

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE PEDIATRIA

TESIS DOCTORAL

**" MARCADORES BIOQUIMICOS DEL TURNOVER
OSEO EN EL RECIEN NACIDO"**

MADRID, ABRIL 1995

MANUEL LARRAGAY ARREDONDO

D. ENRIQUE CASADO DE FRIAS, CATEDRATICO DE PEDIATRIA Y DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE PEDIATRIA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID.

HACE CONSTAR:

Que D. MANUEL LARRAGAY ARREDONDO ha realizado bajo la dirección del Profesor D. Angel Nogales Espert y para ser defendido como Tesis Doctoral el trabajo titulado "Marcadores bioquímicos del turnover óseo en el recién nacido".

Dicho trabajo se encuentre finalizado y puede presentarse para la obtención del grado de Doctor.

Madrid, cinco de Abril de mil novecientos noventa y cinco.



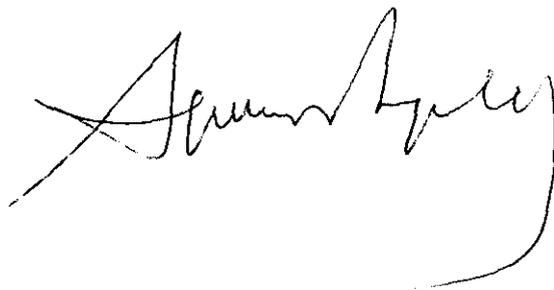
D. ANGEL NOGALES ESPERT, CATEDRATICO DE PEDIATRIA DE LA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID.

HACE CONSTAR:

Que D. MANUEL LARRAGAY ARREDONDO ha
realizado bajo su dirección y para ser defendido como Tesis
Doctoral el trabajo titulado "Marcadores bioquímicos del
turnover óseo en el recién nacido".

Dicho trabajo se encuentra finalizado y puede presentarse
para la obtención del grado de Doctor.

Madrid, cinco de Abril de mil novecientos noventa y cinco.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Ángel Nogales Espert". The signature is fluid and cursive, with a large, sweeping flourish at the end.

AGRADECIMIENTOS

Debo expresar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas que han hecho posible la realización de esta TESIS, en especial:

Al Prof. D. Angel Nogales Espert, al cual le dedico una especial mención por su dedicación en la dirección de este trabajo de investigación, cuyos consejos y correcciones han hecho que el presente estudio tenga la categoría científica que corresponde a este Departamento. Por eso y más, GRACIAS.

A la Dr^a Luisa Larrodera, Jefe del Laboratorio de Hormonas del Hospital 12 de Octubre, una gran profesional y una gran persona, que ha colaborado muy estrechamente en la realización de esta Tesis Doctoral, GRACIAS.

Al Prof. D. Enrique Casado de Frías, mi agradecimiento por haberme brindado la oportunidad de realizar el presente estudio.

Mis agradecimientos al personal de enfermería y auxiliares de clínica por la colaboración prestada.

A mis compañeros, familiares y amigos, por sus muestras de ánimo para la conclusión de mi trabajo, GRACIAS.

A TODOS Y POR TODO, GRACIAS

A MIS PADRES

A CARMEN

A MI HIJA

ABREVIATURAS

ABREVIATURAS

aa : aminoácidos	NS : no significativo
Ac : anticuerpo	p (·)(> <): nivel de significación
Ag : antígeno	pmol : picomol
Ag* : antígeno radiomarcado	PNP : periodo neonatal precoz
ANOVA : análisis de la varianza	PNT : periodo neonatal tardío
BGP : osteocalcina (<i>Bone Gla Protein</i>)	Pro : prolina
BGPs : osteocalcina sérica	PTH : parathormona
CaU : calcio urinario	PTH-MM : parathormona media molécula
Crtm : creatinina	PU : fósforo urinario
CT : calcitonina	r : coeficiente de correlación de Pearson
DE : desviación estandar	RIA : radioinmunoanálisis
EEM : error estandar de la media	RN : recién nacido
EG : edad gestacional	rpm : revoluciones por minuto
I.V. : intravenoso	SFA : sufrimiento fetal agudo
FA : fosfatasa alcalina	T : talla
G.L. : grados de libertad	t : t de Student
Gla : ac. gammacarboxiglutámico	TCT : tirocalcitonina
Glu : ácido glutámico	TRAP : fosfatasa ácida tartrato resistente
HPU : hidroxiprolina urinaria	U.I. : unidades internacionales
M : molar	Vs : volumen de muestra
N : normal	Vt : volumen total
n : tamaño de la muestra	
ng. : nanogramo	

INDICE

INDICE

1) INTRODUCCION.....	1
1.- EL HUESO; CELULAS Y FUNCIONES CELULARES.....	2
2.- METABOLISMO FOSFOCALCICO EN EL RECIEN NACIDO.....	6
3.- MINERALIZACIÓN Y REMODELAMIENTO OSEO.....	9
4.- MARCADORES BIOQUIMICOS DEL TURNOVER OSEO.....	13
4.1 PARATHORMONA.....	13
4.1.1 BIOSINTESIS Y ESTRUCTURA.....	13
4.1.2 REGULACION Y FORMAS CIRCULANTES	15
4.1.3 FUNCIONES.....	17
4.2 OSTEOCALCINA.....	20
4.2.1 SINTESIS Y ESTRUCTURA.....	20
4.2.2 FUNCIONES.....	22
4.3 CALCITONINA.....	24
4.3.1 BIOSINTESIS Y ESTRUCTURA.....	24
4.3.2 FUNCIONES.....	26
4.4 HIDROXIPROLINA URINARIA.....	28
4.4.1 BIOSINTESIS Y ESTRUCTURA.....	28
4.4.2 FUNCIONES.....	28

4.5 FOSFATASA ALCALINA.....	31
II) OBJETIVOS.....	34
III) MATERIAL Y METODOS.....	36
1.- CASUISTICA Y METODOLOGIA CLINICA.....	36
2.- METODO BIOQUIMICO.....	38
2.1 PRINCIPIO DE LA TECNICA.....	38
2.2 RECOGIDA DE MUESTRAS.....	44
2.3 MATERIAL DE LABORATORIO.....	45
2.4 TECNICAS DE CUANTIFICACION.....	49
3.- METODO ESTADISTICO.....	58
IV) RESULTADOS.....	61
V) DISCUSION.....	118
1.- OSTEOCALCINA.....	118
2.- PARATHORMONA.....	120
3.- CALCITONINA.....	122
4.- FOSFATASA ALCALINA.....	123
5.- CALCIO Y FOSFORO.....	124
6.- HIDROXIPROLINA URINARIA.....	126
VI) CONCLUSIONES.....	129
VII) ANEXO.....	132
VIII) BIBLIOGRAFIA.....	142

INTRODUCCION

MARCADORES BIOQUIMICOS DEL TURNOVER

OSEO EN EL RECIEN NACIDO

1) INTRODUCCION

1.- EL HUESO: CELULAS Y FUNCIONES CELULARES

El tejido esquelético se forma y adquiere un desarrollo por un proceso continuado en el que participan factores genéticos (1,2), raciales (3,4), hormonales (5,6), nutricionales (1,7,8) y mecánicos (9). El hueso es un tejido muy vascularizado y en continuo remodelamiento. Está compuesto por células de origen mesenquimal (osteoblastos, osteocitos y osteoclastos) y una matriz extracelular que, a su vez, posee un componente orgánico que representa un 35% del peso óseo, y otro inorgánico (aproximadamente el 65% restante). La estrecha relación de la matriz orgánica con su componente sólido inorgánico o mineral, constituido esencialmente por la hidroxiapatita, es decisiva para la estructura del hueso. Aunque cuantitativamente las células sólo representan una parte muy pequeña del volumen óseo, funcionalmente sintetizan y segregan la matriz orgánica, regulan su distribución y reabsorción, y son claves en el mantenimiento de la calcemia (10,11).

La matriz orgánica o sustancia osteoide se compone de más del 90 % de colágeno tipo I, una proteína cuya molécula posee una firme estructura cilíndrica, constituida por tres cadenas polipeptídicas. Un tercio de los aminoácidos que componen la molécula de colágeno corresponden a glicina, un 21% al conjunto de prolina y 3-OH-prolina y el

11 % a alanina, debiendo destacarse que el colágeno es una de las pocas proteínas conocidas que poseen hidroxiprolina e hidroxilisina. El resto de la matriz ósea está formada por proteínas no colágenas (Osteocalcina o proteína Gla ósea, osteonectina, sialoproteínas óseas y proteoglicanos). El índice de formación o degradación de la matriz ósea puede valorarse midiendo una actividad enzimática específica de las células que forman o reabsorben hueso, tales como actividad fosfatasa alcalina y ácida, o bien midiendo los componentes de la matriz ósea que se liberan a la circulación durante la formación o absorción (12,13)

Osteoblastos, osteocitos y osteoclastos constituyen la parte celular del hueso. Los *osteoblastos*, derivados de los preosteoblastos, a su vez procedentes de primitivas células mesenquimales, se presentan al microscopio en dos formas bastante bien definidas: osteoblastos activos o de primer orden, osteoblastos tipo I, y osteoblastos inactivos, de segundo orden, o tipo II (14).

Los osteoblastos activos son células cúbicas o cilíndricas de 10 micras de diámetro y 20-30 micras de altura que sintetizan el colágeno, proteoglicanos, osteonectina y osteocalcina de la matriz osteoide. Poseen un núcleo oval de límites precisos con 2 a 4 nucléolos grandes y muy basófilos, un citoplasma también muy basófilo por su alto contenido en RNA, y un retículo endoplásmico rugoso propio de las células que realizan una intensa síntesis de proteínas. Su aparato de Golgi está bien desarrollado y en él se lleva a cabo la fase final del procesamiento y secreción del colágeno y demás proteínas sintetizadas. Finalmente, en los osteoblastos tipo I puede demostrarse mediante histoquímica una gran actividad de fosfatasa alcalina.

A medida que los osteoblastos activos se extienden hacia la matriz osteoide se aplanan de forma progresiva, se imbrican como tejas en un tejado; a continuación, se alinean unos al lado de otros, y seguidamente se separan para constituir los osteoblastos tipo II o inactivos. De forma simultánea con esos cambios morfológicos y de disposición entre sí, el núcleo de estas células ha ido reduciendo su tamaño y haciéndose más densa su cromatina, y en el citoplasma han aumentado los proteoglicanos y gránulos

contenedores de glucógeno. Una capa de estos osteoblastos inactivos de citoplasma aplanado recubre la superficie del hueso y controla el flujo de iones a su través (15).

Cuando los osteoblastos quedan rodeados por la matriz sintetizada por ellos se denominan osteocitos. Cada una de estas células de 20x10x5 micras se localiza en unas oquedades o lagunas en cuyas paredes se abre un profuso sistema de canales que comunica los osteocitos con los osteoblastos de la superficie ósea. La ultraestructura de los osteocitos varía con el grado de activación; así, al microscopio electrónico pueden verse formas de núcleo alargado y organelas poco desarrolladas propias de una escasa actividad metabólica (osteocitos inactivos), o bien, osteocitos con núcleo redondeado y aparato de Golgi y retículo endoplásmico bien desarrollados, reflejo de una activa función de síntesis (osteocitos activos). La presencia, además, de vacuolas citoplasmáticas y numerosas mitocondrias en algunos de estos osteocitos sería un índice de su participación en la reabsorción ósea (16).

Ha podido comprobarse que estas formas activas pueden, tanto movilizar el mineral óseo conservando la matriz (osteolisis osteocitaria), como reabsorber el componente mineral simultáneamente con la matriz. No obstante, los osteocitos activos también poseen la capacidad de sintetizar osteoide y facilitar su mineralización (17).

Los *osteoclastos* son células que resultan de la fusión de fagocitos mononucleares, derivados a su vez de monocitos circulantes en sangre. Se trata de grandes células multinucleadas (cada una contiene de 5 a 15 núcleos y su superficie de corte equivale a la de 20-40 osteoblastos), con un citoplasma abundante en mitocondrias, vesículas y vacuolas. Tienen una vida media corta (aprox. 2 días), gran movilidad a lo largo de la superficie ósea y capacidad para reabsorber su matriz. Esta reabsorción la efectúan mediante la formación de invaginaciones que engloban la sustancia a reabsorber. Dentro de esas invaginaciones del citoplasma se originan unas prolongaciones que constituyen el denominado "borde en cepillo" y que, merced a las colagenasas sintetizadas por los propios osteoclastos, penetran entre las fibras del colágeno, deshilachándolas y desestructurándolas. Se ha observado que se produce una acidificación de los osteoclastos previa a

la degradación enzimática de la matriz orgánica del hueso, y que tal acidificación sigue un proceso semejante al de las células parietales del estómago (18,19,20).

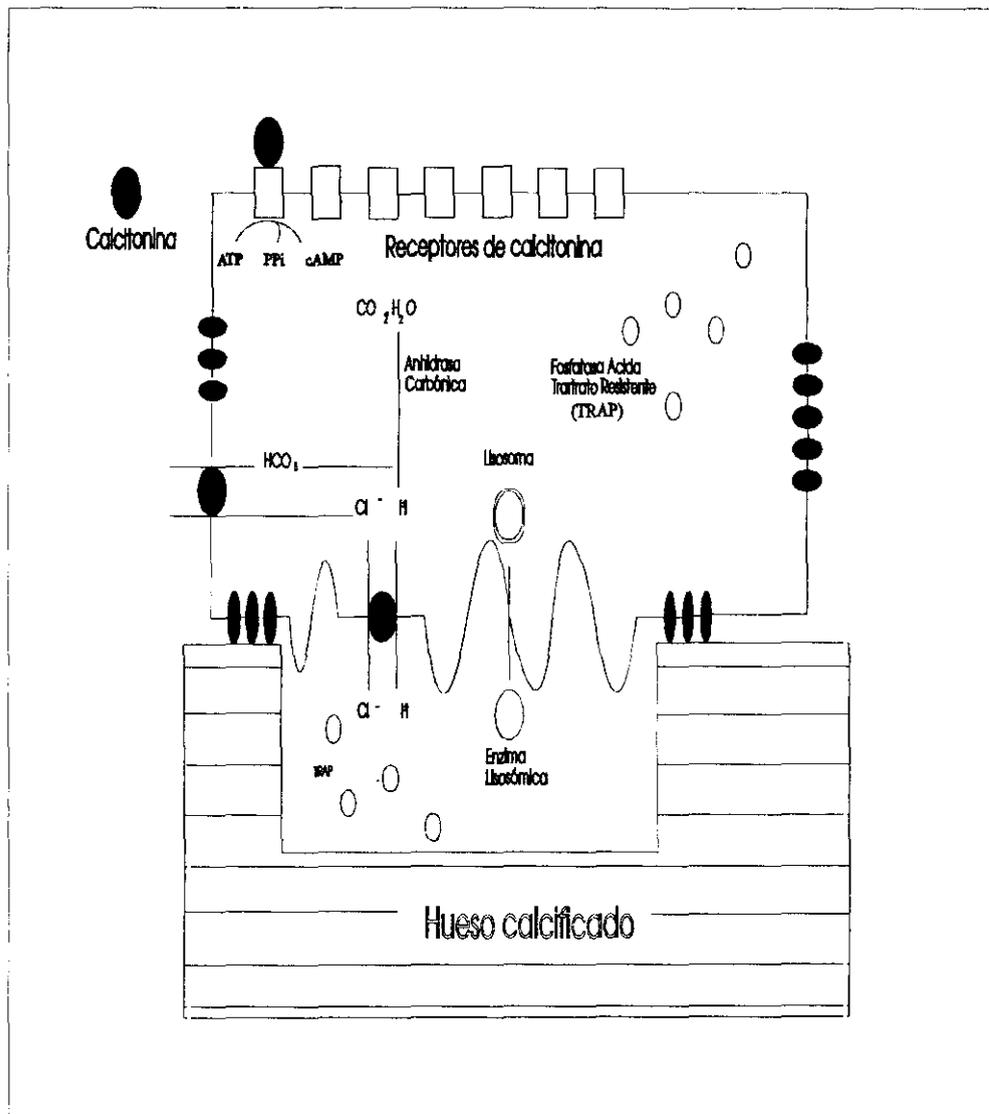


FIGURA 1: Representación de la estructura típica y funciones del osteoclasto.

Pero, a pesar de poseer un buen conocimiento de la estructura y función de estas células, hoy día persisten ciertos puntos oscuros en la secuencia de las etapas de la reabsorción ósea producida por los osteoclastos. Así, el hecho de que en condiciones fisiológicas no reabsorban la matriz sin mineralizar, plantea la duda de si la reabsorción de la matriz mineralizada debe precederla, o al revés. Del mismo modo, aunque entre el "borde en cepillo" formado en la invaginación del osteoclasto y la superficie de la matriz reabsorbida pueden verse fibrillas de colágeno y cristales de hidroxapatita, ni unas ni otros han podido demostrarse en el interior de aquella célula (5) (figura 1).

El hueso desempeña un doble papel, es decir, es la base física para la locomoción y protege algunos órganos internos, y actúa como reservorio de minerales y tampón, siendo esta última función más importante y primordial, pudiendo conllevar alteraciones, por mantener el medio interno, en el papel protector del hueso y en su capacidad para la locomoción (10).

2.- METABOLISMO FOSFOCALCICO EN EL RECIEN NACIDO

El calcio es el principal catión bivalente del organismo (2% del peso corporal), el cual está implicado en una serie de funciones, tales como el acoplamiento excitación-contracción del músculo, permeabilidad de membranas, diversas reacciones enzimáticas, secreción de hormonas peptídicas, coagulación de la sangre y formación y remodelamiento óseos (21).

La homeostasis del calcio requiere algunos ajustes fisicoquímicos y la acción coordinada de varias hormonas: Parathormona, derivados activos de la vitamina D y calcitonina (22). (figura 2)

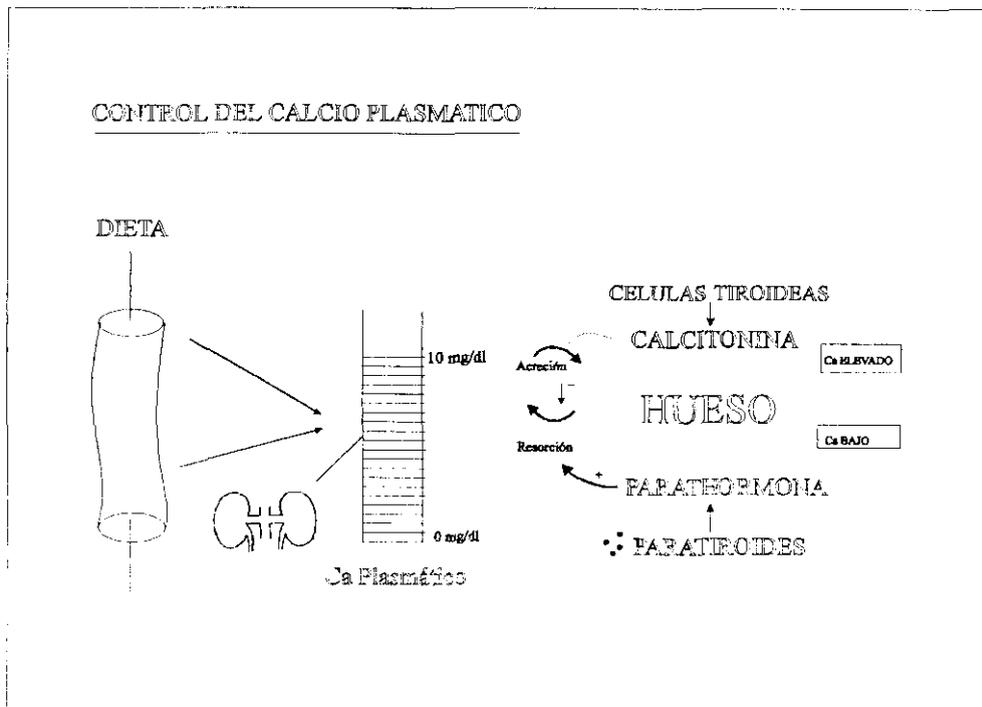


FIGURA 2: Esquema de los factores que intervienen en la homeostasis del calcio

El proceso íntimo de absorción del calcio es muy complejo y comprende el paso "luz intestinal-célula-sangre". La primera fase, de entrada en la célula, es una difusión pasiva por un gradiente electroquímico cuando la concentración de calcio en la luz intestinal es elevada o una difusión facilitada por medio de unas proteínas transportadoras específicas. La síntesis de esta proteína es vitamina D dependiente. La salida de calcio de la célula hacia la sangre, contra un gradiente electroquímico, es un fenómeno de transporte activo, dependiente de la energía proporcionada por una Ca-ATPasa (23).

El calcio total en el suero materno disminuye durante el embarazo de forma intensa hasta la mitad del tercer trimestre, y a partir de este momento asciende ligeramente hasta el parto, representando en total una disminución del 5-6 % de la calcemia total. Esto es paralelo al descenso de la albúmina, lo cual se puede interpretar como que el descenso de calcio está relacionado con la fracción unida a proteínas. Durante el periodo fetal, el contenido total de calcio aumenta progresivamente, sobre todo durante los últimos meses de la gestación, manteniendo una relación lineal con el peso del feto. Así, la

existencia de hipercalcemia en la sangre de cordón en el momento del parto es un fenómeno bien establecido. El contenido total de calcio en el feto, en el 5º mes de 3 g.; en el 6º mes, 6 g.; 9g. en el 7º mes; 15 g. en el 8º mes y 30 g. en el momento del nacimiento. Se ha comprobado en estudios en animales, que existe una transferencia continua de calcio de la madre al feto a través de la placenta (24), que proporciona el calcio suficiente para cubrir las demandas de mineralización ósea (25).

