.

Figura 1. Distribución de la ICa en GT.

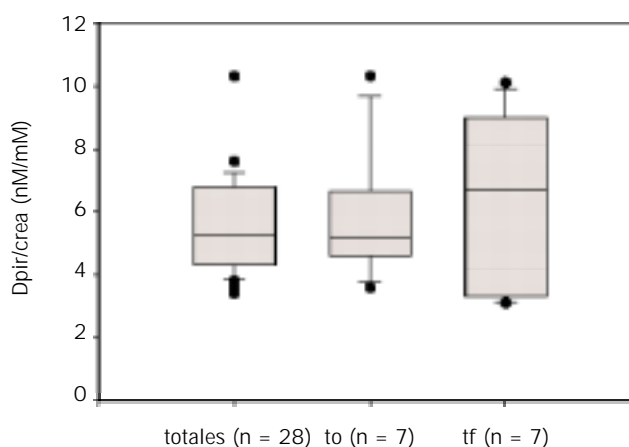


Figura 3. Distribución de Dpir/crea en GT a to y en GS a to y tf.

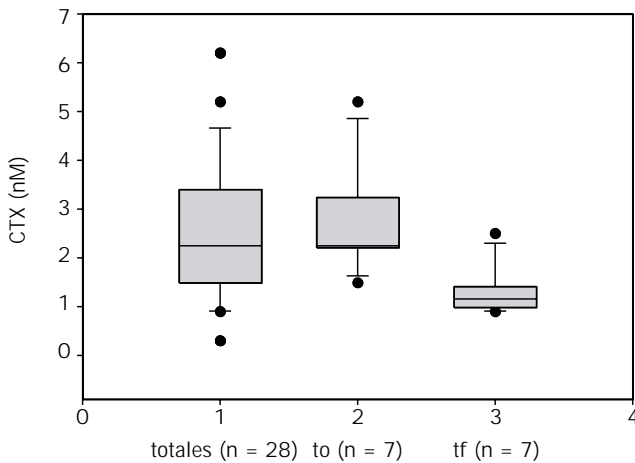


Figura 4. Distribución de CTX en GT a to y en GS a to y tf

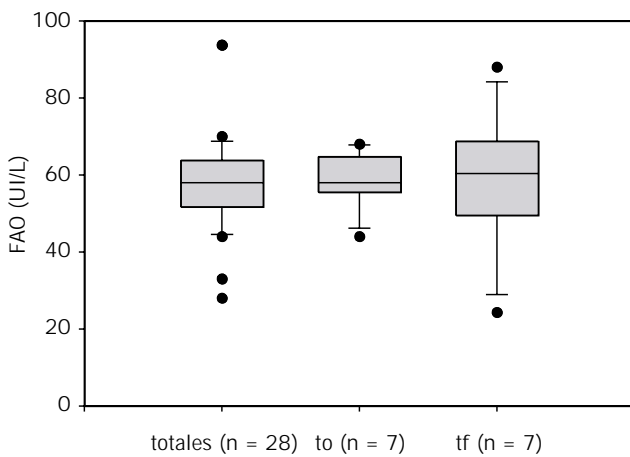


Figura 5. Distribución de FAO en GT a to y en GS a to y tf.

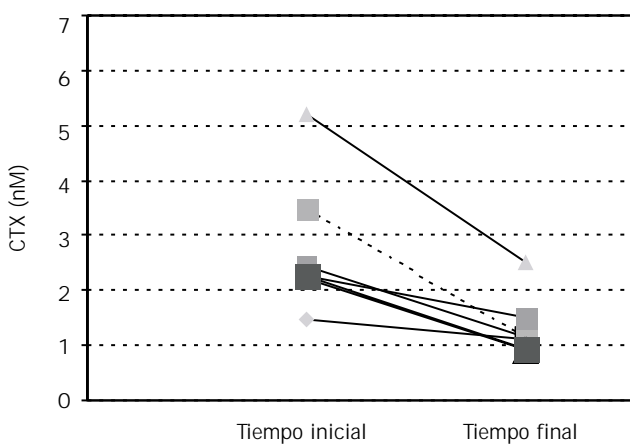


Figura 6. Valores individuales de CTX en GS a to y tf.