En las horas que siguen al nacimiento, se ha observado una caída progresiva de la calcemia, que posteriormente, en el plazo de aproximadamente de una semana se remonta a valores normales o ligeramente superiores (26).

En el periodo neonatal, esta hipocalcemia se puede asociar a varios factores (27, 28):

- Cese del flujo materno-fetal de calcio
- Importante aposición de minerales en el esqueleto del recién nacido, secundaria a un aumento de la velocidad de remodelamiento óseo
- Situación transitoria de hipoparatiroidismo fetal
- Inmadurez transitoria de los enzimas hidroxilantes de la vitamina D
- Hiperactividad secretoria de la calcitonina
- Situación de hipomagnesemia

En relación al fósforo, se acumula progresivamente en el feto durante la gestación, especialmente en el tercer trimestre, dependiendo del transporte activo vía placentaria. En las horas progresivas al nacimiento se asiste a un aumento progresivo de la fosfatemia, que al tercer día, suele ser más alta que incluso en el adulto. El riñón fetal puede eficazmente depurar el fósforo, aumentando su excrección en orina (29).

En resumen, en el metabolismo fosfocálcico del periodo de recién nacido intervienen principalmente cuatro factores:

- El metabolismo mineral de la madre durante la gestación y la regulación endocrina propia del recién nacido
- La placenta, que permitió el paso de metabolitos de la vitamina D y el transporte bidireccional de calcio y fósforo por mecanismo activo que tuvo con el feto, lo cual contribuyó a unas condiciones óptimas para una adecuada mineralización
- La regulación endocrina propia del feto que, por lo que respecta a la Parathormona y a la calcitonina, parece disponer pronto de la posibilidad de elaborar estas hormonas y de regular su secreción, de manera que responda a la hipercalcemia mantenida con disminución de la actividad de la Parathormona y aumento de la calcitonina, todo lo cual favorece la mineralización ósea
- El recién nacido a término posee una maduración enzimática y funcional suficiente para equilibrar por sí solo y desde el momento del nacimiento el metabolismo fosfocálcico. Las desviaciones de la normalidad que presenta son transitorias y en general limitadas al periodo neonatal precoz

3.- MINERALIZACION Y REMODELAMIENTO OSEO

El tejido óseo, a diferencia de otros tejidos, posee una serie de mecanismos enzimáticos que permiten la mineralización de su matriz extracelular (30,5), convirtiéndolo en una estructura dura, firme y adecuada para su función de soporte del organismo. Junto a estas funciones mecánicas, el tejido óseo, desempeña también una importante función metabólica en la regulación y homeostasis del calcio plasmático y de otros elementos inorgánicos, además de albergar en su interior el tejido progenitor de los elementos formes de la sangre, la médula ósea (31) (Tabla I) .

TABLA I	
FACTORES QUE INFLUYEN EN LA MINERALIZACIÓN ÓSEA	
A NIVEL DEL HUESO	FACTORES BIOQUÍMICOS NO HORMONALES
1.- Matriz apropiada 2.- Adecuada concentración de calcio y fosfato 3.- Concentración normal de iones hidrógeno	1.- Aumento de la formación ósea . Fosfatasa Alcalina sérica . Péptido de excreción carboxiterminal de procolágeno I . Excreción urinaria de hidroxiprolina no dializada
FACTORES ENDOCRINOS	2.- Aumento de la resorción ósea . Hidroxiprolina total urinaria . Glucósido de hidroxilisina urinario . Fosfatasa alcalina tartrato-resistente en plasma
1.- Aumento de la resorción ósea . Aumento de la formación de osteoclastos . Hormona paratiroidea . 1.25.dihidroxitamina D . Tiroxina . Hormona del crecimiento . Disminución de la formación de osteoblastos . Hormona paratiroidea	FACTORES NUTRICIONALES
2.- Disminución de la resorción ósea . Disminución de la formación de osteoclastos . Calcitonina . Glucocorticoides . Estrógenos . Aumento de la formación de osteoblastos . Calcitonina . Estrógenos . Hormona del crecimiento	1.- Necesarios para una adecuada mineralización . Vitamina D . Calcio y fósforo . Magnesio y Zinc 2.- Inhibidores de la mineralización . Magnesio . Aluminio

La formación del denominado "núcleo de cristalización" constituye una etapa crucial en la mineralización; una etapa en la que intervienen decisivamente los iones calcio y fosfato del líquido extracelular. Las concentraciones de estos iones en tal fluido superan en mucho su producto de solubilidad, y esa sobresaturación en contacto con la matriz osteoide facilitará la formación del núcleo de cristalización.

La mineralización de la matriz es un proceso continuo que se inicia en la vida fetal y se prolonga durante la infancia y adolescencia estimándose que es en la edad adulta, sobre los 20-25 años, cuando este proceso se estabiliza. Se estima que el contenido esquelético de calcio pasa de 30 gr. en el recién nacido a 1.200 gr. en el adulto y el fósforo de 17 gr. a 700 gr. respectivamente (32,33).

El remodelamiento óseo es un proceso dependiente de la acción concertada de:

- Osteoclastos (responsables de la reabsorción) que secretan dos tipos de sustancias:
 - 1) Enzimas proteolíticas, probablemente liberadas por los lisosomas de los osteoclastos,
 - y 2) Varios ácidos, incluyen el cítrico y el láctico. Las enzimas probablemente digieran o disuelvan la matriz orgánica del hueso; los ácidos provocan la solución de las sales óseas. Asimismo, fragmentos completos de sales óseas y colágena son literalmente englobados (fagocitados) por las "vellosidades" y digeridos después por los osteoclastos.

- Osteoblastos (formadores de hueso), que se produce durante toda la vida del individuo y permite la sustitución continua del hueso viejo por nuevo. El remodelamiento se inicia con la activación de los osteoclastos, se sigue de la reabsorción y, una vez finalizada ésta, los osteoblastos invaden el área reabsorbida e inician la formación de hueso nuevo. Esta secuencia constituye la base del concepto de "acoplamiento" en el remodelamiento óseo, según el cual existe una coordinación tanto espacial como temporal entre la reabsorción y la formación de hueso.

Estos procesos de formación y remodelamiento óseo estarán influidos o controlados por (34) (figura 3):

- Factores mecánicos
- Hormonas calciotrópicas (parathormona, calciferoles, calcitonina)
- Hormonas sistémicas (hormona del crecimiento, glucocorticoides, hormonas tiroideas, insulina, hormonas sexuales)
- Factores locales (PGE_2 , factores de crecimiento óseo, factor activador de los osteoclastos)
- Factores de crecimiento (factor de crecimiento epidérmico, factor de crecimiento de los fibroblastos, factor de crecimiento derivado de las plaquetas, somatomedina)
- Iones (calcio, fosfato)

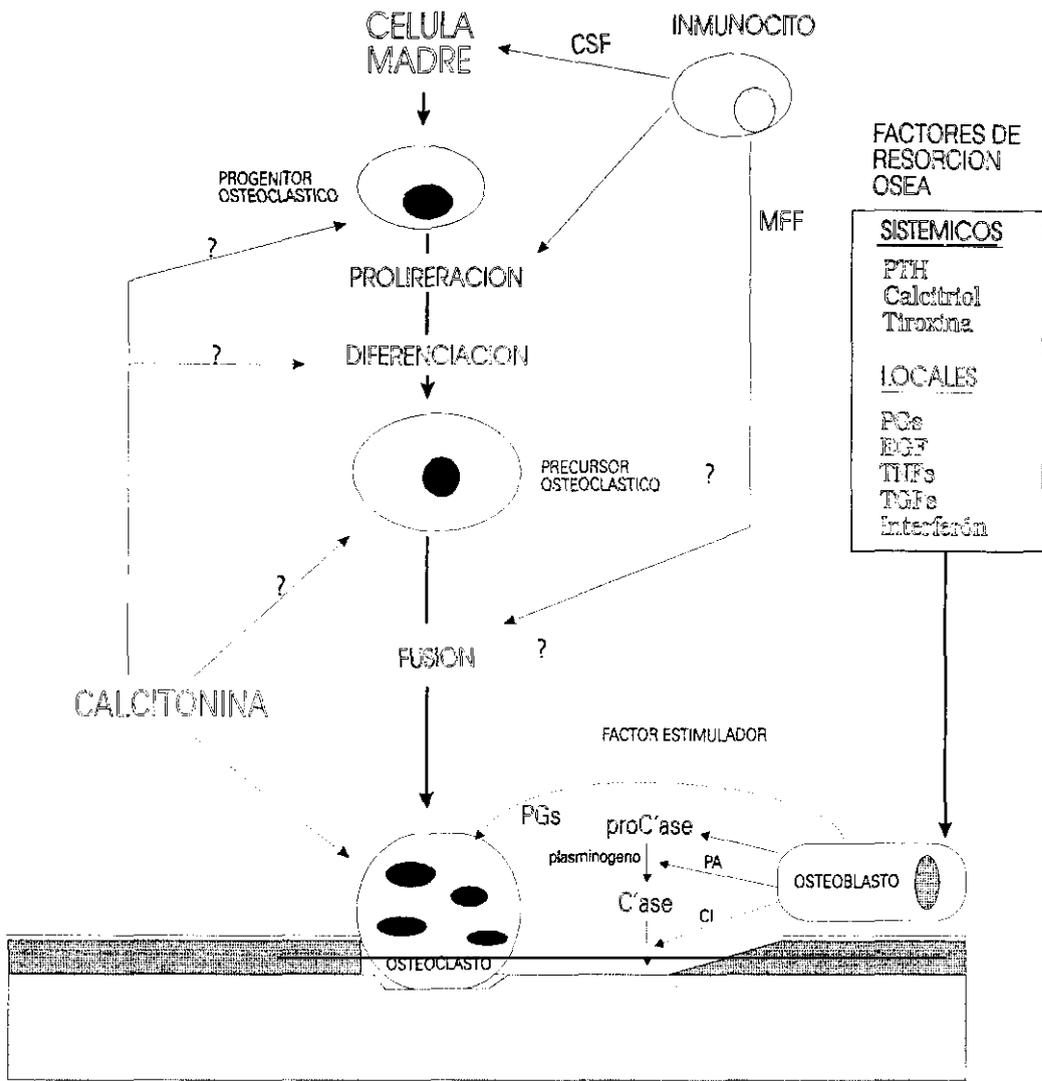


FIGURA 3: Factores humorales y locales reguladores de la resorción ósea. Los factores estimuladores se representan en trazo continuo y los inhibidores en trazo discontinuo. C'ase: collagenasa; ProC'ase: procollagenasa; CI: inhibidor de la collagenasa; PA: activador del plasminógeno; OB: osteoblasto; PG: prostaglandina; EGF: factor de crecimiento epidérmico; TGFs: factores de transformación del crecimiento; TNF: factor de necrosis tumoral ; MFF: factor de fusión de macrófagos; DIF: factor inductor de la diferenciación; CSF: factor estimulador de colonias.

4.- MARCADORES BIOQUIMICOS DEL TURNOVER OSEO

4.1 PARATHORMONA

4.1.1 BIOSINTESIS Y ESTRUCTURA

La Parathormona (PTH) se origina en las paratiroides, que son glándulas que filogenéticamente aparecen en los anfibios y embriológicamente derivan del ectodermo de la tercera y cuarta bolsas braquiales (35). Poseen forma redondeada u ovalada, con un diámetro generalmente inferior a 8 mm., un espesor de aproximadamente 2 mm. y unos 5 mm. de anchura. El peso de cada glándula es raro que supere los 50 mg.

Histológicamente se distinguen en las glándulas paratiroides dos tipos de células: principales y oxífila, pero los niños carecen de células oxífilas. Las células principales producen la hormona paratiroidea; la función de las células oxífilas no es segura, pero se cree que son células principales viejas que todavía secretan hormona.

Su descubrimiento se debe al bioquímico canadiense J.B. Collip en 1925 (36), en un trabajo sobre la extracción de las paratiroides del perro de una sustancia reguladora de los niveles plasmáticos de calcio y capaz de controlar la tetania por hipocalcemia. La purificación de la PTH sería comunicada por Aurbach en 1959 (37,38), y se debe a Habener la comunicación de su biosíntesis en 1978 (39,40).

En los ribosomas de las células principales activas se sintetiza la pre-proPTH, una cadena polipeptídica de 115 aminoácidos de secuencia conocida (Tabla II). Esa molécula es transportada a lo largo de las membranas del retículo endoplásmico de dichas células, y en ese transporte sufre la escisión de un fragmento de 25 aminoácidos en su

extremo aminoterminal, dando lugar a la pro-PTH, la cual por proteólisis es convertida en PTH y empaquetada en gránulos secretorios y liberada a la circulación (40)(figura 4).

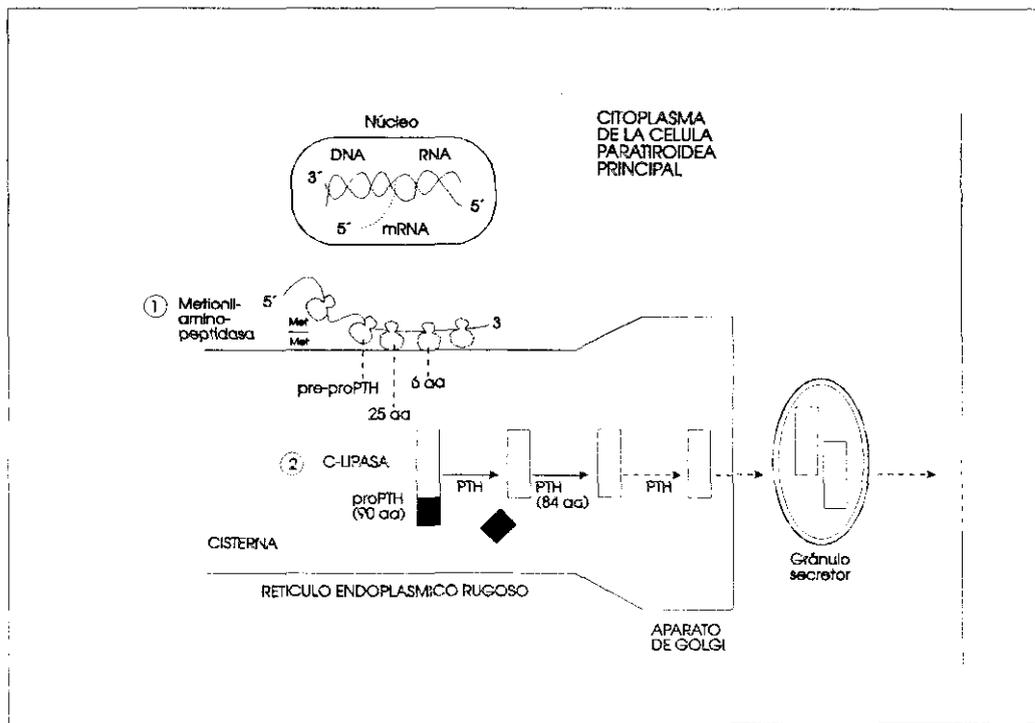


Figura 4: Biosíntesis de la PTH

Una vez segregada, la PTH circulante será degradada a péptidos inactivos, pudiendo también hallarse en plasma mínimas cantidades de pro-PTH y fragmentos amino y carboxiterminales de la hormona (41,42).

TABLA II				
SECUENCIA DE AMINOACIDOS DE LA PARATHORMONA HUMANA Y SUS PRECURSORES				
1	Prepro-PTH			20
H ₂ N-Met-Ile-Pro-Ala-Lys-Asp-Met-Ala-Lys-Val-Met-Ile-Val-Met-Leu-Ala-Ile-Cys-Phe-Leu-Thr-				
25	pro-PTH		1	PTH 5
Lys-Ser-Asp-Gly-- Lys-Ser-Val-Lys-Lys-Arg-- Ser-Val-Ser-Glu-Ile-Gln-Asp-Val-His-Asn-Leu-				
15	20		25	30
Gly-Lys-His-Leu-Asn-Ser-Met-Glu-Arg-Val-Glu-Trp-Leu-Arg-Lys-Lys-Leu-Gln-Asp-Val-His-Asn-				
35	40	45	50	55
Phe-Val-Ala-Leu-Gly-Ala-Pro-Leu-Ala-Pro-Arg-Asp-Ala-Gly-Ser-Gln-Arg-Pro-Arg-Lys-Lys-Glu-				
	60	65	70	75
Asp-Asn-Val-Leu-Val-Glu-Ser-His-Glu-Lys-Ser-Leu-Gly-Glu-Ala-Asp-Lys-Ala-Asp-Val-Asn-Val-				
80	84			
Leu-Thr-Lys-Ala-Lys-Ser-Gln-COOH				

4.1.2 REGULACION Y FORMAS CIRCULANTES DE LA PARATHORMONA

El calcio es el principal regulador de secreción de Parathormona. Descensos en la calcemia, y en especial de su fracción iónica, deparan una elevación significativa en los niveles circulantes de PTH, y viceversa. Aunque se sabe que el calcio regula la liberación de PTH al facilitar la fusión de gránulos secretores en la membrana de células paratiroides, no se conoce el mecanismo íntimo por el que interviene en su síntesis y secreción.

Además de la hormona de 84 Aa que constituye cuantitativa y biológicamente el principal producto de las paratiroides, en plasma pueden hallarse pequeñas cantidades relativas de sus precursores y de fragmentos amino- y carboxiterminales de la PTH. Estos fragmentos, bien segregados por las propias paratiroides, o bien fruto de la escisión enzimática de la hormona carecerían de actividad biológica significativa, pero interfieren en los radioinmunoensayos que pretenden cuantificar los niveles de PTH.

Así, enzimas renales y/o hepáticas con actividad catepsínica, romperían la molécula de PTH entre los Aa 33-34, 36-37, dando lugar a fragmentos 1-33, 34-84, 1-36 y 37-84, capaces de combinarse con anticuerpos dirigidos frente al extremo amino o carboxiterminal de la hormona. El papel fisiológico que pueda tener el fragmento 34/37-84 (PTH-MM -media molécula-) no está aún bien precisado, pero según los trabajos de Rosenblatt parece ser que este tramo de la PTH sirve para prolongar la vida media de la hormona en plasma, siendo un buen marcador para cuantificar la PTH (42) (figura 5).

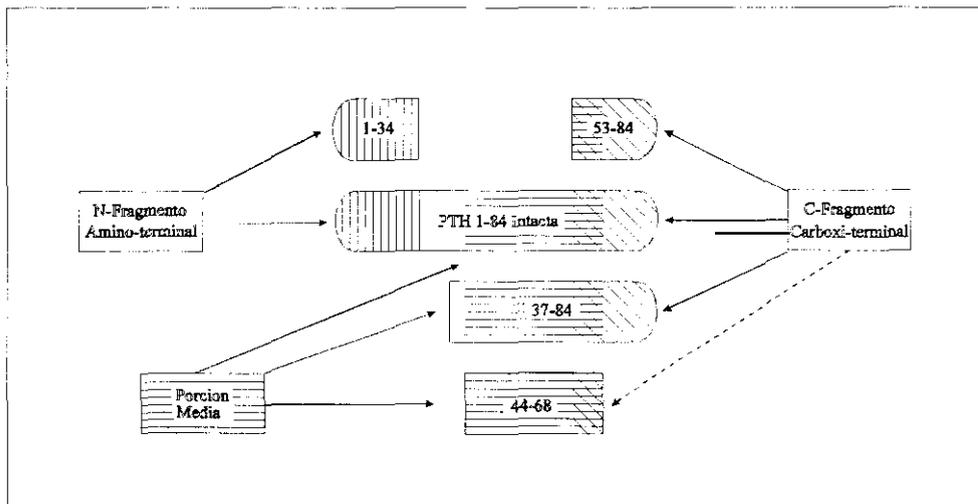


FIGURA 5: Representación esquemática de los diferentes lugares reconocidos por los distintos anticuerpos anti-PTH

También se conocen otras sustancias que influyen en la secreción de PTH (43):

- Estimulando: epinefrina, dopamina, catecolaminas, PG-E₂
- Inhibiendo: PG-F₂alfa, 1-25-(OH)₂-D₃ (44)

4.1.3 FUNCIONES DE LA PARATHORMONA

La PTH realiza en el tejido óseo 2 acciones aparentemente antagónicas, como son, por un lado estimular la reabsorción ósea y, por otro, favorecer la formación de nuevo hueso. En cuanto al efecto "osteolítico", se lleva a cabo en 2 fases en gran medida coincidentes:

- En una primera, incrementan la movilización o salida de calcio desde aquellas zonas del hueso que están en equilibrio dinámico continuo con el fluido extracelular.
- En otra fase, la PTH incrementa el número de núcleos en los osteoclastos y estimula la síntesis de RNA y enzimas lisosómicas (fosfatas alcalina), índice todo ello de una actividad osteoclástica aumentada, inhibiendo además la actividad de los osteoblastos y la producción de colágeno. A través de todo ello la PTH estimula la reabsorción ósea y favorece la movilización del calcio óseo.

Pero fisiológicamente, la PTH no es sólo una hormona destructora del hueso, ya que numerosos trabajos han demostrado que a las bajas dosis fisiológicas posee también una acción anabolizante o formadora de hueso tanto trabecular como cortical, muy probablemente mediada por factores locales como el factor de crecimiento óseo (45).

Durante la gestación, se demuestra hiperparatiroidismo fisiológico en la madre, especialmente durante el tercer trimestre (46) para restaurar la concentración sérica de calcio en la madre consecuente al transporte de calcio al feto, aunque hay autores que han demostrado niveles normales de PTH (47,48) o en algunos casos, sólo pequeñas elevaciones (49), pero lo que si está demostrado es que dicha PTH no cruza la placenta existiendo autonomía materno-fetal de la función paratiroidea(29,50,51), y sin embargo resulta paradójica la incapacidad del feto para frenar sus altas concentraciones de PTH intraútero, a pesar de la hipercalcemia que preside las últimas fases del embarazo. Esto se ha intentado solventar con una teoría, en la que se habla de secreción de PTH no supresible, en la que otros factores, además del calcio, afectarían la liberación de la hormona (52), o quizás se deba a que el calcio en el feto opere a distintos umbrales que en la vida extrauterina, como posteriormente comentaremos, requiriendo más concentración de calcio para la supresión que en el recién nacido (53).

Recientemente, se han descubierto una serie de péptidos relacionados con la PTH (PrPTH), que tienen similitudes estructurales y funcionales, aunque sus acciones no son totalmente conocidas. Se codifican por un gen localizado en el brazo corto del cromosoma 12, en posición homóloga a la del gen que codifica la PTH en el cromosoma 11, que puede sintetizar 3 tipos de moléculas de 139,141 y 173 aminoácidos.

Existe una fuerte homología en los primeros 34 aminoácidos del extremo NH₂-de la PTH y de los PrPTH, lo que hace que tengan efectos similares y que interaccionen con los mismos receptores. Estos PrPTH parecen ser la PTH fetal, que se sintetizan en queratinocitos y paratiroides, y actúan sobre la placenta facilitando el transporte de calcio y magnesio al feto.

Las glándulas paratiroides del feto secretan PrPTH a una concentración plasmática de calcio un 30% superior a la del adulto; presumiblemente, el feto tiene un dintel más alto que el adulto para la inhibición por el calcio, y así, los PrPTH se inhiben con concentraciones de calcio superiores que la PTH. Por todo ello, el feto va a tener niveles séricos de calcio superiores al adulto, posiblemente porque necesite mayor cantidad de calcio para la formación rápida de hueso. No se conoce con exactitud el momento en el

que deja de sintetizarse los péptidos y comienza a sintetizarse PTH; tal vez ocurra cerca del parto. Tampoco se conocen los factores humorales o neuronales que actúan en el cromosoma 12 para dejar de sintetizar PrPTH, y en el cromosoma 11 para comenzar a sintetizar PTH.

En el recién nacido, los niveles de PTH suelen ser generalmente inferiores a los del adulto, pero los niveles séricos medidos de PTH-MM suelen ser más altos que en adultos por la medición de la PTH fetal (PrPTH). Con el descenso de la calcemia al nacer el recién nacido es capaz de aumentar los valores de PTH, presumiblemente reflejando el cese del aporte de calcio transplacentario (54). La habilidad de las paratiroides del neonato para responder a la hipocalcemia refleja la adaptación a la vida extrauterina.

En los prematuros se ha descrito una menor y más tardía respuesta de la PTH a la hipocalcemia neonatal (54,55). No obstante, con independencia de la edad gestacional y los niveles de calcio, las glándulas paratiroides del recién nacido pueden responder con niveles altos de PTH ante una situación de hipoxia, aún durante los primeros días de vida (52), aunque no todos los trabajos presentados a este respecto opinan de igual forma (56).

4.2 OSTEOCALCINA

4.2.1 SINTESIS Y ESTRUCTURA

A partir del descubrimiento de la osteocalcina (BGP, bone Gla protein) en 1975 y 1976 (57,58) y una vez realizada su caracterización química y estructural, los esfuerzos de los investigadores se han centrado en el estudio del posible papel fisiológico de la misma.

Esta proteína está localizada fundamentalmente en la matriz ósea extracelular, donde es una de las proteínas no colágenas más abundantes y es sintetizada por los osteoblastos (58,59,60). Su principal característica estructural, la presencia de 3 ligandos bidentados de ácido gamma-carboxiglutámico (Gla), que le confieren la más importante de sus propiedades: la capacidad de unión a la hidroxapatita del hueso (61). El Gla procedente de la gamma-carboxilación post-traducciona, vitamina K dependiente, de los residuos de ácido glutámico (Glu) de la BGP (61).

En las células óseas humanas la BGP se sintetiza como un precursor al que se puede denominar pro-osteocalcina, de mayor peso molecular. Este precursor necesita una secuencia guía para liberar a la BGP. Algunos autores señalan que el metabolito activo de la vitamina D, la 1-25-(OH)₂D₃, podría estar implicado en la liberación de la BGP a partir de su precursor (62); aunque no está claro en que punto de la ruta biosintética (63) (figura 6)

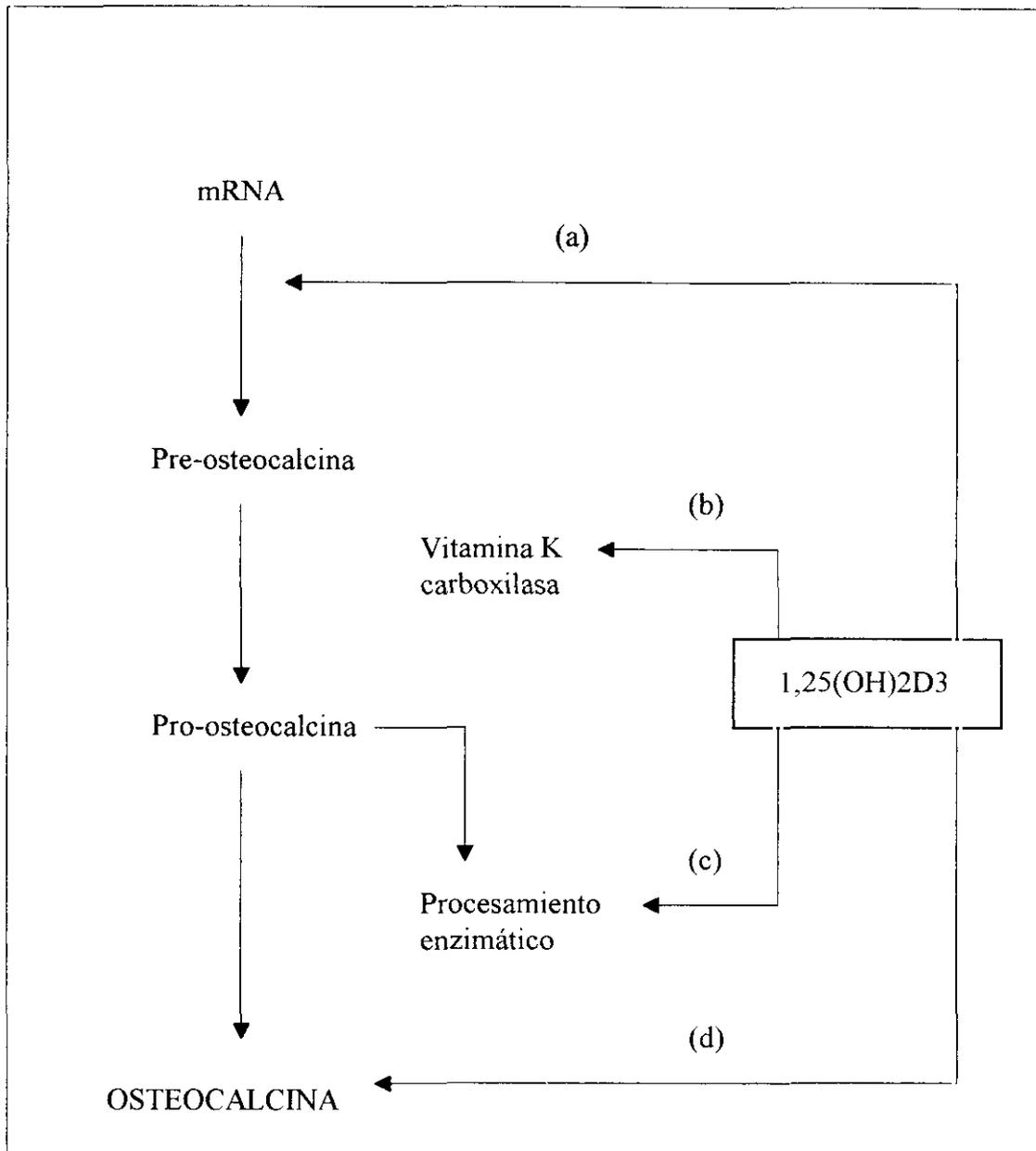


FIGURA 6: Posibles acciones de la 1,25(OH)₂D₃ sobre la estimulación de la síntesis de osteocalcina. Este metabolito puede actuar en una o varias etapas de la ruta biosintética de la osteocalcina: (a) por inducción del mRNA; (b) por inducción de la actividad de la enzima vitamina K carboxilasa, lo cual promueve la síntesis de Gla y por tanto de osteocalcina fisiológicamente activa; (c) por acelerar la conversión del precursor o precursores en osteocalcina, o bien (d) directamente incrementando el calcio que se une a los residuos de Gla.

La BGP se encuentra mayoritariamente en el hueso, concretamente en la matriz ósea extracelular, pero también aparece, aunque en muy pequeñas concentraciones, en el

plasma sanguíneo (64). La BGP presente en suero es idéntica a la del hueso. En principio se pensó que esta BGP podría proceder de la resorción ósea. Sin embargo, trabajos en ratas tratadas con warfarina, que inhibe la vitamina K, parecen demostrar que la BGP procede de la proteína recién sintetizada y es vertida directamente a la circulación (65).

Se sabe con seguridad que la BGP se sintetiza en los osteoblastos tras estudios realizados tanto en cultivos de osteoblastos como en células clonales de osteosarcoma de fenotipo osteoblástico (66). Un hecho importante es que la BGP aparece en los tejidos calcificados una vez que la fase mineral inicial se ha transformado en hidroxiapatita, ya que no es capaz de unirse al fosfato cálcico amorfo (61). La placenta puede producir BGP durante la gestación, comprobándose que la producción de proteínas que contienen ácido gamma-carboxiglutámico, dependiente de la vitamina K, se efectúa en ella (67). Sin embargo, todavía no se sabe si la proteína carboxilada producida por la placenta es idéntica a la BGP. En el periodo fetal y en la fase de crecimiento, los niveles elevados de BGP, fruto de la formación ósea predominante y de un turnover elevado, pueden ejercer a nivel hístico, en un hueso aún no formado, un efecto inhibitorio sobre la mineralización excesiva para permitir un crecimiento óseo normal.

4.2.2 FUNCIONES DE LA OSTEOCALCINA

Entre las posibles funciones de la BGP, se pueden reseñar:

- Es un potente inhibidor de la cristalización de la hidroxiapatita, posiblemente a través de la unión de la BGP con el núcleo inicial del cristal (68).
- Señalaría la pérdida de mineral a los tejidos circundantes, pues la BGP se encuentra unida exclusivamente a la fase mineral, de tal modo que la desmineralización de una región produciría una alta concentración local de BGP (58).
- Se le atribuye a la BGP un posible papel hormonal, debido a ciertas características de su estructura (69).

- Actividad quimiotáctica para los monocitos y macrófagos (70,71), por este motivo podría ser responsable de atraer células a la superficies endoteliales durante el remodelamiento óseo.

La formación y la resorción ósea son los dos hechos básicos implicados en el metabolismo del hueso. Aparte de su posible papel en el metabolismo mineral, la BGP está siendo utilizada como marcador del remodelamiento óseo (64,72).

La fosfatasa alcalina y la hidroxiprolina se han utilizado universalmente como marcadores bioquímicos de formación y resorción respectivamente, aunque ambas poseen importantes limitaciones, pues no son muy específicos. La excreción urinaria de hidroxiprolina refleja tanto el turnover de las proteínas exclusivamente esqueléticas como extraesqueléticas (73) y la fosfatasa alcalina deriva también de otras fuentes extra-óseas (74).

Dado que la BGP es sintetizada tanto por el hueso en cultivo como por células clonales de osteosarcoma con fenotipo osteoblástico, es posible que su determinación refleje directamente la actividad metabólica de las células osteoblásticas y pueda ser utilizada como marcador específico de formación ósea, con grandes ventajas sobre la fosfatasa alcalina que no procede exclusivamente del hueso, sin embargo, la respuesta de la BGP a la 1-25-(OH)₂D₃ y a los glucocorticoides (75), y esencialmente su rápida respuesta a la calcitonina (76) sugieren que la BGP refleja resorción ósea. La administración de 1-25(OH)₂D₃ que aumenta la resorción ósea, aumenta la síntesis de BGP; y la administración de calcitonina y esteroides, inhibidores de la resorción ósea, disminuye los niveles de BGP.

De cualquier manera es interesante distinguir entre la BGP sérica, posible marcador del metabolismo óseo y BGP de la matriz ósea. A partir de estudios realizados (77), parece claro que la BGP de la matriz ósea es necesaria para que se produzca la resorción del mismo. Sin embargo, los niveles de BGPs quizá no reflejan en todos los casos los niveles de BGP del hueso, y en ese sentido la proporcionalidad BGPs/formación y/o resorción ósea, es difícil de establecer en términos funcionales (78).

4.3 CALCITONINA

4.3.1 BIOSINTESIS Y ESTRUCTURA

En 1961 Coop (79) descubrió la calcitonina perfundiendo glándulas paratiroides en perros con sangre hipercalcémica, confirmando una disminución del calcio plasmático mucho más rápida que la resultante de la paratiroidectomía total. De este modo se demostró que las glándulas paratiroides secretaban una sustancia hormonal con propiedades hipocalcemiantes, que parecía estar involucrada en la regulación de la calcemia en sangre.

Por estudios inmunoclinicos se ha demostrado que el primer lugar de origen de la calcitonina son las células C del tiroides o células parafoliculares (80). Embriológicamente proceden de la cresta neural que se desarrollan en el feto humano a las 14 semanas de gestación (81), y se localizan en las especies superiores en el tiroides (por lo cual también se le denomina tirocalcitonina -TCT-) y en las inferiores en el cuerpo último braquial.

La calcitonina se secreta y sintetiza como un precursor de gran peso molecular, que posteriormente se convierte en un polipeptido de cadena simple de 32 aminoácidos con un peso molecular de 3600 dalton aproximadamente (82) (figura 7).

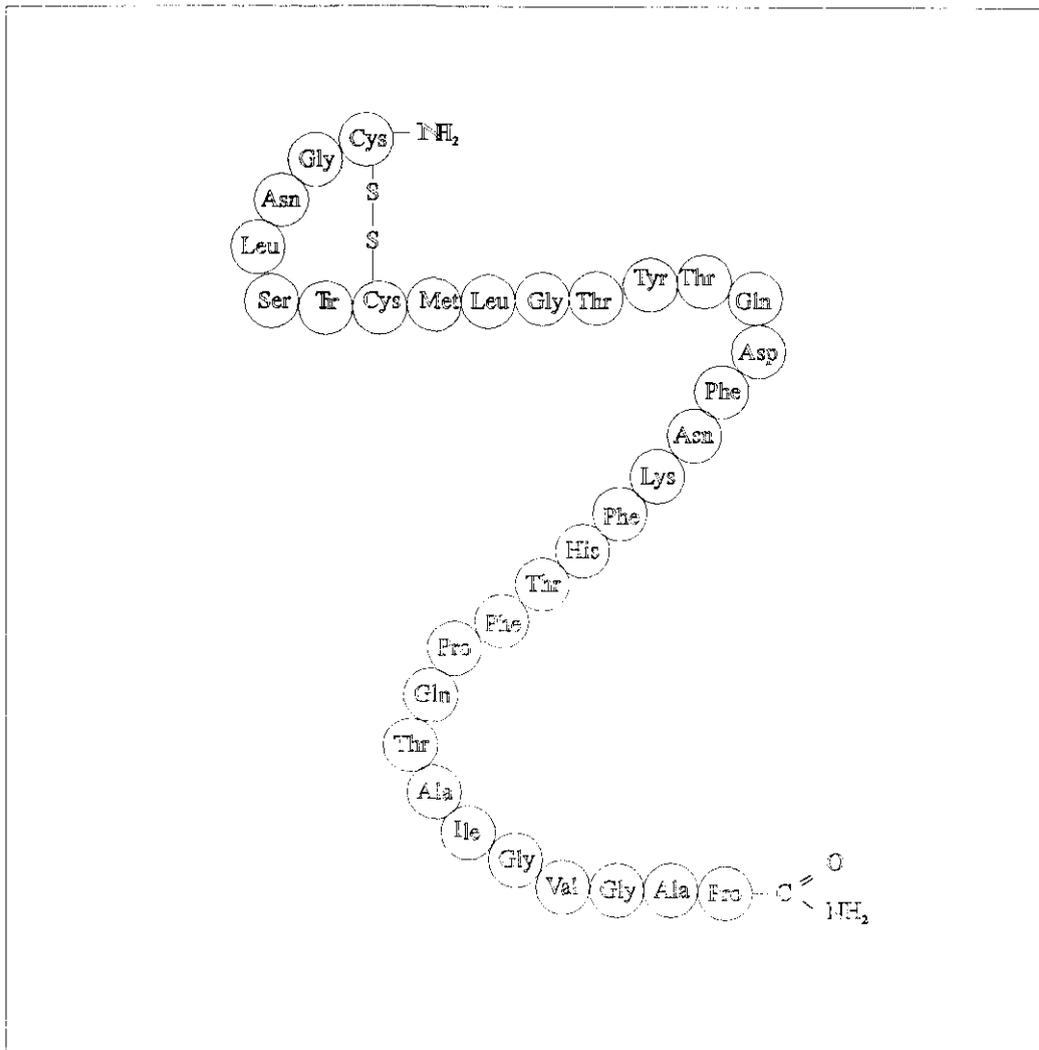


FIGURA 7: Estructura de la calcitonina humana y secuencia de los principales aminoácidos

En 1970 Pott determinó la calcitonina humana, viendo que entre las características más importantes de su estructura estaban la existencia de un puente disulfuro entre los residuos de cisteína en la posición 1-7 y un grupo pronilamida en la posición C-terminal, por lo que la integridad estructural de la hormona es esencial para conseguir su integridad biológica, que se pierde por completo al eliminarse el grupo amido en posición carboxiterminal o al eliminarse algún aminoácido de la cadena (83).

La secreción y biosíntesis de calcitonina en seres humanos y animales está regulada por la concentración de calcio plasmático, ya que la hipercalcemia estimula su secreción, mientras que la hipocalcemia la inhibe (84). La calcitonina es liberada de las células parafoliculares del tiroides en respuesta a pequeñas elevaciones del calcio ionizado del plasma (80), y no atraviesa la placenta, por lo cual la concentración de calcitonina detectada en el recién nacido es producida por sus células C tiroideas y estimulada por la calcemia (85). Actúan sobre el riñón y hueso para restablecer el nivel de este catión a un punto de ajuste por debajo de lo normal, lo que a su vez inhibe la secreción de la hormona.

4.3.2 FUNCIONES DE LA CALCITONINA

La calcitonina es un antagonista fisiológico de la PTH y, por tanto, probablemente actúen juntas para conservar la concentración normal de calcio ionizado en el líquido extracelular (86). Ambas actúan a nivel óseo y provocan estimulación del cAMP, pero actuando sobre receptores distintos (87). El estímulo de la secreción de la calcitonina es la hipercalcemia (figura 8) y su acción principal se ejerce sobre el hueso, donde inhibe la resorción ósea espontánea o la inducida por la PTH o la vitamina D, produciendo hipocalcemia (88).

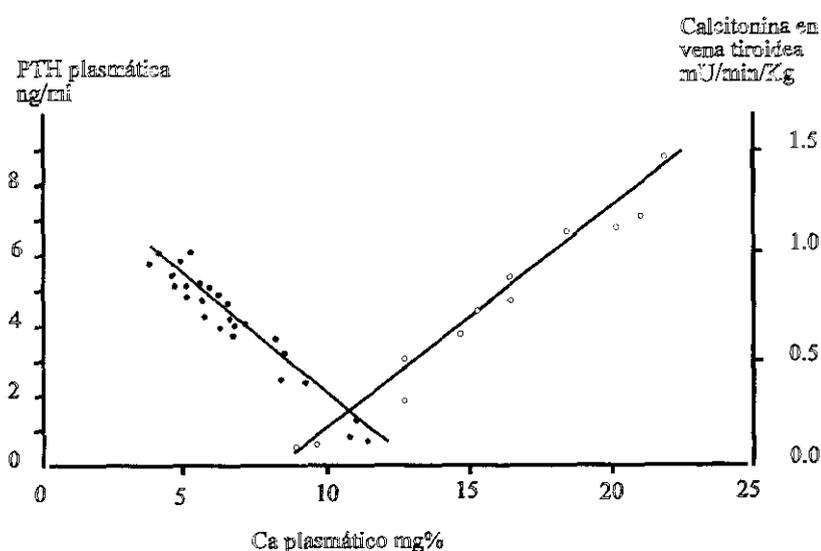


FIGURA 8: Efecto del calcio plasmático sobre los niveles de PTH y el índice de secreción de CT

La concentración sérica de calcitonina es alta al nacimiento (89,90,91,92), posiblemente consecuente al aporte importante de calcio que sufre el feto intraútero. El descenso progresivo de calcitonina que acontece en el recién nacido en la primera semana de vida ocurre en niños a término (93,94), recién nacidos de bajo peso al nacimiento (94,95), hijos de madre diabética (93) y niños con asfixia perinatal (96), pero en recién nacidos que reciben aporte endovenoso de calcio, el descenso de niveles séricos de calcitonina no es tan acentuado (95,97), y es mínimo cuando se administran suplementos orales de calcio (98). Recientemente se ha detectado calcitonina en la leche humana, aparentemente en altas concentraciones y su importancia en el transporte de calcio en la leche y su posible acción intestinal no está clara (99,100).