Discusión

El 99% del contenido de calcio del organismo adulto (entre 1.000 y 1.500 g de calcio) se encuentra en el hueso manteniéndose en continuo intercambio con el calcio plasmático. La constancia de este último dentro de rangos muy estrechos se produce por regulación hormonal, mediante un proceso incesante de formación y resorción ósea (10). El conjunto de funciones celulares que dan lugar a los procesos de resorción y formación ósea se conoce como remodelamiento óseo. Cuando por algún motivo se acelera, y como la resorción es más rápida que la formación, se produce una pérdida de masa ósea. En el adulto normal este proceso se encuentra en equilibrio de manera tal que mantiene el valor máximo alcanzado o pico de masa ósea, dado que la pérdida de masa ósea es compensada con la ganancia de la misma. Este capital óseo, depende, entre otros factores, de la ingesta de calcio durante la etapa de crecimiento. A partir de la cuarta década comienza a declinar, con una mayor pendiente en la mujer que en el hombre. En consecuencia, esa pérdida constante y prolongada de hueso conduciría a la aparición de osteopenia más o menos temprana si el valor máximo alcanzado en la tercera década no es el adecuado (11).

Las vías principales de eliminación de calcio, en condiciones fisiológicas normales, son la urinaria y el sudor. La eliminación urinaria está condicionada por la interrelación entre diferentes factores nutricionales (ingestas de calcio, fósforo, proteína y sodio, fundamentalmente) y no nutricionales (genéticos, ambientales, estilo de vida, consumo de medicamentos, etc.) (6) siendo su valor de referencia en la mujer hasta 200 mg diarios. Cuando esa pérdida no es compensada por el aporte de calcio de la dieta, predomina la resorción sobre la formación ósea y se produce descalcificación.

La identificación de una pérdida ósea mayor que la producida normalmente es fundamental para evitar problemas posteriores tales como la osteoporosis en la posmenopausia, los que trascienden a nivel de Salud Pública. La mujer premenopáusica, con niveles estrogénicos normales, debería presentar un remodelamiento óseo adecuado; sin embargo la baja ICa incidiría en el remodelamiento, con posteriores efectos perjudiciales. La absorción intestinal de calcio en una dieta mixta equilibrada oscila entre 25-30%; por consiguiente, la ICa de unos 600 mg/día, cifra promedio del presente estudio, implica que el organismo podrá utilizar entre 150 y 180 mg de calcio diarios, cifras que no alcanzan a cubrir la pérdida urinaria. Por otra parte, se debe tener en cuenta que el elevado consumo de proteínas (fundamentalmente las de origen animal) aumenta la pérdida de calcio urinaria (23) (24). La ingesta proteica promedio del total de mujeres estudiadas en el presente trabajo fue de 57 g/día, equivalente a 0,9 g/Kg/día, con lo cual se cubrieron en todos los casos las cifras recomen-

dados (25). Sin embargo, se debe notar que un 57% de mujeres presentaron ingestas proteicas entre 120% y 200% de las cifras recomendadas y a su vez, un 54% de ellas presentaron ICa inferiores a 600 mg/día. Estos hallazgos, aun en un grupo pequeño de premenopáusicas, son representativos de una gran cantidad de mujeres de este país, por lo cual la suma de ambos factores podría incidir en el incremento de la resorción ósea.

El aumento en la pérdida de masa ósea se puede determinar en forma subclínica mediante los marcadores específicos del remodelamiento óseo. Los marcadores de resorción más específicos son los telopéptidos del colágeno tipo I, amino y carboxilo terminal (NTX y CTX, respectivamente) y los fragmentos peptídicos que contienen aminoácidos cíclicos (piridinolina y deoxipiridinolina) que estabilizan la triple hélice de colágeno y que se eliminan al medio durante la degradación del mismo. Estos últimos no son metabolizados posteriormente y al ser eliminados por orina pueden evaluarse (5) (26).

Yilmaz et al. (27) evidenciaron que los marcadores urinarios deoxipiridinolina y piridinolina, poseen un elevado valor diagnóstico para la evaluación de osteoporosis, aunque la deoxipiridinolina/creatinina presenta un poder discriminativo mayor. Sus estudios, a partir del análisis de curvas ROC, sugieren que ambos marcadores de resorción ósea son más útiles que los de formación en el diagnóstico de la osteoporosis posmenopáusica.

En el presente trabajo, las mujeres premenopáusicas estudiadas no presentaron diferencias significativas en los niveles de Dpir/crea urinaria cuando se agruparon según la ingesta de calcio. Tampoco existieron diferencias significativas en el subgrupo suplementado entre el inicio y el final de la suplementación. Además, sólo 1 de las mujeres (incluida en el grupo suplementado) superaba el valor de Dpir/crea de 7,4 nM/mM, aconsejado como límite superior de referencia por los fabricantes del equipo, manteniendo luego de la suplementación también valores superiores a dicha cifra.

En el grupo total de mujeres estudiadas, los niveles de CTX séricos no mostraron diferencias significativas al agruparlas según ICa. Asimismo, 4 de estas mujeres presentaron niveles elevados en relación a los valores de referencia publicados por Zeni et al. (28) para mujeres premenopáusicas ($2,20 \pm 1,00$ nM; rango: 0,50-4,00 nM). Sin embargo, es importante destacar que a pesar de que las medianas del pequeño grupo suplementado, al inicio del estudio, no fueron significativamente diferentes a las del grupo total, en todas ellas disminuyó el valor del indicador ante la suplementación cálcica (Fig. 6) (Tabla II).

Estos resultados concuerdan con los de Kamel et al. (29) quienes han propuesto que la determinación sérica de CTX es una de la más sensibles para evidenciar el efecto de la suplementación con Ca en la posmenopausia en un período de dos meses.

La diferencia en la respuesta del CTX y la Dpir ante la suplementación cálcica podría explicarse en función

de dos factores. Uno de ellos es el pequeño número de mujeres estudiadas en el grupo suplementado; el otro es en función de suponer una mayor sensibilidad de las determinaciones séricas, puesto que en las urinarias se agrega el hecho de que la expresión de los resultados se efectúa en relación a la eliminación de creatinina en la misma muestra de orina.

Existe, en general, acuerdo acerca de que la suplementación con calcio puede contribuir a prevenir la pérdida de masa ósea en la posmenopausia y que la reducción de la resorción ósea se puede estudiar a través de los cambios en los marcadores de resorción (30). Fardellone et al. (31), en un estudio realizado sobre una cohorte de mujeres posmenopáusicas, demostraron que el efecto de la suplementación cálcica sobre los marcadores de recambio óseo era mayor en aquellas que presentaban menor ingesta de calcio.

Es interesante resaltar que, a pesar de que la mayoría de los estudios de suplementación con calcio y su evaluación a través del uso de marcadores bioquímicos han sido llevados a cabo en mujeres posmenopáusicas, también en el presente trabajo, el CTX fue el indicador bioquímico capaz de mostrar cambios al cabo de un corto período de tratamiento en las mujeres premenopáusicas sin evidencias de disminución de masa ósea. Este hecho sugiere que si bien no existe una relación aparentemente visible entre resorción e ingesta de calcio (posiblemente por el reducido número de sujetos) deberían implementarse medidas preventivas sobre la pérdida de masa ósea aún durante la premenopausia.

Conclusión

Si bien debería ampliarse el número de mujeres estudiadas, el CTX sérico pudo discernir cambios en la resorción ósea luego de un corto período de suplementación con Ca en mujeres premenopáusicas con baja ingesta habitual de calcio. En consecuencia, sería de sumo interés profundizar los estudios longitudinales, para observar los efectos de la suplementación cálcica sobre el recambio óseo aún con niveles estrógenicos normales.

CORRESPONDENCIA

DRA. GRACIELA MABEL PONCE
Urquiza N° 698
9000 COMODORO RIVADAVIA
Chubut. Argentina

AGRADECIMIENTOS

- Este trabajo ha sido realizado en el marco del proyecto UNPSJB, PI 39 y de los Subsidios UBA, TB 060 y PICT 04735.
- Se agradece al Laboratorio Dupomar S.A. el apoyo proporcionado.