Tras el periodo neonatal, la concentración sérica de calcitonina permanece relativamente estable y más alta que las concentraciones del adulto. Sin embargo, el papel exacto de la calcitonina en la mineralización ósea durante la infancia no está aún dilucidado.

La acción hipocalcemiante de la calcitonina representa la suma de los efectos biológicos de la hormona a nivel del riñón, hueso y tracto gastrointestinal:

- Hueso: es el principal efecto de la calcitonina, donde inhibe el fenómeno de resorción ósea y consecuentemente el proceso de remodelado en general (101). El proceso de inhibición de la resorción ósea se debe a la acción inhibidora sobre la actividad del osteoclasto, efecto significativo en niños, especialmente en recién nacidos que tienen una intensa actividad osteoclástica, y a la inhibición de células osteoprogenitoras para prevenir formación de nuevos osteoclastos. La acción estimuladora sobre los osteoblastos es discutida.

Como consecuencia de la menor actividad osteoclástica y disminución de la resorción ósea, disminuye la excreción urinaria de calcio, magnesio e hidroxiprolina (102). En los procesos que cursan con elevación de recambio óseo, la hidroxiprolina se excreta en cantidades superiores a lo normal, por lo que su determinación constituye el parámetro bioquímico para valorar los procesos destructivos del hueso (103).

- Riñón: en el hombre la calcitonina disminuye la reabsorción tubular de calcio y fósforo (104), así como la de sodio, potasio y magnesio (105).

- Tracto Gastrointestinal: la calcitonina no parece tener papel alguno, al menos de forma directa, sobre la absorción de calcio a nivel gastrointestinal. Algunos investigadores mantienen que la acción de la calcitonina no está mediada a través del tracto gastrointestinal.

4.4 HIDROXIPROLINA

4.4.1 BIOSINTESIS Y ESTRUCTURA

La hidroxiprolina se encuentra casi exclusivamente en colágeno y representa alrededor de un 13% del contenido aminoacídico de la molécula (106). La hidroxiprolina deriva de la prolina por una hidroxilación postranslacional que se conduce en el interior de la cadena péptica. Como la hidroxiprolina libre liberada durante la degradación del colágeno no puede ser reutilizada en la síntesis del colágeno, la mayor parte de la hidroxiprolina endógena presente en líquidos biológicos deriva de la degradación de diversas formas del colágeno (107).

4.4.2 FUNCIONES DE LA HIDROXIPROLINA

La hidroxiprolina se encuentra en líquidos biológicos en distintas formas. Alrededor del 90% de la hidroxiprolina liberada por degradación del colágeno en los tejidos, y especialmente durante la resorción ósea, se degrada el Aa libre que circula en el plasma, es filtrada y casi totalmente resorbida por el riñón. Eventualmente se oxida totalmente en el hígado y se degrada a dióxido de carbono y urea (108).

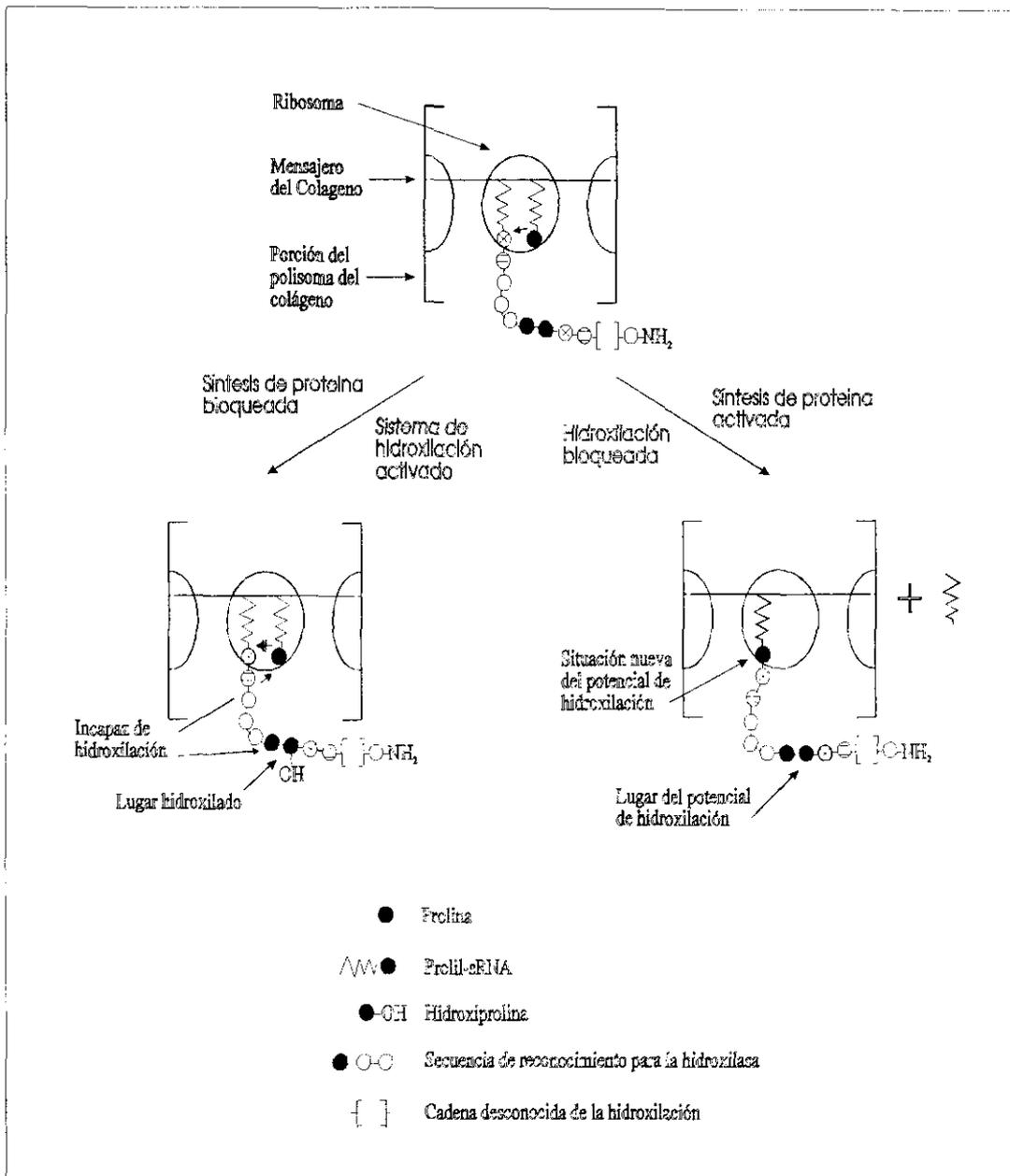


FIGURA 9: Esquema de la hidroxilación de la prolina durante la biosíntesis del colágeno

Alrededor del 10% de la hidroxiprolina liberada por la degradación del colágeno circula en forma fijada en péptidos y estos péptidos que contienen hidroxiprolina son

filtrados y eliminados con la orina, sin ningún otro proceso metabólico. Así pues, la hidroxiprolina total urinaria representa sólo alrededor del 10% del catabolismo colágeno total (figura 9). Como la mitad del colágeno humano se encuentra en el hueso, donde el turnover es probablemente más rápido que en los tejidos blandos, la excreción de hidroxiprolina en orina es considerada como un marcador de resorción ósea (109). En realidad, la relación entre la hidroxiprolina urinaria y el metabolismo del colágeno es más compleja.

La hidroxiprolina se encuentra libre, hidroxiprolina conteniendo pequeños péptidos que son dializables y representan más del 90% de la excreción urinaria total de este Aa, y una pequeña cantidad de polipéptido no dializables conteniendo hidroxiprolina (106). Al parecer estos polipéptidos derivan principalmente de la degradación de colágenos recién sintetizados y por consiguiente parece ser que la hidroxiprolina urinaria no dializable es un marcador de formación ósea, pero no de resorción (110 a 118).

Los estudios se llevaron a cabo en su mayor parte midiendo la hidroxiprolina total en orina, reflejando principalmente por tanto la resorción ósea. La hidroxiprolina puede ser medida asimismo en plasma, donde circula bajo diferentes formas (fijada en proteínas, fijada en péptidos y libre). Debido a los bajos niveles, la medición de hidroxiprolina en plasma no es un índice muy sensible del metabolismo óseo y se limita a los pacientes urémicos (119).

La excreción de hidroxiprolina total con la orina sigue un ritmo circadiano, con una excreción pico durante la noche, sugiriendo una mayor resorción nocturna de hueso (120). Como la hidroxiprolina urinaria depende de las dimensiones corporales y del índice de filtración glomerular, se ha procedido a una correlación indirecta utilizando el peso corporal, el área de superficie corporal, la excreción de creatinina durante 24 h., el índice de filtración glomerular y recientemente la masa ósea valorada según el contenido en mineral del hueso del antebrazo (106, 121 a 124).

En contraste con la excreción urinaria de hidroxiprolina, ya que tanto la función glomerular como la masa ósea disminuye con el envejecimiento, la proporción

hidroxiprolina:creatinina ha resultado ser superior en individuos de edad que en adultos jóvenes y es mayor en mujeres de edad que en hombres ancianos (125,126), viéndose que en diversas patologías es mejor marcador que la hidroxiprolina urinaria, para valorar la resorción ósea existente debida a enfermedades óseas (Paget) o a metástasis por tumores (especialmente en cancer de mama y de próstata) (127 a 131).

4.5 FOSFATASA ALCALINA SERICA

Durante los últimos 50 años se ha procedido a un estudio a fondo de la fosfatasa alcalina. Su determinación se aplicó por primera vez para investigar osteopatías metabólicas después de que Robinson hubiese demostrado la asociación entre un aumento de la actividad fosfatasa alcalina en suero y una mayor actividad osteoblástica en el hueso (132), y sugiere la posibilidad de que la fosfatasa alcalina permitiese la mineralización ósea al liberar un fosfato inorgánico, que contribuye al precipitado de complejos calcio-fósforo en la matriz osteoide (133). Los osteoblastos producen gran cantidad de fosfatasa alcalina cuando el proceso de desarrollo de la matriz ósea es activo. Se cree que esta fosfatasa aumenta la concentración local de fosfato inorgánico o activa las fibras colágenas para que puedan contribuir a la precipitación de sales de calcio. Parte de la fosfatasa alcalina pasa a la sangre, por lo cual la concentración sanguínea de esta isoenzima es generalmente un buen marcador de la formación de hueso. La fosfatasa alcalina estimula la mineralización al hidrolizar el pirofosfato inorgánico, un potente inhibidor de la formación y disolución del cristal hidroxiapatita (134), en el interior de las vesículas de la matriz calcificantes extracelulares. Por último, una forma infrecuente y grave del raquitismo, la hipofosfatasa, ha sugerido insistentemente un papel a desempeñar por la fosfatasa alcalina en la mineralización del hueso. Ciertamente, estos pacientes se caracterizan por una actividad fosfatasa alcalina muy baja en el suero y en el hueso, lo que puede explicar el déficit de mineralización (135). A pesar de estas evidencias sigue sin conocerse el papel exacto que la fosfatasa alcalina juega en la mineralización, y su mecanismo de acción.

Recientemente se ha podido demostrar que 3 distintos genes codifican un isoenzima fosfatasa alcalina placentario, otro intestinal y otro hueso-hígado-riñón (136). La fosfatasa alcalina del hígado, hueso y riñón, difiere por su movilidad electroforética y resistencia por la inactivación por el calor (137,138). Se cree, que estas diferencias reflejan una modificación postranslacional de cadena lateral hidrocarbonadas de estos enzimas glucoproteicos, pero se cree, por lo general, que estos tres isoenzimas tisulares "secundarios" están codificados por un locus único, con variaciones histo-específicas introducidas durante su exposición en distintos tipos de células (139).

Se cree que la fosfatasa alcalina sérica refleja el crecimiento y maduración del esqueleto en niños sanos. Los niveles enzimáticos son unas 3 veces mayor que el límite superior de niveles de adultos normales, durante la infancia y primera adolescencia y descienden luego a niveles propios del adulto durante el final de la 2ª década de la vida. Estudios con isoenzimas han indicado, que la fosfatasa alcalina ósea es la principal fracción de la actividad total en suero de niños. La fosfatasa sérica está aumentada en osteopatías metabólicas caracterizadas por un mayor turnover óseo, tales como el hiperparatiroidismo 1º, hipertiroidismo y enfermedad de Paget del hueso. No obstante, niveles elevados de actividad fosfatasa alcalina en suero pueden reflejar asimismo un defecto de mineralización, como el que se encuentra en la mayor parte de tipos de raquitismo y osteomalacia (140). Estas alteraciones son paralelas al crecimiento óseo valorado por el aumento de la talla (141) y parecen reflejar alteraciones simultáneas del contenido mineral del hueso (142).

OBJETIVOS

II) OBJETIVOS

El propósito de este trabajo es valorar los marcadores séricos y urinarios de formación y resorción ósea (osteocalcina [BGP], parathormona [PTH], calcitonina [CT], fosfatasas alcalinas [FA] e hidroxiprolina urinaria [HPU]), y del estado metabólico fosfocálcico (Ca y P), durante los primeros días de vida postnatal, y relacionar dichos marcadores con el peso y la edad gestacional de los niños, estudiando las posibles diferencias que puedan existir entre las primeras horas y los seis u ocho días de vida.

Igualmente se estudiarán las modificaciones que puedan ocurrir en el metabolismo óseo y fosfocálcico en los recién nacidos con hipoxia perinatal, con respecto a los nacidos en condiciones normales.

Finalmente se valorarán las diferencias en el equilibrio fosfocálcico de los recién nacidos que requirieron administración de calcio intravenoso, respecto a los que recibieron como único aporte de calcio el contenido en la alimentación (*fórmula y/o materna*).

MATERIAL Y METODOS

III) MATERIAL Y METODOS

1.- CASUISTICA Y METODOLOGIA CLINICA

Para realizar este trabajo se hizo un seguimiento clínico y bioquímico, a un grupo de niños desde el nacimiento a la semana de vida. Los niños fueron seleccionados al azar entre hijos de madre sana, con embarazo controlado y parto entre la 27 y 42 semana de gestación.

Informados adecuadamente los padres y obteniendo su consentimiento para llevar a cabo el estudio, se eligieron 121 recién nacidos a los que se les hicieron 2 determinaciones, una al primer o segundo día de vida (1.42 ± 0.6 días de vida) y otra a la semana de vida (7.68 ± 1.02 días de vida). Se subdividieron de dos formas diferentes; atendiendo al peso al nacimiento y a su edad gestacional. Igual o menor de 1500 gr., de 1501 a 2000 gr., de 2001 a 2500 gr. y mayores de 2500 gr.; menores de 37 sem. y 37 o más semanas de gestación. Los niños que presentaron hipoxia perinatal se agruparon igualmente y se compararon con recién nacidos que no presentaron dicha patología para valorar la repercusión de dicha hipoxia en el metabolismo óseo.

Se analizan los niveles séricos de calcio y fósforo inorgánico, como marcadores bioquímicos del metabolismo fosfocálcico, y se determinan las concentraciones séricas de osteocalcina (BGP), parathormona (PTH), calcitonina (CT), fosfatasa alcalina (FA) e hidroxiprolina urinaria. Igualmente se determina el calcio urinario, fósforo urinario y creatinina en orina.

Las características generales de edad gestacional, peso y talla de los niños estudiados, se reflejan en la tabla III y IV.

TABLA III						
CARACTERISTICAS GENERALES DE LOS RECIEN NACIDOS CLASIFICADOS SEGUN PESO						
	1ª DETERMINACION				2ª DETERMINACION	
	n	E.G.	PESO	TALLA	n	PESO
≤ 1500 gr	16	29.7±0.6	1168±50	38.5±0.6	18	1182±55
1501-2000 gr	19	34.3±0.6	1810±28	42.7±0.6	17	1738±35
2001-2500 gr	34	35.9±0.3	2231±26	46.3±0.5	35	2263±22
> 2500 gr	36	38.6±0.2	3315±66	50.5±0.2	35	3296±69

n: número de casos

E.G.: edad gestacional

TABLA IV						
CARACTERISTICAS GENERALES DE LOS RECIEN NACIDOS CLASIFICADOS SEGUN EDAD GESTACIONAL Y SUFRIMIENTO FETAL* (MEDIA ± EEM)						
	1ª DETERMINACION				2ª DETERMINACION	
	n	E.G.	PESO	TALLA	n	PESO
< 37 sem	63	33±0.3	1928±75	43.8±0.5	63	1904±76
≥ 37 sem	42	39.1±0.1	2987±117	48.5±0.6	42	2976±116
S.F.A.*	16	38.7±0.3	3265±102	51.3±0.3	16	3195±101

n: número de casos

E.G.: edad gestacional

2.- METODO

2.1 PRINCIPIO DE LA TECNICA

2.1.1 OSTEOCALCINA, PARATHORMONA Y CALCITONINA

- FUNDAMENTO GENERAL DEL RADIOINMUNOANALISIS (RIA)

Las determinaciones de BGP, PTH y CT se han realizado por RIA. Este método se basa en la competición existente entre el antígeno "frío", presente en el suero, y el Ag* "marcado" añadido, como trazador por los lugares libres del anticuerpo (Ac) (Figura 10).

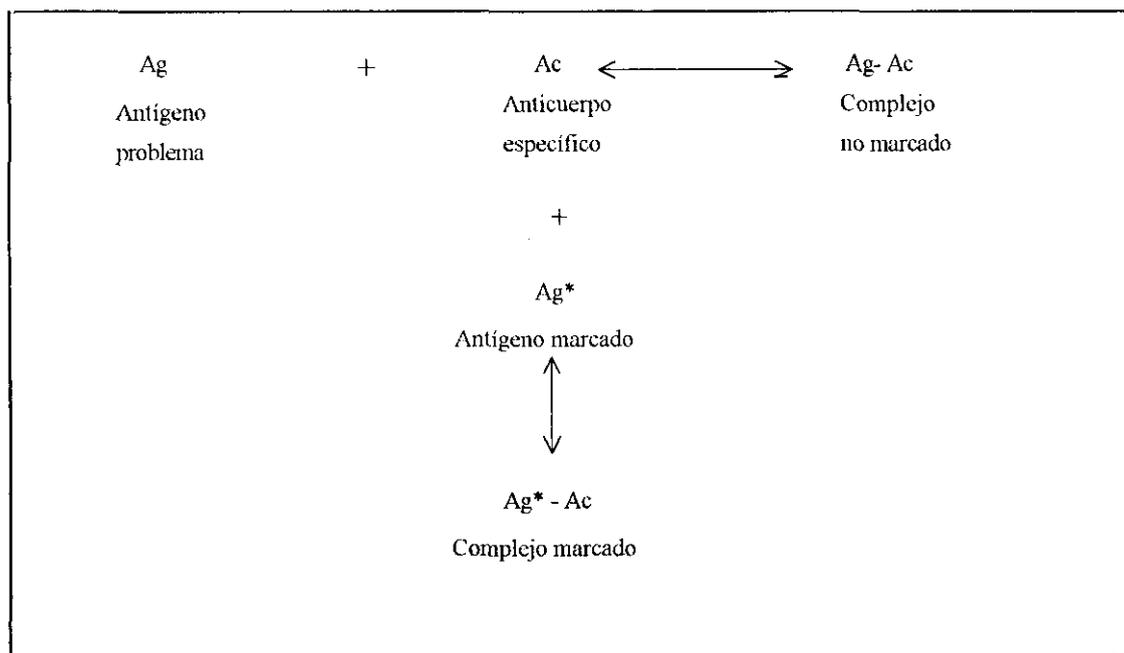


FIGURA 10: Esquema general del radioinmunoanálisis

Una vez alcanzado el equilibrio se procede a la separación de las fracciones libres (Ag^* , Ag , Ac) de las ligadas ($Ag-Ac$, Ag^*-Ac). Cuanto mayor sea la cantidad de $Ag-Ac$ presente menor será la de Ag^*-Ac . Una vez estimada esta concentración por el conteo adecuado podemos obtener la correspondiente al Ag problema (143,144).

Existen modificaciones al método inicial, tales como utilización de un segundo Ac para facilitar la separación de las fracciones libres y ligadas (145) o la sustitución del isótopo radioactivo utilizado para marcar el Ag por una enzima, técnicas ELISA (146).

La cuantificación del Ag en las muestras desconocidas se lleva a cabo por interpolación en la curva obtenida utilizando unos sueros de concentraciones conocidas o sueros estandar.

Los antígenos marcados se preparan por adición de $I_{125}Na$ al antígeno normal o frío en presencia de un oxidante, que permite la producción de I_{125} , separándose la hormona dañada en el proceso por cromatografía.

- RIA DE OSTEOCALCINA

Su medición se realiza por RIA según la técnica del doble anticuerpo, en la que se utiliza como estándar y trazador BGP bovina y, como anticuerpo anti-BGP bovina de conejo. El anticuerpo anti-BGP bovino reconoce a la BGP humana de modo totalmente homólogo a la bovina (147,148). Los principios generales ya se han mencionado anteriormente, basados en que la unión de un Ag marcado radiactivamente a una cantidad fija de Ac específico, se inhibe parcialmente por la adición de Ag no marcado, siendo el grado de esta inhibición función de la concentración del material añadido sin marcar.

- RIA DE PARATHORMONA

Al valor de la medición de la PTH en el diagnóstico de las alteraciones del calcio se le ha dado quizás más importancia en teoría de la que tiene en práctica a causa de las dificultades de su determinación. Los problemas giran alrededor del Ac usado en el ensayo, si está dirigido directamente contra la molécula entera de PTH o parte de ella, concretamente el fragmento N-terminal (activo) y frente al C-terminal (inactivo), de vida más larga que el anterior. Además, muchas de las técnicas empleadas no tienen la suficiente sensibilidad para determinar los niveles bajos de PTH en el plasma.

Esta serie de inconvenientes en la determinación de la PTH, se han resuelto en parte con la aparición de una nueva técnica que determina media molécula de PTH (PTH-MM). Esta mide específicamente el fragmento de PTH humana que contiene la secuencia de aminoácidos comprendida entre 44 y 68, basándose en un nuevo anticuerpo sensible a dicha región (149). El marcaje se realiza con I_{125} en una hormona humana sintética h-PTH (Tyr 43) 44-68, mediante una técnica de RIA ya descrita anteriormente.

- RIA DE CALCITONINA

La calcitonina es parte de una forma precursora más grande, la Pro-CT, un péptido cuyo peso molecular es 15000 daltons (150,151). El proceso postraducción del precursor de la CT debe eliminar dos secuencias de péptidos trípticos aminoterminal y una carboxiterminal para dar el monómero de CT. En la circulación se encuentran formas inmunológicamente heterogéneas de la CT (152,153).

El RIA es el ensayo clínico más usado para la determinación de CT. Para aumentar la sensibilidad, la mayoría de los ensayos son sistemas secuenciales, y las incubaciones duran entre 4 horas a 4 días antes del agregado del trazador, seguidas luego por otra incubación de 1 a 3 días (154,155).

2.1.2 CALCIO TOTAL

Se determinó mediante un método fluorescente sensible para el microanálisis de suero y orina (156), basado en que el complejo formado por la calceína, un derivado de la fluoresceína y el calcio, es fluorescente. Para ello se ha utilizado el analizador de calcio Corning modelo 940, que mide la fluorescencia emitida por moléculas excitadas mediante una fuente de luz, con una longitud de onda que va desde 300 a 500 nm. Un primer filtro o prisma (capaz de transformar la luz blanca o policromática en luz monocromática) aísla la longitud de onda de la energía excitadora y un segundo filtro selecciona la longitud para medir la energía producida. La intensidad de luz fluorescente que encuentra el detector es proporcional a la concentración del compuesto fluorescente en la cubeta

2.1.3 FOSFORO INORGANICO

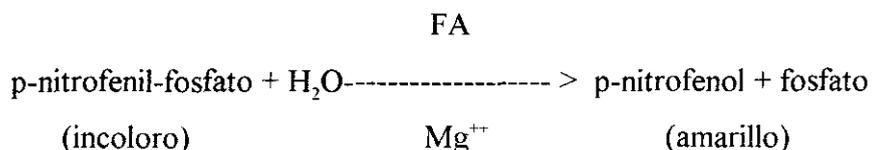
El fósforo elemental no existe en cantidad apreciable en el organismo, por lo cual los métodos para su análisis están dirigidos a la determinación de los 2 aniones fosfato que presentan una rápida interconversión dependiente del pH. Los aniones monovalente (PO_4H_2^-) y divalente (PO_4H^-) se encuentran en el suero en concentraciones aproximadamente iguales en acidosis, en alcalosis en una relación 1:9, en relación 1:4 a pH 7,4 y en relación 100:1 en la orina a pH 4,5; lo cual impide decir con certeza cual es el peso molecular del fosfato inorgánico (157).

Su determinación se realizó mediante un método colorimétrico. Los fosfatos inorgánicos de un filtrado ácido, obtenido por desproteínización con ácido tricloroacético de un suero o plasma (158), se unen al molibdato de amonio para formar fosfomolibdato de amonio que, con una solución de vanadato amónico como reductor, produce un complejo, cuya intensidad de color es proporcional a la cantidad de fosfato en el suero.

2.1.4 FOSFATASA ALCALINA

Este enzima actua en medio alcalino sobre una gran variedad de ésteres de ácido fosfórico en procesos fisiológicos y no fisiológicos. El sustrato natural de estos enzimas no se ha identificado todavía. Distintos autores han empleado diversos productos sintéticos en los métodos de determinación de la fosfatasa alcalina. En este aspecto, es importante la elección del tampón, así usando alcoholes amínicos se refuerza la actividad enzimática. Bower y McComb (159) introdujeron el uso de la 2-amino-2-metil-1- propanol (AMP) y del p-nitrofenilfosfato.

Con estas premisas se utiliza el método cinético-colorimétrico basado en la formación de p-nitrofenilfosfato, catalizado por las fosfatasas alcalinas en medio alcalino (160). El fundamento de la reacción es el siguiente:



El p-nitrofenol formado absorbe gran cantidad de luz a 405 nm. Este incremento de absorción es directamente proporcional a la actividad de la fosfatasa alcalina contenida en la muestra.

2.1.5 HIDROXIPROLINA URINARIA

La hidroxiprolina, que se presenta en la orina principalmente en una forma unida a péptidos (161), se fija en una resina intercambiadora de cationes fuertemente ácida. Lavando la resina cargada con agua destilada se eliminan distintos componentes que perturban la determinación. A continuación, se hidrolizan los péptidos en la resina, elevando la temperatura durante unas 16 h. a aproximadamente 100 °C. Después de la elución de la hidroxiprolina liberada de la resina, se oxida el aminoácido hasta obtener un derivado pirrólico, que se colorea con el reactivo de Ehrlich y se determina cuantitativamente por espectrofotometría. Se consigue una precisión óptima aplicando un patrón interno de hidroxiprolina para la determinación de cada una de las muestras (162).

2.1.6 CREATININA

El método de Jaffé para el análisis de la creatinina descrito en 1886 (163), tiene la distinción de ser el método de química clínica más antiguo aún en uso. Este ensayo está basado en la reacción de la creatinina con una solución alcalina de picrato sódico formando un complejo rojo. La absorbancia del complejo rojo se mide a 510 y 520 nm aunque su máximo se encuentra en los 485 nm.



La reacción se realiza a temperatura constante inferior a 30 °C; a temperaturas más elevadas, la glucosa, ácido úrico y ácido ascórbico pueden reducir el picrato a picramato cuyo máximo de absorbancia se encuentra a 482 nm, lo que provoca una sobrevaloración de la creatinina. La constancia de la temperatura es importante ya que la absorbancia del ión picrato y del producto de reacción creatinina-picrato aumenta al

elevar la temperatura. La reacción no se realiza a pH regulado pero se lleva a cabo en presencia de NaOH 0,1 mol/l

2.2 RECOGIDA DE MUESTRAS

2.2.1 OBTENCION

Las determinaciones se han realizado en suero y orina en los grupos de estudio anteriormente mencionados. Todos los recién nacidos ingresados en la unidad neonatal se mantuvieron en homeostasis metabólica.

2.2.2 CONDICIONES DE EXTRACCION Y TRANSPORTE

Las muestras de suero obtenidas en el periodo neonatal lo fueron por punción venosa, siempre en el contexto de otras determinaciones analíticas y, en su caso, se recabó autorización paterna. La extracción de las muestras se efectuó sin tener en cuenta horario alguno y se llevó a cabo lo más lentamente posible para evitar el riesgo de hemólisis, capaz de introducir un factor de error en la cuantificación de los parámetros del estudio. La muestra se trasladaba inmediatamente al laboratorio de análisis bioquímico, donde se dejaba en reposo para que se produjera la retracción del coágulo. Después se sometía a centrifugación durante 5 minutos a 3000 rpm y se separaba el suero sobrenadante.

La muestra de orina se recogió durante un periodo de 24 h. por paciente con bolsas. La recogida se inicia después de la primera cantidad excretada por la mañana hasta la primera orina de la mañana del día siguiente inclusive.

2.2.3 CONDICIONES DE CONSERVACIÓN

Para las técnicas que pueden realizarse dentro de las 24 horas siguientes a la extracción (calcio, fosfato y fosfatasa alcalina), el suero se conservó en nevera entre 0 y 5 °C; para el resto de las determinaciones en las que es necesario reunir un número mayor de muestras (determinaciones hormonales: osteocalcina, parathormona, tirocalcitonina), se separaron alícuotas de suero y se sometieron a congelación a -20 °C.

Hasta el momento en el que se realiza la determinación, la muestra de orina se conserva en un lugar fresco. Las muestras que se guardaron durante 2 o más días se congelaron a -20 °C hasta su determinación.

2.3 MATERIAL DE LABORATORIO

2.3.1 BGP, PTH, CT

- MATERIAL PARA EL EQUIPO DE RIA

- a) Pipetas de 50, 200 y 1000 microlitros
- b) Agitador de tubos
- c) Congelador a -30 °C
- d) Cámara fría
- e) Centrífuga con capacidad para 120 tubos
- f) Contador multigamma LKB-1260
- g) Material fungible

- RIA DE BGP

Se utilizaron equipos comerciales suministrados por Inmuno Nuclear Corporation (Cat. n° 1500. Stillwater, Minnesot. 55082 USA), que consta de los siguientes reactivos:

- a) Osteocalcina estándar (BGP bovina) a distintas concentraciones para la constitución de una curva estándar.
- b) Suero de conejo anti-osteocalcina (Anti-BGP bobina de conejo)
- c) Osteocalcina marcada con I_{125}
- d) Precipitante del complejo
- e) Suero control de osteocalcina

- RIA DE PTH

Se ha utilizado un equipo comercial suministrado por Incstar Corporation PTH-MM (Cat. n° 26100. Stillwater, Minnesot. USA), compuesto de:

- a) Estándares para la curva estándar
- b) Suero anti PTH-MM
- c) Hormona marcada con I_{125}
- d) Complejo precipitante
- e) Sueros control a dos niveles

- RIA DE CT

Se ha utilizado un equipo comercial suministrado por Inctar Corporation Calcitonin II I_{125} RIA (Cat. n° 25065. Stillwater, Minnesot. USA), compuesto de:

- a) Estándar 0 de calcitonina (BSA-borato con mertiolato)
- b) Estándar de calcitonina humana sintética, 1,000 pg/ml

- c) Suero anti-calcitonina
- d) Calcitonina marcada con I_{125}
- e) Complejo precipitante
- f) Suero control a 2 niveles

2.3.2 CALCIO TOTAL

Se ha utilizado el Calcium Analyzer-940 de la firma Corning y se han empleado los reactivos siguientes:

- a) Solución de hidróxido de potasio (KOH) 1 M
- b) Etilenglicol bis (B-eter aminotil) N,N' ácido tetraacético. Solución EGTA 0,04 % peso/volumen
- c) Solución estándar de calcio 10,0 mg % (5 mEq/l)
- d) Indicador de calceína en polvo para su reconstitución

2.3.3 FOSFORO INORGANICO

Se analiza mediante el aparato Spectronic 70, Bausch Lomb. Lector automático-KLB ultrala system. Suministró los equipos para la cuantificación de fósforo la firma Boehringer Mannheim Gmb. Se han utilizado los siguientes reactivos:

- a) Vanadato (vanadato amónico: 21 mmol / l; ácido nítrico 0,28 N)
- b) Molibdato (molibdato amónico: 40 mmol / l ; ácido sulfúrico 2,5 N)
- c) Estándar (fósforo: 0,5 mg / 100 ml ; ácido tricloroacético: 1,2 mol / l)

2.3.4 FOSFATASA ALCALINA

Se utilizó un espectrofotómetro del tipo Enzyme Activity Analyzer System TR, Beckman. Los reactivos utilizados fueron:

- a) p-nitrofenil fosfato: 1465 gr
- b) Tampón AMP, 625 M, pH= 10,25, hasta 250 ml
- c) $MgCl_2$ 1 M: 0,050 ml

2.3.5 HIDROXIPROLINA URINARIA

Se utilizó un equipo de Hypronosticon suministrado por Organon Tecnica que consta de:

- a) Vial con tabletas de resina
- b) Ampollas de fractura con solución tipo (solución de hidroxiprolina)
- c) Vial de solución tampón
- d) Vial con oxidante (tosilcloramida sódica. Sin.: cloramida T)
- e) Vial con reactivo de color (p-dimetilaminobenzaldehido)
- f) Tapones desechables
- g) Tubos para la hidrólisis con doble calibración
- h) Tapones de rosca para los tubos anteriores

2.3.6 CREATININA

Se analiza mediante un Beckman Creatinine Analyzer. Suministró los reactivos para cuantificación de creatinina la firma Boehringer Mannheim Gmb. Se han utilizado los siguientes reactivos:

- a) Acido pícrico, 20 mmol/l en ácido tungstico
- b) Hidróxido sódico-borato ($NaOH$ 600 mmol/l; $B_2O_4K_4$ 50 mmol/l)
- c) Patrón de creatinina, 2 mg/100 ml

2.4 TECNICA DE CUANTIFICACION

- OSTEOCALCINA

Se han descrito numerosos procedimientos de RIA, que se distinguen principalmente por la técnica utilizada para separar el complejo-hormona de la hormona libre (164) en el método utilizado se emplea un suero de cabra precipitante del complejo formado por un suero de conejo antiosteocalcina bovina. El proceso de la determinación queda esquematizado en la tabla V.

TABLA V												
Procedimiento de RIA para osteocalcina												
Act. NSB total		Estándares de osteocalcina valores nominales								Control y muestras desconocidas		
		0	0,78	1,56	3,12	6,25	12,5	25	1	2		
Tubo número	1-2	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18	19-20	21-22	
Standar 0	50		50									
Standares				50	50	50	50	50	50			
Control y muestras desconocidas											50	50
Anticuerpo de osteocalcina de conejo antibovino			----- 200 -----									
Suero de osteocalcina I ₁₂₅			----- 200 -----									
			Agitar suavemente. Incubar durante 16-24 h a 2-8 °C									
Complejo precipitante de cabra anti-conejo			----- 500 -----									
			Agitar suavemente. Incubar durante 2 h a 2-8 °C Centrifugar 760 x g durante 20 min. Decantar el sobrenadante. Contar cada tubo durante 60 segundos o más.									
Todos los volúmenes se dan en microlitros												

- PARATHORMONA

El procedimiento de laboratorio queda sintetizado en la tabla VI

TABLA VI												
Procedimiento de RIA para PTH-MM												
Act. NSB total			Estándares, pmol/l hPTH (Tyr 43) 44-68								Control y muestras desconocidas	
			0	A	B	C	D	E	F	1	2	
Tubo número	1-2	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18	19-20	21-22	
Standar 0		100	100									
Standares			100	100	100	100	100	100	100			
Control y muestras desconocidas										100	100	
Anticuerpo anti-PTH de pollo			----- 200 ----- Agitar suavemente. Incubar durante 15 min a 20-25 °C									
¹²⁵ I PTH-MM			----- 200 ----- Agitar suavemente. Incubar durante 2 h a 20-25 °C									
Complejo precipitante de cabra anti-pollo			----- 500 ----- Agitar suavemente. Incubar durante 15 min a 20-25 °C Centrifugar 760 x g durante 20 min. Decantar el sobrenadante. Contar cada tubo durante 60 segundos o más.									
Todos los volúmenes se dan en microlitros												

- CALCITONINA

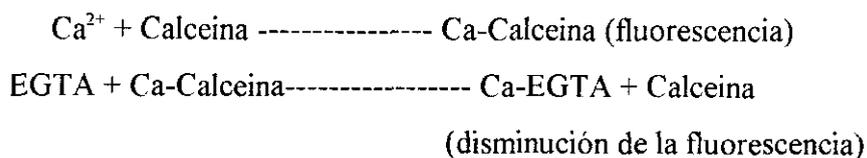
El procedimiento de laboratorio queda sintetizado en la tabla VII:

TABLA VII												
Procedimiento de RIA para CALCITONINA												
Act. NSB total			Estándares, pg/ml								Control y muestras desconocidas	
			0	A	B	C	D	E	F	1	2	
Tubo número	1-2	3-4	5-6	7-8	9-10	11-12	13-14	15-16	17-18	19-20	21-22	
Standar 0	100		100									
Standares				100	100	100	100	100	100			
Control y muestras desconocidas											100	100
Anticuerpo anti-calcitonina			----- 200 ----- Agitar suavemente. Incubar durante 16-24 h. a 2-8 °C									
Calcitonina I ₁₂₅			----- 100 ----- Agitar suavemente. Incubar durante 16-24 h. a 2-8 °C									
Complejo precipitante			----- 500 ----- Agitar suavemente. Incubar durante 15 min a 20-25 °C Centrifugar 760 x g durante 20 min. Decantar el sobrenadante. Contar cada tubo durante 60 segundos o más.									

Todos los volúmenes se dan en microlitros

- CALCIO

En esencia, consiste en tener en la cubeta una fluorescencia determinada. La dosificación se detiene cuando todo el calcio de la muestra añadida (100 ml) se ha unido al EGTA y se ha alcanzado el nivel predeterminado de fluorescencia. El fluorímetro define automáticamente el final del proceso, y un calculador electrónico muestra la concentración de calcio (El tratamiento de la orina para la realización de la determinación consistió en dilución a 1:40).



Para comprobar el funcionamiento del equipo, la técnica y los reactivos se emplean simultáneamente un suero control y una solución estándar de calcio, junto con las muestras desconocidas, en paralelo durante todo el ciclo.

- FOSFORO INORGANICO

Brevemente, consiste en una desproteinización con ácido tricloroacético, seguida de la reacción con molibdato y vanadato de amonio, medida a una longitud de onda de 405 nm. Para la determinación de fósforo urinario, todo el procedimiento es igual, pero inicialmente, la orina precisa de un tratamiento que consiste en la dilución a 1:10 con agua destilada. El proceso es el siguiente:

- a) Desproteinización: en un tubo de centrifuga, se pipetea 0.2 ml de muestra y 2 ml de ácido tricloroacético (1.2 mol / l); se agita y se deja en reposo durante 10 min a 20-25 °C, para centrifugar después durante 10 min y extraer el sobrenadante
- b) Reacción con molibdato y vanadato de amonio: se pipetea en tubo de ensayo de la forma siguiente:

Reactivos	Blanco	Prueba	Patrón
Sobrenadante de la desproteinización	-----	1,0 ml	-----
Muestra patrón	-----	-----	1,0 ml
Acido tricloroacético	1,0 ml	-----	-----
Vanadato amónico	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml
Molibdato amónico	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml

Después de realizar la mezcla, se esperan 10 min y se colorimetra el problema a 405 nm, frente al blanco. Paralelamente se colorimetra un patrón de concentración conocida (5 mg / dl) frente al blanco. Para el cálculo se aplica la fórmula siguiente:

SUERO:

$$[\text{fóforo}] = \frac{\text{DO del problema}}{\text{DO del blanco}} \times \text{Concentración del patrón}$$

DO: densidad óptica

ORINA:

$$\frac{\text{mg/100 ml orina diluida}}{1000} \times \frac{\text{Volumen (ml) de 24 h.}}{100} \times 10 = \text{g / 24 h.}$$

- FOSFATASA ALCALINA

El procedimiento para su determinación es el siguiente:

- a) En un espectrofotómetro de longitud de onda de 405 nm se ajusta la absorción a 0 con una cubeta que contiene agua destilada
- b) En la otra cubeta, limpia y seca, se pone 1 ml de reactivo y se calienta a 37 °C
- c) Se añaden 0.05 ml de muestra en la cubeta, se mezcla vigorosamente y se incuba 1 min exacto; luego se lee y anota la absorción (A1)

d) Se incuba 2 min más y se efectúa una segunda lectura de A2, el cálculo se realiza mediante la fórmula siguiente:

$$\text{Fosfatasas alcalinas (UI/l)} = \frac{*A/\text{min}}{\text{Absortividad}} \times \frac{V_t}{V_s} \times 1000$$

$$*A = A_2 - A_1 / 2$$

Vt= Volumen total: 1,05 ml

Vs= Volumen de la muestra: 0,05 ml

Absortividad= Absorción de una solución milimolar de p-nitrofenol a 405 nm: 18.8

$$\text{Fosfatasas alcalinas (UI/l)} = \frac{*A/\text{min}}{\text{Absortividad}} \times \frac{1,5}{0,05} \times 1000 = *A/\text{min} \times 1117$$

La unidad de actividad se define como la cantidad de enzima necesaria para producir un micromol de p-nitrofenol por minuto en las condiciones antes especificadas.

- HIDROXIPROLINA

Todas las determinaciones se realizan por duplicado (muestras U/S) contra un blanco (muestra B), colocándose en un soporte y realizándose todo el proceso en el mismo orden según se reseña en la tabla VIII

TABLA VIII			
1.- Se marcan los tubos de hidrólisis	B	U	S
2.- Se añade una tableta de resina a cada uno de los tubos	1	1	1
3.- Introducir con una pipeta la muestra de orina, ml	--	0,50	0,50
4.- Introducir con una pipeta la solución tipo, ml	--	--	1,00
5.- Se añade agua destilada a todos los tubos hasta completar 10 ml. Ciérrase con tapones. Agítase enérgicamente la suspensión con la mano. Centrifúgese durante 5 min a unas 1500 x g; decántese el líquido sobrenadante			
6.- Se tapan los tubos con tapones de goma y con tapones de rosca. Se colocan los tubos toda la noche (16 horas) en un baño de calentamiento de 100 °C . Enfríense los tubos a continuación con agua corriente. Destápanse los tubos.			
7.- Añádase a cada uno de los tubos 1 gota de fenolftaleína 1% en etanol y sin dejar de agitar añádase solución de NaOH 2N hasta que el indicador comience a cambiar			
8.- Centrifugar durante 5 min unas 1500 x g; completar con agua destilada hasta 2,5 ml y sed homogeniza la suspensión; se centrifuga durante otros 5 min a 1500 xG.			
9.- Se marcan los tubos de reacción igual que en 1	B	U	S
10.- Con una pipeta se introduce el líquido sobrenadante claro de los tubos de hidrólisis en los tubos de resccción correspondientes, ml.	0,50	0,50	0,50
11.- Se añade a cada uno de los tubos 1 gota de HCL 2N; el color desaparece			
12.- Se introduce isopropanol con una pipeta, ml.	1,0	1,0	1,0
13.- Con una pipeta se introduce la solución del oxidante en tampón, ml.	0,5	0,5	0,5
14.- Después de haber agitado, déjense reposar los tubos por lo menos durante 4 min para la oxidación a temperatura ambiente			
15.- Con una pipeta se introduce la solución del reactivo de color, ml. Se agitan los tubos con la mano, empleando el tapón de goma adecuado.	10,0	10,0	10,0
16.- Se colocan los tubos durante 25 min en un baño de calentamiento de 60 °C. Se enfría a continuación con agua corriente			
17.- Se dejan reposar los tubos durante 30 min a temperatura ambiente. Se mide fotométricamente a 560 nm las U y S con respecto a B		Eu	Es
18.- Se calculan los resultados uno por uno (en mg de hidroxiprolina por litro) y su valor medio (n) (50 = concentración estandar)		$C = \frac{2 \times Eu \times 50}{Es - Eu}$	

Preparación de la solución del oxidante: dada la limitada estabilidad a temperatura ambiente (15 ° - 25 °C) debe prepararse a lo sumo 15 min antes del uso. La cantidad necesaria depende del número de determinaciones por duplicado que deban realizarse (tabla IX).

Preparación de la solución del reactivo de color: dada la estabilidad también limitada del reactivo de color a temperatura ambiente, debe prepararse a lo sumo 2 horas antes del uso. La cantidad depende del número de determinaciones por duplicado que deban realizarse (tabla IX).

Número de muestras de orina	Número de tubos en blanco	Número total de tubos	Oxidante		Reactivo de color		
			Oxidante que debe dosificarse mg	Tampón que debe añadirse ml	Reactivo que debe dosificarse gramos	Acido perclórico que debe añadirse ml	Se completa con isopropanol hasta ml
1	1	5	55	4	4	6	55
7	2	30	330	24	24	36	330
12	2	50	550	40	40	60	550
30	2	122	1375	100	100	150	1375

- CREATININA

Se realiza dilución de la orina a 1:50 con agua destilada. La técnica a seguir consiste en:

a) Pipetear en tubos de centrifuga:

TUBOS	BLANCO	PROBLEMA	PATRON
Ac. pícrico	4,5 ml	4,5 ml	4,5 ml
Agua destilada	0,5 ml	-----	-----
Orina	-----	0,5 ml	-----
Patrón	-----	-----	0,5 ml

b) Mezclar vigorosamente durante 10 min.

c) Centrifugar 10 min. a 2500 rpm

d) Pipetear en tubos de ensayo:

TUBOS	BLANCO	PROBLEMA	PATRON
Sobrenadante	2,5 ml	2,5 ml	2,5 ml
NaOH-Borato	1,0 ml	1,0 ml	1,0 ml

e) Mezclar. Reposar los tubos a temperatura ambiente durante 20 min.

f) Cálculos:

$$\frac{\text{mg / 100 ml orina diluida}}{1000} \times \frac{\text{Volumen (ml) de 24 h.}}{100} \times 50 = \text{g / 24 h.}$$

3.- METODO BIOESTADISTICO

Se cotejan los datos paramétricos de la casuística y los resultados de laboratorio para su tabulación y análisis (165,166), y se aplica el programa estadístico SPSS+, utilizado en un PC486DX2

3.1 TEST APLICADOS

Media, desviación estandar (DE) y error estandar de la media (EEM): test de rechazo de muestras extremas; análisis de la varianza (ANOVA), test t de Student y correlación lineal simple de Pearson. El nivel de significancia admitido fue de $p < 0.05$.

3.2 METODOLOGIA DEL ESTUDIO ESTADISTICO

La primera subdivisión de la población estudiada se realizó en función de la madurez fetal, según la gestación fuese inferior a 37 semanas o igual o superior a 37 semanas, y si presentó hipoxia al nacimiento. Se establecieron los valores medios y el EEM, como base de referencia para posteriores tabulaciones de los valores biológicos objeto de estudio. Igualmente se realiza una segunda subdivisión, en función al peso al nacimiento, según el peso fuera inferior o igual a 1500 gr., de 1501 a 2000 gr., de 2001 a 2500 gr y superior a 2500 gr., con los mismos objetivos.

Mediante un análisis de la varianza (ANOVA), se comparan y se establecen las características diferenciales entre los grupos siguientes: primera determinación frente a segunda, primera determinación frente a S.F.A., segunda determinación frente a S.F.A., recién nacidos de peso igual o inferior a 1500 gr. frente a niños de peso entre 1501-2000 gr. al nacimiento, recién nacidos de peso igual o inferior a 1500 gr. frente a niños de peso entre 2001-2500 gr., recién nacidos de peso igual o inferior a 1500 gr. frente a niños de peso superior a 2500 gr. al nacimiento, recién nacidos de peso entre 1501-2000 gr. frente a niños de peso entre 2001-2500 gr., recién nacidos de peso 1501-2000 gr. frente

a niños de peso superior a 2500 gr. al nacimiento, recién nacidos de peso entre 2001-2500 gr. frente a RN de peso superior a 2500 gr., todos los grupos tanto en primera como en segunda determinación. Y mediante un test de Student para muestras pareadas, se estudian las características diferenciales entre cada una de las subdivisiones comparando la primera con la segunda determinación.

También se analizan y comparan las intercorrelaciones de los factores biológicos estudiados en cada una de las subdivisiones realizadas tanto en primera como en segunda determinación, y se aplica una correlación r de Pearson.

RESULTADOS

IV) RESULTADOS

1.- MARCADORES DEL METABOLISMO OSEO Y FOSFOCALCICO EN PRIMERA Y SEGUNDA DETERMINACION

La tabla X recoge los valores bioquímicos séricos y urinarios (media \pm error estándar de la media) del metabolismo óseo y fosfocálcico en el grupo total de recién nacidos, determinados a los 1.42 ± 0.6 días de vida y a los 7.68 ± 1.02 días postnatales. Asimismo se compara cada uno de los valores resultantes de dichos periodos (estudio longitudinal; test t de muestras pareadas).

Cabe destacar que en la primera determinación las concentraciones de osteocalcina (BGP) son significativamente más bajas que en la segunda determinación, al igual que las de calcio sérico. Las concentraciones de PTH y CT son más elevadas en primera determinación con respecto a la segunda ($p < 0.05$).

TABLA X								
ANALISIS COMPARATIVO DE LOS MARCADORES								
	n	1ª DETERMINACION		2ª DETERMINACION		GL	t	p
		MEDIA	EEM	MEDIA	EEM			
Osteocalcina	121	4,99	0,44	8,44	0,56	120	-4,78	p<0,05
Parathormona	121	78,14	2,98	68,28	2,43	120	2,42	p<0,05
Calcitonina	121	0,36	0,06	0,071	0,009	120	5,23	p<0,05
Calcio sérico	121	9,14	0,11	9,67	0,1	120	-3,36	p<0,05
Fósforo	121	6,32	0,12	6,35	0,11	120	-0,2	NS
Fosfatasa Alcalina	121	440,2	184,4	416,1	182,4	120	-0,89	NS
Calcio urinario	121	3,63	0,51	4,78	0,64	120	-1,4	NS
Fósforo urinario	121	8,03	1,18	13,04	2,59	120	-1,76	NS
Creatinina urinaria	121	19,9	2,07	12,16	0,58	120	3,6	p<0,05
Hidroxiprolina	121	87,51	14,96	76,85	8,35	120	-0,78	NS

* GL: grados de libertad

1.1 CORRELACION DE LOS MARCADORES ESTUDIADOS EN PRIMERA DETERMINACION

En la tabla XI (matriz de intercorrelación) se recopilan los valores de los coeficientes de correlación determinados de los parámetros estudiados.

En este periodo neonatal precoz se puede resaltar la correlación lineal simple significativa directa del calcio sérico con BGP e inversa con PTH, CT e Hidroxiprolina. Igualmente existió correlación simple directa del fósforo inorgánico con fósforo urinario y creatinina.

TABLA XI										
CORRELACION DE VALORES EN PRIMERA DETERMINACION										
Coeficiente de correlacion de Pearson										
	BGP	PTH	CT	Ca	P	FA	CaU	PU	Crtn	HPU
BGP	1,000									
PTH	- 0,110 p=NS	1,000								
CT	- 0,029 p=NS	0,113 p=NS	1,000							
Ca	0,191 p<0,05	- 0,258 p<0,05	- 0,350 p<0,05	1,000						
P	0,065 p=NS	0,024 p=NS	- 0,008 p=NS	0,067 p=NS	1,000					
FA	0,148 P=NS	0,058 P=NS	0,007 P=NS	0,083 P=NS	0,034 P=NS	1,000				
CaU	- 0,001 p=NS	- 0,106 p=NS	- 0,033 p=NS	0,116 p=NS	- 0,089 p=NS	0,113 p=NS	1,000			
PU	- 0,019 p=NS	0,136 p=NS	- 0,021 p=NS	- 0,072 p=NS	0,239 p<0,05	0,073 p=NS	0,110 p=NS	1,000		
Crtn	0,132 p=NS	- 0,093 p=NS	- 0,142 p=NS	0,015 p=NS	0,208 p<0,05	- 0,107 p=NS	0,044 p=NS	0,055 p=NS	1,000	
HPU	- 0,075 p=NS	- 0,166 p=NS	0,084 p=NS	- 0,306 p<0,05	- 0,100 p=NS	- 0,167 p=NS	- 0,039 p=NS	- 0,021 p=NS	0,082 p=NS	1,000

1.2 CORRELACION EN EL PERIODO NEONATAL TARDIO

En la tabla XII (matriz de intercorrelación) se recopilan los valores de los coeficientes de correlación determinados de los parámetros estudiados. Cabe destacar la correlación significativa entre la BGP con la creatinina e hidroxiprolina, al igual que la FA con la PTH y CT. También se puede destacar correlación simple inversa del calcio urinario con PTH y con fósforo inorgánico.

TABLA XII										
MATRIZ DE CORRELACION DE LOS MARCADORES EN SEGUNDA DETERMINACION										
Coeficiente de correlacion de Pearson										
	BGP	PTH	CT	Ca	P	FA	CaU	PU	Crtn	HPU
BGP	1,000									
PTH	- 0,093 p=NS	1,000								
CT	0,099 p=NS	0,125 p=NS	1,000							
Ca	0,044 p=NS	- 0,141 p=NS	0,095 p=NS	1,000						
P	0,064 p=NS	0,066 p=NS	- 0,146 p=NS	0,091 p=NS	1,000					
FA	0,011 p=NS	0,180 p<0,05	0,232 p<0,05	0,112 p=NS	0,016 p=NS	1,000				
CaU	0,010 p=NS	- 0,201 p<0,05	0,069 p=NS	0,141 p=NS	- 0,248 p<0,05	0,064 p=NS	1,000			
PU	- 0,059 p=NS	- 0,033 p=NS	- 0,157 p=NS	0,064 p=NS	- 0,052 p=NS	0,010 p=NS	0,168 p=NS	1,000		
Crtn	- 0,246 p<0,05	- 0,015 p=NS	- 0,006 p=NS	- 0,151 p=NS	- 0,258 p<0,05	- 0,160 p=NS	- 0,053 p=NS	- 0,034 p=NS	1,000	
HPU	0,207 p<0,05	0,069 p=NS	0,058 p=NS	- 0,002 p=NS	0,004 p=NS	- 0,024 p=NS	0,231 p<0,05	- 0,073 p=NS	- 0,041 p=NS	1,000

2.- MARCADORES DEL METABOLISMO OSEO Y FOSFOCALCICO DE LA POBLACION ESTUDIADA SEGUN PESO

2.1 MARCADORES EN RECIEN NACIDOS DE PESO IGUAL O INFERIOR A 1500 gr

La tabla XIII recoge los valores bioquímicos del turnover óseo y metabolismo fosfocálcico en recién nacidos de ≤ 1500 gr. Es destacable el ascenso de BGP, aunque no es estadísticamente significativo, y el menor nivel sérico de PTH y CT en la primera determinación que si es significativo, al igual que también lo es el ascenso de calcio sérico en la segunda determinación con respecto a la primera (test t para muestras pareadas, $p < 0.05$).

	1ª DETERMINACION			2ª DETERMINACION			t	p
	n	MEDIA	EEM	n	MEDIA	EEM		
Osteocalcina	16	4,58	0,84	18	7,19	1,34	- 1,65	NS
Parathormona	16	109,43	10,4	18	78,21	6,46	2,55	$p < 0,05$
Calcitonina	16	0,674	0,219	18	0,124	0,024	2,49	$p < 0,05$
Calcio sérico	16	8,81	0,29	18	10	0,25	- 3,01	$p < 0,05$
Fósforo inorgánico	16	5,89	0,39	18	5,6	0,34	0,56	NS
Fosfatasa Alcalina	16	551,62	44,82	18	583,11	39,28	- 0,53	NS
Calcio urinario	16	3,4	1,14	18	6,84	1,62	- 1,73	NS
Fósforo urinario	16	8,85	2,88	18	17,07	12,76	- 0,63	NS
Creatinina	16	9,72	0,94	18	9,27	0,78	0,36	NS
Hidroxi prolina	16	45,06	11,43	18	63,35	22,54	- 0,72	NS

2.2 MARCADORES EN RECIEN NACIDOS DE PESO COMPRENDIDO ENTRE 1501 Y 2000 gr

La tabla XIV recoge los datos (media \pm EEM) de los marcadores del turnover óseo y metabolismo fosfocálcico en recién nacidos de peso comprendido entre 1501-2000 gr., comparando las determinaciones realizadas.

TABLA XIV								
MARCADORES EN RECIEN NACIDOS DE PESO COMPRENDIDO ENTRE 1501 A 2000 gr EN PRIMERA Y SEGUNDA DETERMINACION								
	1ª DETERMINACION			2ª DETERMINACION			t	p
	n	MEDIA	EEM	n	MEDIA	EEM		
Osteocalcina	19	4,99	0,94	17	8,12	1,35	- 1,89	p<0,05
Parathormona	19	78,69	8,6	17	62,88	3,48	1,7	NS
Calcitonina	19	0,240	0,08	17	0,115	0,029	1,46	NS
Calcio sérico	19	9,04	0,44	17	10,23	0,33	- 2,14	p<0,05
Fósforo inorgánico	19	5,92	0,28	17	5,8	0,4	0,25	NS
Fosfatasa Alcalina	19	500,26	68,47	17	496,43	76,98	0,04	NS
Calcio urinario	19	4,33	1,01	17	8,29	2,33	- 1,55	NS
Fósforo urinario	19	5,92	0,28	17	5,8	0,4	1,66	NS
Creatinina	19	12,35	1,08	17	12,34	0,9	0,01	NS
Hidroxirolina	19	142,55	85,11	17	134,03	48,67	0,15	NS

Se puede observar el aumento en la segunda determinación con respecto a la primera de BGP ($p<0.05$) y la disminución de PTH y CT en la segunda, aunque no es significativo. Se observa igualmente ascenso de los niveles séricos de calcio en la segunda determinación, con respecto a la primera ($p<0.05$).

2.3 MARCADORES EN RECIEN NACIDOS DE PESO COMPRENDIDO ENTRE 2001 A 2500 gr

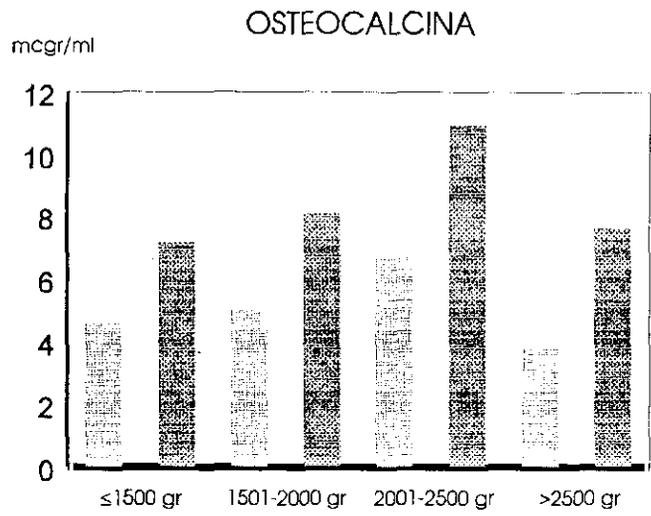
La tabla XV recoge los datos (media \pm EEM) de los marcadores en recién nacidos de peso comprendido entre 2001-2500 gr. Comparando sus dos determinaciones, existe un aumento significativo de BGP, calcio sérico y FA en la segunda determinación ($p < 0.05$), e igualmente se observa descenso de CT en segunda determinación (test t de muestras pareadas, $p < 0.05$).

TABLA XV								
MARCADORES EN RECIEN NACIDOS DE PESO COMPRENDIDO ENTRE 2001 A 2500 gr								
	1ª DETERMINACION			2ª DETERMINACION			t	p
	n	MEDIA	EEM	n	MEDIA	EEM		
Osteocalcina	34	6,67	1,16	35	10,93	1,17	- 2,58	p<0,05
Parathormona	34	73,66	4,1	35	69,37	6,19	0,58	NS
Calcitonina	34	0,425	0,111	35	0,061	0,011	3,27	p<0,05
Calcio sérico	34	8,98	0,18	35	9,89	0,14	- 3,88	p<0,05
Fósforo inorgánico	34	6,32	0,19	35	6,66	0,13	- 1,46	NS
Fosfatasa Alcalina	34	411,17	24,09	35	485,42	25,21	- 2,13	p<0,05
Calcio urinario	34	3,1	0,74	35	3,85	0,95	- 0,62	NS
Fósforo urinario	34	10,76	3,23	35	10,27	1,72	0,13	NS
Creatinina	34	16,16	1,17	35	10,94	0,56	4,03	p<0,05
Hidroxirolina	34	87,62	17,16	35	68,57	9,17	0,98	NS

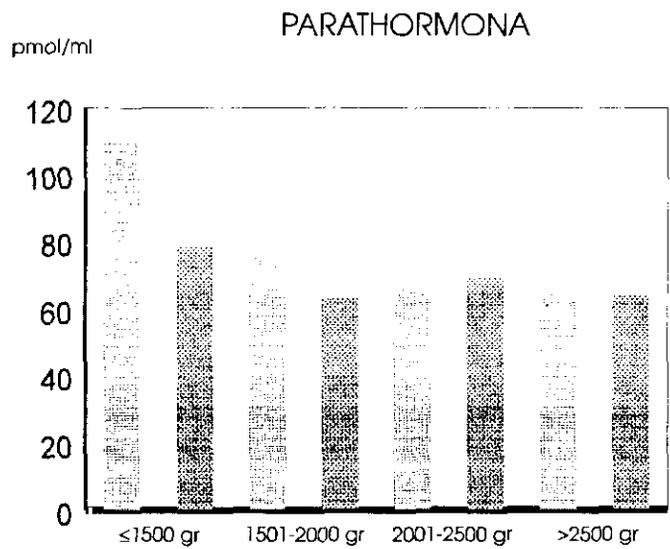
2.4 MARCADORES EN RECIEN NACIDOS DE PESO SUPERIOR A 2500 gr

En la tabla XVI se muestran los resultados de los marcadores en recién nacidos de > 2500 gr. Las significaciones más destacables son el aumento de BGP y el descenso de CT en segunda determinación con respecto a la primera (test t de muestras pareadas, $p < 0.05$). Igualmente se aprecia un aumento significativo de fósforo inorgánico en la segunda determinación con respecto a la primera ($p < 0.05$).

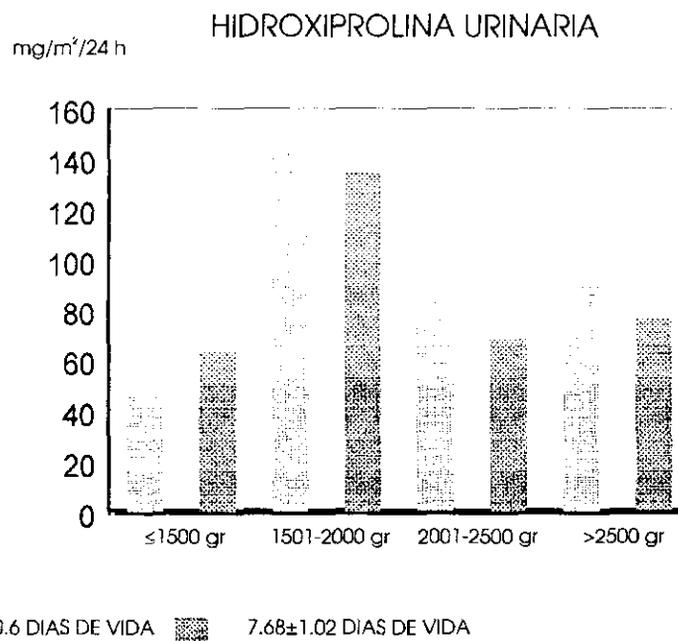
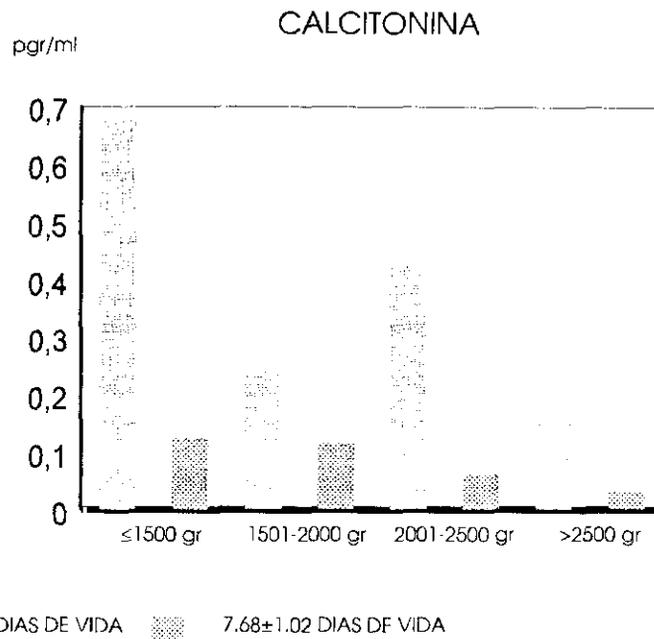
	1ª DETERMINACION			2ª DETERMINACION			t	p
	n	MEDIA	EEM	n	MEDIA	EEM		
Osteocalcina	36	3,77	0,58	35	7,62	1,2	-2,87	$p < 0,05$
Parathormona	36	72,33	4,68	35	63,74	2,77	1,59	NS
Calcitonina	36	0,157	0,035	35	0,031	0,008	3,5	$p < 0,05$
Calcio sérico	36	9,38	0,18	35	9,15	0,22	0,8	NS
Fósforo inorgánico	36	6,82	0,26	35	6,59	0,19	0,69	NS
Fosfatasa Alcalina	36	412,08	20,22	35	380,71	17,87	1,16	NS
Calcio urinario	36	3,63	1,32	35	3,77	1,37	-0,07	NS
Fósforo urinario	36	8,6	1,8	35	14,02	1,97	-2,02	$p < 0,05$
Creatinina	36	32,73	6,09	35	12,94	1,7	3,13	$P < 0,05$
Hidroxiprolina	36	101,17	14,43	35	76,35	12,28	1,31	NS



1.42±0.6 DIAS DE VIDA 7.68±1.02 DIAS DF VIDA

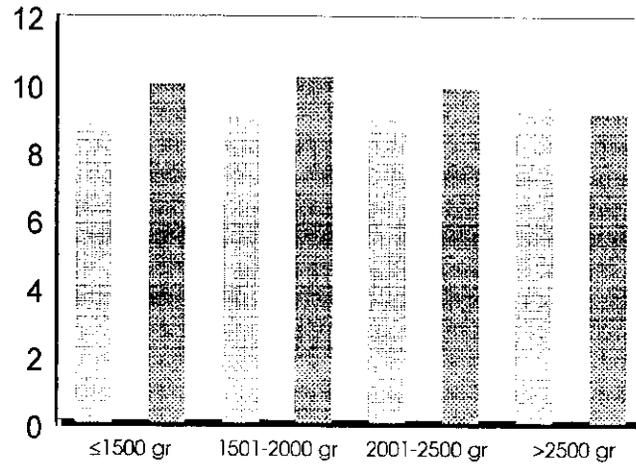


1.42±0.6 DIAS DE VIDA 7.68±1.02 DIAS DIAS DE VIDA



CALCIO SERICO

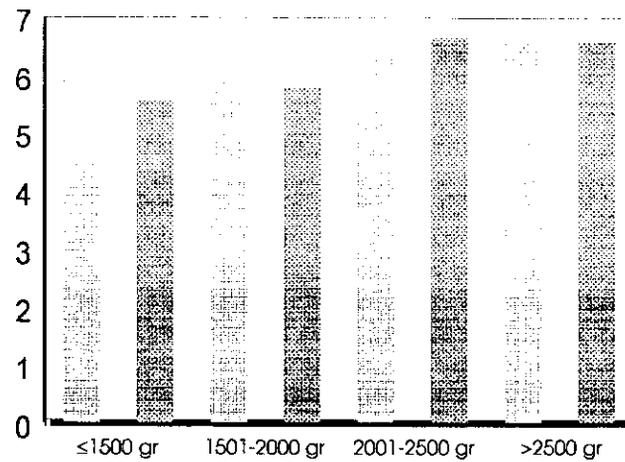
mg/dl



□ 1.42±0.6 DIAS DE VIDA ▨ 7.68±1.02 DIAS DE VIDA

FOSFORO INORGANICO

mg/dl



□ 1.42±0.6 DIAS DE VIDA ▨ 7.68±1.02 DIAS DE VIDA

2.5 ANALISIS COMPARATIVO EN PRIMERA DETERMINACION DE LA POBLACION AGRUPADA SEGUN PESO

2.5.1 RECIEN NACIDOS DE PESO IGUAL O INFERIOR A 1500 gr
CON RECIEN NACIDOS DE PESO COMPRENDIDO ENTRE 1501 A 2000 gr.

TABLA XVII							
ANALISIS COMPARATIVO EN PRIMERA DETERMINACION							
	≤ 1500 gr			1501 A 2000 gr			P
	n	MEDIA	EEM	n	MEDIA	EEM	
Osteocalcina	16	4,58	0,84	19	4,99	0,94	NS
Parathormona	16	109,43	10,4	19	78,69	8,6	NS
Calcitonina	16	0,674	0,219	19	0,240	0,08	p<0,05
Calcio sérico	16	8,81	0,29	19	9,04	0,44	NS
Fósforo inorgánico	16	5,89	0,39	19	5,92	0,28	NS
Fosfatasa Alcalina	16	551,62	44,82	19	500,26	68,47	NS
Calcio urinario	16	3,4	1,14	19	4,33	1,01	NS
Fósforo urinario	16	8,85	2,88	19	5,92	0,28	NS
Creatinina	16	9,72	0,94	19	12,35	1,08	NS
Hidroxirolina	16	45,06	11,43	19	142,55	85,11	NS

En el estudio comparativo de recién nacidos de peso igual o inferior a 1500 gr. con recién nacidos de peso comprendido entre 1501-2000 gr. recogido en la tabla XVII, se destaca los niveles séricos más elevados de CT a menor peso al nacimiento en las primeras 24-48 h. de vida ($p<0.05$)(ANOVA).

2.5.2 RECIEN NACIDOS DE PESO IGUAL O INFERIOR A 1500 gr
 CON RECIEN NACIDOS DE PESO COMPRENDIDO ENTRE 2001-2500 gr.

TABLA XVIII							
ANALISIS COMPARATIVO EN PRIMERA DETERMINACION							
	≤ 1500 gr			2001 A 2500 gr			P
	n	MEDIA	EEM	n	MEDIA	EEM	
Osteocalcina	16	4,58	0,84	34	6,67	1,16	NS
Parathormona	16	109,43	10,4	34	73,66	4,1	p<0,05
Calcitonina	16	0,674	0,219	34	0,425	0,111	NS
Calcio sérico	16	8,81	0,29	34	8,98	0,18	NS
Fósforo inorgánico	16	5,89	0,39	34	6,32	0,19	NS
Fosfatasa Alcalina	16	551,62	44,82	34	411,17	24,09	p<0,05
Calcio urinario	16	3,4	1,14	34	3,1	0,74	NS
Fósforo urinario	16	8,85	2,88	34	10,76	3,23	NS
Creatinina	16	9,72	0,94	34	16,16	1,17	P<0,05
Hidroxiprolina	16	45,06	11,43	34	87,62	17,16	NS

La tabla XVIII recoge los marcadores de recién nacidos de peso igual o inferior a 1500 gr. y recién nacidos de peso comprendido entre 2001-2500 gr. al nacimiento. Se destacan valores séricos más elevados de PTH y FA en recién nacidos de menos de 1500 gr. (p<0.05; ANOVA)

2.5.3 RECIEN NACIDOS DE PESO IGUAL O INFERIOR A 1500 gr
 CON RECIEN NACIDOS DE PESO SUPERIOR A 2500 gr

TABLA XIX							
ANALISIS COMPARATIVO EN PRIMERA DETERMINACION							
	≤ 1500 gr			> 2501 gr			P
	n	MEDIA	EEM	n	MEDIA	EEM	
Osteocalcina	16	4,58	0,84	36	3,77	0,58	NS
Parathormona	16	109,43	10,4	36	72,33	4,68	p<0,05
Calcitonina	16	0,674	0,219	36	0,157	0,035	p<0,05
Calcio sérico	16	8,81	0,29	36	9,38	0,18	NS
Fósforo inorgánico	16	5,89	0,39	36	6,82	0,26	NS
Fosfatasa Alcalina	16	551,62	44,82	36	412,08	20,22	p<0,05
Calcio urinario	16	3,4	1,14	36	3,63	1,32	NS
Fósforo urinario	16	8,85	2,88	36	8,6	1,8	NS
Creatinina	16	9,72	0,94	36	32,73	6,09	p<0,05
Hidroxiprolina	16	45,06	11,43	36	101,17	14,43	p<0,05

Se observan niveles séricos más elevados de PTH, CT y FA en recién nacidos de peso igual o inferior a 1500 gr. (p<0.05; ANOVA) e igualmente niveles de creatinina urinaria e hidroxiprolina más bajos en recién nacidos de menos de 1500 gr. (p<0.05; ANOVA) (Tabla XIX).

2.5.4 RECIEN NACIDOS DE PESO COMPRENDIDO ENTRE 1501-2000 gr CON RECIEN NACIDOS DE 2001-2500 gr

TABLA XX							
ANALISIS COMPARATIVO EN PRIMERA DETERMINACION							
	1501-2000 gr			2001-2500 gr			P
	n	MEDIA	EEM	n	MEDIA	EEM	
Osteocalcina	19	4,99	0,94	34	6,67	1,16	NS
Parathormona	19	78,69	8,6	34	73,66	4,1	p<0,05
Calcitonina	19	0,240	0,08	34	0,425	0,111	p<0,05
Calcio sérico	19	9,04	0,44	34	8,98	0,18	p<0,05
Fósforo inorgánico	19	5,92	0,28	34	6,32	0,19	NS
Fosfatasa Alcalina	19	500,26	68,47	34	411,17	24,09	NS
Calcio urinario	19	4,33	1,01	34	3,1	0,74	NS
Fósforo urinario	19	5,92	0,28	34	10,76	3,23	NS
Creatinina	19	12,35	1,08	34	16,16	1,17	NS
Hidroxiprolina	19	142,55	85,11	34	87,62	17,16	NS

En la tabla XX destacamos principalmente los niveles séricos más elevados de PTH, CT y calcio sérico, se detectaron en niños de peso comprendido entre 1501-2000 gr. (p<0.05; ANOVA).

2.5.5 RECIEN NACIDOS DE PESO COMPRENDIDO ENTRE 1501-2000 gr CON RECIEN NACIDOS DE PESO SUPERIOR A 2500 gr.

TABLA XXI							
ANALISIS COMPARATIVO EN PRIMERA DETERMINACION							
	1501-2000 gr			> 2500 gr			P
	n	MEDIA	EEM	n	MEDIA	EEM	
Osteocalcina	19	4,99	0,94	36	3,77	0,58	NS
Parathormona	19	78,69	8,6	36	72,33	4,68	NS
Calcitonina	19	0,240	0,08	36	0,157	0,035	NS
Calcio sérico	19	9,04	0,44	36	9,38	0,18	p<0,05
Fósforo inorgánico	19	5,92	0,28	36	6,82	0,26	NS
Fosfatasa Alcalina	19	500,26	68,47	36	412,08	20,22	p<0,05
Calcio urinario	19	4,33	1,01	36	3,63	1,32	NS
Fósforo urinario	19	5,92	0,28	36	8,6	1,8	NS
Creatinina	19	12,35	1,08	36	32,73	6,09	p<0,05
Hidroxiprolina	19	142,55	85,11	36	101,17	14,43	NS

Se observa relación significativa del calcio sérico, detectándose niveles séricos más bajos en niños de peso comprendido entre 1501-2000 gr. (p<0.05; ANOVA) e igualmente en ocurre con la fosfatasa alcalina, la cual presentó niveles séricos superiores a más bajo peso del recién nacido (p<0.05; ANOVA) (Tabla XXI).

2.5.6 RECIEN NACIDOS DE PESO COMPRENDIDO ENTRE 2001-2500 gr CON RECIEN NACIDOS DE PESO SUPERIOR A 2500 gr.

TABLA XXII							
ANALISIS COMPARATIVO EN PRIMERA DETERMINACION							
	2001-2500 gr			> 2500 gr			P
	n	MEDIA	EEM	n	MEDIA	EEM	
Osteocalcina	34	6,67	1,16	36	3,77	0,58	p<0,05
Parathormona	34	73,66	4,1	36	72,33	4,68	NS
Calcitonina	34	0,425	0,111	36	0,157	0,035	p<0,05
Calcio sérico	34	8,98	0,18	36	9,38	0,18	NS
Fósforo inorgánico	34	6,32	0,19	36	6,82	0,26	NS
Fosfatasa Alcalina	34	411,17	24,09	36	412,08	20,22	NS
Calcio urinario	34	3,1	0,74	36	3,63	1,32	NS
Fósforo urinario	34	10,76	3,23	36	8,6	1,8	NS
Creatinina	34	16,16	1,17	36	32,73	6,09	p<0,05
Hidroxirolina	34	87,62	17,16	36	101,17	14,43	NS

Tanto la BGP como la CT, presentaron cifras superiores en niños de peso comprendido entre 2001-2500 gr. (p<0.05; ANOVA) (Tabla XXII).

2.5.7 CORRELACION DE LOS MARCADORES EN RECIEN NACIDOS DE PESO IGUAL O INFERIOR A 1500 gr.

TABLA XXIII										
MATRIZ DE CORRELACION DE VALORES EN RECIEN NACIDOS DE PESO IGUAL O INFERIOR A 1500 gr										
Coeficiente de correlacion de Pearson										
	BGP	PTH	CT	Ca	P	FA	CaU	PU	Crtn	HPU
BGP	1,000									
PTH	- 0,196 p=NS	1,000								
CT	0,018 p=NS	- 0,054 p=NS	1,000							
Ca	0,438 p=NS	- 0,431 p=NS	- 0,419 p=NS	1,000						
P	- 0,401 p=NS	0,408 p=NS	0,486 p=NS	- 0,543 p<0,05	1,000					
FA	0,140 p=NS	- 0,231 p=NS	- 0,038 p=NS	0,144 p=NS	- 0,237 p=NS	1,000				
CaU	0,183 p=NS	- 0,467 p=NS	0,171 p=NS	0,548 p<0,05	- 0,377 p=NS	0,259 p=NS	1,000			
PU	- 0,208 p=NS	0,302 p=NS	- 0,159 p=NS	- 0,199 p=NS	0,302 p=NS	- 0,249 p=NS	- 0,101 p=NS	1,000		
Crtn	- 0,166 p=NS	0,443 p=NS	- 0,158 p=NS	- 0,153 p=NS	0,298 p=NS	- 0,127 p=NS	- 0,129 p=NS	0,666 p<0,05	1,000	
HPU	0,179 p=NS	- 0,305 p=NS	0,051 p=NS	0,235 p=NS	- 0,221 p=NS	- 0,144 p=NS	0,238 p=NS	- 0,059 p=NS	- 0,267 p=NS	1,000

En la matriz de correlación presentada en la tabla XXIII se observa correlación linear simple y directa del calcio sérico con calcio urinario, e inversa de calcio sérico con fósforo inorgánico (p<0.05).

2.5.8 CORRELACION DE LOS MARCADORES EN RECIEN NACIDOS DE PESO COMPRENDIDO ENTRE 1501-2000 gr

TABLA XXIV										
CORRELACION DE VALORES EN RECIEN NACIDOS DE PESO COMPRENDIDO ENTRE 1501-2000 gr										
Coeficiente de correlacion de Pearson										
	BGP	PTH	CT	Ca	P	FA	CaU	PU	Crtn	HPU
BGP	1,000									
PTH	- 0,064 p=NS	1,000								
CT	- 0,215 p=NS	- 0,280 p=NS	1,000							
Ca	0,220 p=NS	- 0,013 p=NS	- 0,533 p<0,05	1,000						
P	0,321 p=NS	0,124 p=NS	- 0,397 p=NS	0,301 p=NS	1,000					
FA	0,091 p=NS	- 0,115 p=NS	- 0,218 p=NS	0,391 p=NS	0,174 p=NS	1,000				
CaU	- 0,160 p=NS	- 0,064 p=NS	- 0,218 p=NS	0,330 p=NS	0,076 p=NS	- 0,142 p=NS	1,000			
PU	0,111 p=NS	0,357 p=NS	0,013 p=NS	0,104 p=NS	0,288 p=NS	0,133 p=NS	- 0,252 p=NS	1,000		
Crtn	- 0,456 p<0,05	- 0,010 p=NS	- 0,066 p=NS	- 0,143 p=NS	- 0,639 p<0,05	- 0,284 p=NS	0,232 p=NS	- 0,236 p=NS	1,000	
HPU	- 0,159 p=NS	- 0,290 p=NS	0,801 p<0,05	- 0,589 p<0,05	- 0,429 p=NS	- 0,284 p=NS	- 0,120 p=NS	- 0,124 p=NS	0,190 p=NS	1,000

En la matriz de correlación expuesta en la tabla XXIV se aprecia correlación lineal simple de HPU con CT y calcio sérico ($p<0.05$) e igualmente de calcio sérico con CT ($p<0.05$)

2.5.9 CORRELACION DE LOS MARCADORES EN RECIEN NACIDOS DE PESO COMPRENDIDO ENTRE 2001-2500 gr.

TABLA XXV										
CORRELACION DE VALORES EN RECIEN NACIDOS DE PESO COMPRENDIDO ENTRE 2001-2500 gr										
Coeficiente de correlacion de Pearson										
	BGP	PTH	CT	Ca	P	FA	CaU	PU	Crtn	HPU
BGP	1,000									
PTH	- 0,144 p=NS	1,000								
CT	- 0,026 p=NS	0,350 p<0,05	1,000							
Ca	0,223 p=NS	- 0,401 p<0,05	- 0,387 p<0,05	1,000						
P	0,171 p=NS	- 0,005 p=NS	- 0,086 p=NS	0,093 p=NS	1,000					
FA	0,317 p=NS	0,264 p=NS	0,095 p=NS	- 0,238 p=NS	0,087 p=NS	1,000				
CaU	0,223 p=NS	- 0,124 p=NS	- 0,080 p=NS	0,142 p=NS	0,273 p=NS	0,292 p=NS	1,000			
PU	0,028 p=NS	0,098 p=NS	- 0,020 p=NS	- 0,018 p=NS	0,235 p=NS	0,257 p=NS	0,051 p=NS	1,000		
Crtn	- 0,203 p=NS	0,260 p=NS	0,124 p=NS	0,244 p=NS	- 0,126 p=NS	- 0,117 p=NS	- 0,051 p=NS	- 0,195 p=NS	1,000	
HPU	- 0,076 p=NS	- 0,101 p=NS	- 0,052 p=NS	0,168 p=NS	- 0,194 p=NS	- 0,122 p=NS	- 0,054 p=NS	- 0,002 p=NS	- 0,041 p=NS	1,000

En la matriz representada en la tabla XXV se aprecia correlación lineal simple inversa del calcio sérico con PTH y CT ($p<0.05$), y correlación lineal simple directa de CT con PTH ($p<0.05$).

2.5.10 CORRELACION DE MARCADORES EN RECIEN NACIDOS DE PESO SUPERIOR A 2500 gr.

TABLA XXVI										
CORRELACION DE VALORES EN RECIEN NACIDOS DE PESO SUPERIOR A 2500 gr										
Coeficiente de correlacion de Pearson										
	BGP	PTH	CT	Ca	P	FA	CaU	PU	Crtn	HPU
BGP	1,000									
PTH	- 0,121 p=NS	1,000								
CT	- 0,075 p=NS	0,009 p=NS	1,000							
Ca	0,240 p=NS	- 0,243 p=NS	- 0,250 p=NS	1,000						
P	0,074 p=NS	- 0,015 p=NS	- 0,072 p=NS	0,073 p=NS	1,000					
FA	0,097 p=NS	- 0,068 p=NS	- 0,068 p=NS	0,012 p=NS	0,207 p=NS	1,000				
CaU	- 0,126 p=NS	- 0,030 p=NS	- 0,028 p=NS	- 0,065 p=NS	- 0,175 p=NS	0,161 p=NS	1,000			
PU	- 0,205 p=NS	0,064 p=NS	- 0,035 p=NS	- 0,176 p=NS	0,290 p<0,05	0,024 p=NS	0,344 p<0,05	1,000		
Crtn	- 0,121 p=NS	- 0,066 p=NS	- 0,142 p=NS	- 0,100 p=NS	0,247 p=NS	- 0,001 p=NS	0,050 p=NS	0,186 p=NS	1,000	
HPU	- 0,144 p=NS	- 0,007 p=NS	- 0,225 p=NS	- 0,194 p=NS	0,300 p<0,05	0,057 p=NS	- 0,058 p=NS	0,140 p=NS	0,280 p<0,05	1,000

La tabla XXVI muestra la matriz de correlación de los marcadores en los niños de peso superior a 2500 gr., y se destaca correlación simple directa de HPU con fósforo inorgánico y creatinina ($p<0.05$), y de fósforo urinario con calcio urinario ($p<0.05$).

2.6 ANALISIS COMPARATIVO EN SEGUNDA DETERMINACION DE LA POBLACION AGRUPADA SEGUN PESO

2.6.1 RECIEN NACIDOS DE PESO IGUAL O INFERIOR A 1500 gr. CON RECIEN NACIDOS DE PESO COMPRENDIDO ENTRE 1501-2000 gr.

TABLA XXVII							
ANALISIS COMPARATIVO EN SEGUNDA DETERMINACION							
	≤ 1500 gr			1501-2000 gr			p
	n	MEDIA	EEM	n	MEDIA	EEM	
Osteocalcina	18	7,19	1,34	17	8,12	1,35	NS
Parathormona	18	78,21	6,46	17	62,88	3,48	p<0,05
Calcitonina	18	0,124	0,024	17	0,115	0,029	NS
Calcio sérico	18	10	0,25	17	10,23	0,33	NS
Fósforo inorgánico	18	5,6	0,34	17	5,8	0,4	NS
Fosfatasa Alcalina	18	583,11	39,28	17	496,43	76,98	NS
Calcio urinario	18	6,84	1,62	17	8,29	2,33	NS
Fósforo urinario	18	17,07	12,76	17	5,8	0,4	NS
Creatinina	18	9,27	0,78	17	12,34	0,9	NS
Hidroxirolina	18	63,35	22,54	17	134,03	48,67	p<0,05

En la tabla XXVII se destacan niveles séricos de PTH significativamente más elevados en niños de peso igual o inferior a 1500 gr. con respecto al grupo de peso comprendido entre 1501-2000 gr. (p<0.05; ANOVA), e igualmente se observa un aumento significativo de HPU urinaria en los niños de peso entre 1501-2000 gr (p<0.05; ANOVA).

2.6.2 RECIEN NACIDOS DE PESO IGUAL O INFERIOR A 1500 gr.
 CON RECIEN NACIDOS DE PESO COMPRENDIDO ENTRE 2001-2500 gr.

TABLA XXVIII							
ANALISIS COMPARATIVO EN SEGUNDA DETERMINACION							
	≤ 1500 gr			2001-2500 gr			P
	n	MEDIA	EEM	n	MEDIA	EEM	
Osteocalcina	18	7,19	1,34	35	10,93	1,17	NS
Parathormona	18	78,21	6,46	35	69,37	6,19	NS
Calcitonina	18	0,124	0,024	35	0,061	0,011	NS
Calcio sérico	18	10	0,25	35	9,89	0,14	NS
Fósforo inorgánico	18	5,6	0,34	35	6,66	0,13	p<0,05
Fosfatasa Alcalina	18	583,11	39,28	35	485,42	25,21	NS
Calcio urinario	18	6,84	1,62	35	3,85	0,95	NS
Fósforo urinario	18	17,07	12,76	35	10,27	1,72	p<0,05
Creatinina	18	9,27	0,78	35	10,94	0,56	NS
Hidroxiprolina	18	63,35	22,54	35	68,57	9,17	NS

De los marcadores estudiados, solamente destaca en este análisis comparativo los niveles séricos de fósforo superiores en recién nacidos de peso comprendido entre 2001-2500 gr. con respecto a los recién nacidos de peso igual o inferior a 1500 gr. ($p < 0.05$; ANOVA). El fósforo urinario sigue un patrón inverso al fósforo inorgánico con respecto al peso de estos grupos estudiados ($p < 0.05$; ANOVA).

2.6.3 RECIEN NACIDOS DE PESO IGUAL O INFERIOR A 1500 gr CON RECIEN NACIDOS DE PESO SUPERIOR A 2500 gr.

TABLA XXIX							
ANALISIS COMPARATIVO EN SEGUNDA DETERMINACION							
	≤ 1500 gr			> 2500 gr			P
	n	MEDIA	EEM	n	MEDIA	EEM	
Osteocalcina	18	7,19	1,34	35	7,62	1,2	NS
Parathormona	18	78,21	6,46	35	63,74	2,77	p<0,05
Calcitonina	18	0,124	0,024	35	0,031	0,008	p<0.05
Calcio sérico	18	10	0,25	35	9,15	0,22	NS
Fósforo inorgánico	18	5,6	0,34	35	6,59	0,19	p<0.05
Fosfatasa Alcalina	18	583,11	39,28	35	380,71	17,87	NS
Calcio urinario	18	6,84	1,62	35	3,77	1,37	NS
Fósforo urinario	18	17,07	12,76	35	14,02	1,97	NS
Creatinina	18	9,27	0,78	35	12,94	1,7	NS
Hidroxirolina	18	63,35	22,54	35	76,35	12,28	NS

En la tabla XXIX se puede destacar principalmente que los niveles séricos de PTH y CT son superiores en niños de peso igual o inferior a 1500 gr. con respecto al grupo de peso superior a 2500 gr. (p<0.05; ANOVA)

2.6.4 RECIEN NACIDOS DE PESO COMPRENDIDO ENTRE 1501-2000 gr. CON RECIEN NACIDOS DE PESO ENTRE 2001-2500 gr.

TABLA XXX							
ANALISIS COMPARATIVO EN SEGUNDA DETERMINACION							
	1501-2000 gr			2001-2500 gr			P
	n	MEDIA	EEM	n	MEDIA	EEM	
Osteocalcina	17	8,12	1,35	35	10,93	1,17	NS
Parathormona	17	62,88	3,48	35	69,37	6,19	p<0,05
Calcitonina	17	0,115	0,029	35	0,061	0,011	NS
Calcio sérico	17	10,23	0,33	35	9,89	0,14	NS
Fósforo inorgánico	17	5,8	0,4	35	6,66	0,13	p<0,05
Fosfatasa Alcalina	17	496,43	76,98	35	485,42	25,21	NS
Calcio urinario	17	8,29	2,33	35	3,85	0,95	p<0,05
Fósforo urinario	17	5,8	0,4	35	10,27	1,72	p<0,05
Creatinina	17	12,34	0,9	35	10,94	0,56	NS
Hidroxiprolina	17	134,03	48,67	35	68,57	9,17	p<0,05

Se destacan valores séricos significativamente más elevados de CT y fósforo inorgánico en recién nacidos de peso comprendido entre 2001-2500 gr. También observamos aumento significativo del fósforo urinario en dicho grupo y niveles urinarios más bajos de calcio e hidroxiprolina en el mismo grupo de peso (p<0.05; ANOVA) (Tabla XXX).

2.6.5 RECIEN NACIDOS DE PESO COMPRENDIDO ENTRE 1501-2000 gr. CON RECIEN NACIDOS DE PESO SUPERIOR A 2500 gr.

TABLA XXXI							
ANALISIS COMPARATIVO EN SEGUNDA DETERMINACION							
	1501-2000 gr			> 2500 gr			p
	n	MEDIA	EEM	n	MEDIA	EEM	
Osteocalcina	17	8,12	1,35	35	7,62	1,2	NS
Parathormona	17	62,88	3,48	35	63,74	2,77	NS
Calcitonina	17	0,115	0,029	35	0,031	0,008	p<0,05
Calcio sérico	17	10,23	0,33	35	9,15	0,22	NS
Fósforo inorgánico	17	5,8	0,4	35	6,59	0,19	p<0,05
Fosfatasa Alcalina	17	496,43	76,98	35	380,71	17,87	p<0,05
Calcio urinario	17	8,29	2,33	35	3,77	1,37	NS
Fósforo urinario	17	5,8	0,4	35	14,02	1,97	p<0,05
Creatinina	17	12,34	0,9	35	12,94	1,7	NS
Hidroxiprolina	17	134,03	48,67	35	76,35	12,28	p<0,05

En el análisis comparativo de la tabla XXXI se observan niveles séricos más bajos de CT y fosfatasa alcalina en niños de peso superior a 2500 gr., y más altos de fósforo inorgánico, estadísticamente significativos. Igualmente en este grupo de peso, se detectan niveles urinarios más altos de fósforo urinario y más bajos de hidroxiprolina (p<0.05; ANOVA).

2.6.6 RECIEN NACIDOS DE PESO COMPRENDIDO ENTRE 2001-2500 gr. CON RECIEN NACIDOS DE PESO SUPERIOR A 2500 gr.

TABLA XXXII							
ANLISIS COMPARATIVO EN SEGUNDA DETERMINACION							
	2001-2500 gr			> 2500 gr			P
	n	MEDIA	EEM	n	MEDIA	EEM	
Osteocalcina	35	10,93	1,17	35	7,62	1,2	NS
Parathormona	35	69,37	6,19	35	63,74	2,77	p<0,05
Calcitonina	35	0,061	0,011	35	0,031	0,008	p<0,05
Calcio sérico	35	9,89	0,14	35	9,15	0,22	p<0,05
Fósforo inorgánico	35	6,66	0,13	35	6,59	0,19	NS
Fosfatasa Alcalina	35	485,42	25,21	35	380,71	17,87	p<0,05
Calcio urinario	35	3,85	0,95	35	3,77	1,37	NS
Fósforo urinario	35	10,27	1,72	35	14,02	1,97	NS
Creatinina	35	10,94	0,56	35	12,94	1,7	p<0,05
Hidroxiprolina	35	68,57	9,17	35	76,35	12,28	NS

Al comparar en la segunda determinación el grupo de niños de peso comprendido entre 2001-2500 gr. con los de peso superior a 2500 gr. se aprecia, significación referente a niveles séricos de PTH, CT, fosfatasa alcalina y calcio sérico más bajos en niños de peso superior a 2500 gr., y niveles de creatinina urinaria más altos en el mismo grupo (p<0.05; ANOVA) (Tabla XXXII).

2.6.7 CORRELACION DE MARCADORES EN RECIEN NACIDOS DE PESO IGUAL O INFERIOR A 1500 gr.

TABLA XXXIII										
MATRIZ DE CORRELACION DE VALORES EN RECIEN NACIDOS DE PESO INFERIOR A 1500 gr. EN SEGUNDA DETERMINACION										
Coeficiente de correlacion de Pearson										
	BGP	PTH	CT	Ca	P	FA	CaU	PU	Crtn	HPU
BGP	1,000									
PTH	0,137 p=NS	1,000								
CT	-0,263 p=NS	-0,186 p=NS	1,000							
Ca	-0,301 p=NS	-0,170 p=NS	-0,041 p=NS	1,000						
P	-0,307 p=NS	0,289 p=NS	-0,280 p=NS	0,018 p=NS	1,000					
FA	-0,282 p=NS	-0,296 p=NS	0,352 p=NS	0,460 p=NS	-0,231 p=NS	1,000				
CaU	-0,114 p=NS	-0,508 p<0,05	0,200 p=NS	0,219 p=NS	-0,526 p<0,05	0,601 p<0,05	1,000			
PU	0,249 p=NS	-0,384 p=NS	-0,321 p=NS	0,394 p=NS	-0,183 p=NS	0,031 p=NS	0,295 p=NS	1,000		
Crtn	0,036 p=NS	0,443 p=NS	-0,288 p=NS	0,250 p=NS	0,093 p=NS	-0,170 p=NS	-0,484 p<0,05	-0,089 p=NS	1,000	
HPU	0,713 p<0,05	0,245 p=NS	-0,157 p=NS	-0,450 p=NS	0,049 p=NS	-0,325 p=NS	-0,262 p=NS	-0,034 p=NS	-0,106 p=NS	1,000

Se aprecia correlación simple directa de calcio urinario con fósfatasa alcalina y de hidroxiprolina con BGP, e inversa del calcio urinario con PTH, fósforo inorgánico y creatinina (p<0.05) (Tabla XXXIII).

2.6.8 CORRELACION MARCADORES EN RECIEN NACIDOS DE PESO COMPRENDIDO ENTRE 1501-2000 gr.

TABLA XXXIV										
MATRIZ DE CORRELACION DE VALORES EN RECIEN NACIDOS DE PESO COMPRENDIDO ENTRE DE 1501-2000 gr. EN SEGUNDA DETERMINACION										
Coeficiente de correlacion de Pearson										
	BGP	PTH	CT	Ca	P	FA	CaU	PU	Crtn	HPU
BGP	1,000									
PTH	0,129 p=NS	1,000								
CT	- 0,084 p=NS	0,272 p=NS	1,000							
Ca	- 0,083 p=NS	0,154 p=NS	0,255 p=NS	1,000						
P	- 0,048 p=NS	0,160 p=NS	- 0,043 p=NS	0,134 p=NS	1,000					
FA	0,101 p=NS	0,134 p=NS	- 0,032 p=NS	- 0,108 p=NS	0,145 p=NS	1,000				
CaU	0,101 p=NS	- 0,002 p=NS	- 0,156 p=NS	0,131 p=NS	0,012 p=NS	- 0,136 p=NS	1,000			
PU	0,223 p=NS	- 0,075 p=NS	0,203 p=NS	0,019 p=NS	0,354 p=NS	0,024 p=NS	- 0,221 p=NS	1,000		
Crtn	- 0,674 p<0,05	0,245 p=NS	0,253 p=NS	0,149 p=NS	0,242 p=NS	- 0,133 p=NS	0,044 p=NS	- 0,125 p=NS	1,000	
HPU	0,175 p=NS	0,473 p=NS	0,032 p=NS	- 0,155 p=NS	0,031 p=NS	- 0,112 p=NS	0,450 p=NS	- 0,232 p=NS	0,210 p=NS	1,000

En el grupo de niños de peso comprendido entre 1501-2000 gr. en su segunda determinación, sólo se encontró correlación linear simple inversa de BGP con creatinina urinaria ($p<0.05$) (Tabla XXXIV).

2.6.9 CORRELACION DE MARCADORES EN RECIEN NACIDOS DE PESO COMPRENDIDO ENTRE 2001-2500 gr.

TABLA XXXV										
MATRIZ DE CORRELACION DE VALORES EN RECIEN NACIDOS DE PESO COMPRENDIDO ENTRE 2001-2500 gr. EN SEGUNDA DETERMINACION										
Coeficiente de correlacion de Pearson										
	BGP	PTH	CT	Ca	P	FA	CaU	PU	Crtn	HPU
BGP	1,000									
PTH	- 0,196 p=NS	1,000								
CT	0,171 p=NS	0,229 p=NS	1,000							
Ca	0,065 p=NS	- 0,279 p=NS	- 0,132 p=NS	1,000						
P	0,025 p=NS	0,066 p=NS	0,088 p=NS	0,039 p=NS	1,000					
FA	- 0,198 p=NS	0,511 p<0,05	0,198 p=NS	- 0,258 p=NS	0,160 p=NS	1,000				
CaU	0,112 p=NS	- 0,179 p=NS	- 0,035 p=NS	0,215 p=NS	- 0,230 p=NS	- 0,072 p=NS	1,000			
PU	- 0,314 p=NS	0,588 p<0,05	0,115 p=NS	- 0,204 p=NS	0,313 p=NS	0,360 p<0,05	- 0,166 p=NS	1,000		
Crtn	- 0,247 p=NS	- 0,057 p=NS	- 0,027 p=NS	- 0,298 p=NS	- 0,184 p=NS	0,217 p=NS	0,252 p=NS	- 0,181 p=NS	1,000	
HPU	0,041 p=NS	0,020 p=NS	0,119 p=NS	0,269 p=NS	0,023 p=NS	0,043 p=NS	0,165 p=NS	- 0,127 p=NS	- 0,067 p=NS	1,000

Existe correlación simple directa de PTH con fosfatasa alcalina y fósforo urinario, y de fósforo urinario con fosfatasa alcalina ($p<0.05$)(Tabla XXXV).

2.6.10 CORRELACION DE MARCADORES EN RECIEN NACIDOS DE PESO SUPERIOR A 2500 gr.

TABLA XXXVI										
MATRIZ CORRELACION DE VALORES EN RECIEN NACIDOS DE PESO SUPERIOR A 2500 gr. EN SEGUNDA DETERMINACION										
Coeficiente de correlacion de Pearson										
	BGP	PTH	CT	Ca	P	FA	CaU	PU	Crtn	HPU
BGP	1,000									
PTH	- 0,142 p=NS	1,000								
CT	0,316 p<0,05	- 0,094 p=NS	1,000							
Ca	0,099 p=NS	- 0,199 p=NS	- 0,138 p=NS	1,000						
P	0,210 p=NS	0,028 p=NS	0,001 p=NS	0,323 p<0,05	1,000					
FA	0,158 p=NS	- 0,165 p=NS	- 0,152 p=NS	0,060 p=NS	0,334 p<0,05	1,000				
CaU	- 0,003 p=NS	- 0,260 p=NS	0,001 p=NS	- 0,030 p=NS	- 0,139 p=NS	- 0,090 p=NS	1,000			
PU	- 0,151 p=NS	- 0,083 p=NS	- 0,194 p=NS	0,064 p=NS	- 0,085 p=NS	0,007 p=NS	0,326 p<0,05	1,000		
Crtn	- 0,265 p=NS	- 0,016 p=NS	0,287 p<0,05	- 0,144 p=NS	- 0,598 p<0,05	- 0,229 p=NS	- 0,060 p=NS	- 0,027 p=NS	1,000	
HPU	0,261 p=NS	- 0,056 p=NS	0,077 p=NS	0,086 p=NS	0,065 p=NS	0,294 p<0,05	0,204 p=NS	- 0,050 p=NS	- 0,164 p=NS	1,000

En la tabla XXXVI se puede observar la correlación existente entre BGP y CT; fósforo inorgánico con calcio sérico y fosfatasa alcalina; fósforo urinario y calcio urinario; creatinina urinaria con CT y fósforo inorgánico; y de hidroxiprolina con fosfatasa alcalina ($p<0.05$) (Tabla XXXVI).

3.- MARCADORES DEL METABOLISMO OSEO Y FOSFOCALCICO DE LA POBLACION ESTUDIADA SEGUN MADUREZ FETAL Y SUFRIMIENTO FETAL AGUDO AL NACIMIENTO

3.1 MARCADORES EN RECIEN NACIDOS PREMATUROS

	1ª DETERMINACION			2ª DETERMINACION			t	p
	n	MEDIA	EEM	n	MEDIA	EEM		
Osteocalcina	63	5,52	0,7	63	9,27	0,81	- 3,50	p<0,05
Parathormona	63	82,16	4,51	63	74,79	3,91	1,23	NS
Calcitonina	63	0,430	0,082	63	0,100	0,014	3,95	p<0,05
Calcio sérico	63	8,96	0,18	63	9,96	0,13	- 4,43	p<0,05
Fósforo inorgánico	63	6,27	0,14	63	6,23	0,15	0,18	NS
Fosfatasa Alcalina	63	494,61	26,82	63	535,55	25,34	- 1,11	NS
Calcio urinario	63	3,09	0,48	63	5,26	0,85	- 2,20	p<0,05
Fósforo urinario	63	8,86	0,14	63	11,01	3,74	- 0,51	NS
Creatinina	63	12,94	0,74	63	10,78	0,51	2,39	p<0,05
Hidroxiprolina	63	85,91	26,18	63	82,45	13,95	0,12	NS

La tabla XXXVII muestra el grupo de recién nacidos prematuros, y podemos destacar el ascenso significativo de los valores de BGP, calcio sérico y calcio urinario a la semana postnatal ($p<0.05$; test t Student), e igualmente significativo el descenso de PTH, CT y creatinina urinaria ($p<0.05$; Test t Student).

3.2 MARCADORES EN RECIEN NADIDOS A TERMINO

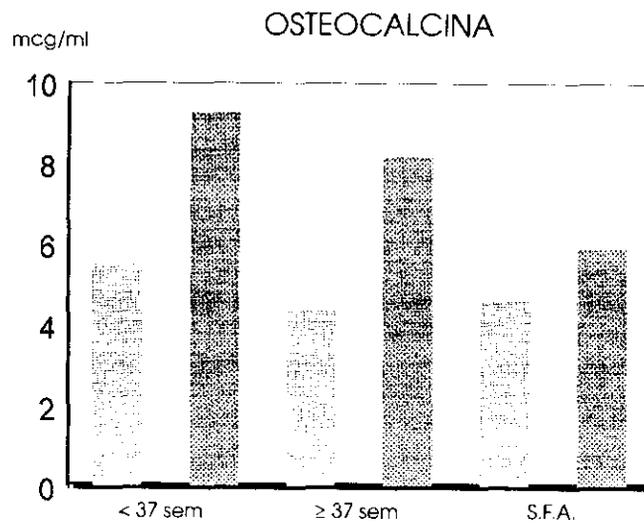
TABLA XXXVIII								
MARCADORES EN RECIEN NACIDOS A TERMINO								
	1