Referencias bibliográficas

1. Zeni S, Lorenzetti MP, Bagur A, González D, Mautalen C. Sensibilidad de los marcadores del remodelamiento óseo: su modificación en la menopausia, ante la terapia estrogénica de reemplazo y ante una enfermedad metabólica generalizada. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 1996; 21: 3-17.
2. Fishman WH. Alkaline phosphatase isoenzymes: recent progress. *Clin Biochem* 1990; 23: 99-104.
3. Bettica P, Moro L, Robins SP, Taylor AK, Talbot J, Singer FR, et al. Bone resorption markers galactosyl hydroxylysine, pyridinium crosslinks and hydroxyproline compared. *Clin Chem* 1992; 11: 2313-7.
4. Delmas PD, Schlemmer A, Gineyts E, Riis B, Christiansen C. Urinary excretion of pyridinoline crosslinks correlates with bone turnover measured on iliac crest biopsy in patients with vertebral osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1991; 6: 639-44.
5. Demers LM, Kleerekoper M. Recent advances in biochemical markers of bone turnover. *Clin Chem* 1994; 40: 1994-5.
6. Dietary References Intakes (DRI) for Calcium, Phosphorus, Magnesium, vitamin D and Fluoride. Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary References Intakes, Food and Nutrition Board & Institute of Medicine, National Academy of Sciences, Washington, D.C.; 1998.
7. Asociación Argentina de Dietistas y Nutricionistas-Dietistas, Guías Alimentarias para la Población Argentina. Buenos Aires; 2000.
8. Bagur A, Mautalen C, Rubin Z. Epidemiology of hip fractures in an urban population of central Argentina. *Osteoporosis Int* 1994; 4: 332-5.
9. Martin AD, Bailey DA, McKay HA. Bone mineral and calcium accretion during puberty. *Am J Clin Nutr*; 1997; 66: 611-5.
10. Mc Kane WR, Khosla S, Egan KS, Robins SP, Burritt MF, Riggs BL. Role of calcium intake in modulating age related increases in parathyroid function and bone resorption. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 1699-703.
11. Recker RR, Davies KM, Henders SM, Heaney RP, Stegman MR, Kimmel DB. Bone gain in young adult women. *JAMA* 1992; 268: 2403-08.
12. Vega E, Bagur A, Mautalen C. Densidad mineral ósea en mujeres osteoporóticas y normales de Buenos Aires. *Medicina* 1993; 53: 211-6.
13. Closa SS, de Landeta MC. Tablas de Composición de Alimentos. Base de datos ARGENFOODS. Universidad Nacional de Luján. Buenos Aires, Argentina; 2002.
14. Mazzei ME, Puchulú MR. Tabla de Composición Química de Alimentos. 2^{da} ed. Buenos Aires. Centro de Endocrinología Experimental y Aplicada. CENEXA-FEIDEN editores; 1995.
15. Sousi SW, Fachmann W, Kraut W. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbh Stuttgart. Die Zusammensetzung Der Lebensmittel Nährwert. Tabellen; 1989-1990.
16. Pesce A, Kaplan L. Química Clínica Métodos. 1^{ra} ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 1990.
17. Robins SP, Woltge H, Heslgy R, Ju J, Seyedin S, Sejhel MJ. Direct, enzyme-linked immunoassay for urinary deoxypyridinoline as a specific marker for measuring bone resorption. *J Bone Miner* 1994; Res 9: 1643-9.
18. Daniloff GY, Hesley RP, Ju J, Evans BJ, He P, Seyedin SM. An Immunoassay for Deoxypyridinoline. A Highly Specific Marker of Bone Resorption. *J Bone Miner* 1993; 15th Annual Meeting of the AMSBMR, 8: (I). 962, S3578.
19. Ebeling PR, Peterson JM, Riggs BL. Utility of Type I Procollagen Propeptide Assays for Assessing Abnormalities in Metabolic Bone Diseases. *J Bone Miner* 1992; 7; 1243-50.
20. Farley JR, Chesnut CJ, Baylink DJ. Improved method for quantitative determination in serum alkaline phosphatase of skeletal origin. *Clin Chem* 1981; 27: 2002-7.
21. Henry JB. Diagnóstico y tratamiento clínico por el laboratorio. 9^{na} ed. Barcelona: Ediciones Científicas y Técnicas S.A.; 1993. p. 348-51.
22. Dawson-Saunders B, Trapp R. Bioestadística Médica. 1^{ra} ed. México: El Manual Moderno; 1994.
23. Spencer H, Kramer L, Osis D. Do protein and phosphorus cause calcium loss? *J Nutr* 1988; 118: 657-60.
24. Sellmeyer DE, Stone KL, Sebastian A, Cummings SR. A high ratio of dietary animal to vegetable protein increases the rate of bone loss and the risk of fracture in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 2001; 73: 118-22.
25. FAO/OMS/UNU. Necesidades de Energía y de Proteínas. Informe de una Reunión Consultiva Conjunta FAO/WHO/UNU de Expertos. Informe Técnico 724. p. 132, OMS, Ginebra; 1985.
26. Eyre DR. The specificity of collagen crosslinks as markers of bone and connective tissue degradation. *Acta Orthop Scand* 1995; 66: 166-70.
27. Yilmaz N, Bayram M, Erbagci AB, Kilincer MS. Diagnostic value of biochemical markers of bone turnover and postmenopausal osteoporosis. *Clin Chem Lab Med* 1999; 37 (2): 137-43.
28. Zeni S, Wittich A, Di Gregorio S, Casco C, Oviedo A, Somoza J, et al. Utilidad clínica de los marcadores de formación y resorción ósea. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 2001; 1: 3-36.
29. Kamel S, Fardellone P, Meddah B, Lorget-Gondelmann F, Sebert JL, Brazier M. Response of several markers of bone collagen degradation to calcium supplementation in postmenopausal women with low calcium intake. *Clin Chem* 1998; 44; 7: 1437-42.
30. Horowitz M, Need AG, Morris HA, Wishart J, Nordin BEC. Biochemical effects of calcium supplementation in postmenopausal osteoporosis. *Eur J Clin Nutr* 1988; 42: 775-8.
31. Fardellone P, Brazier M, Kamel S, Guéris J, Graulet AM, Sebert JL. Biochemical effects of calcium supplementation in postmenopausal women: influence of dietary calcium intake. *Am J Clin Nutr* 1998; 40: 857-9.

Acceptado para su publicación el 23 de noviembre de 2004

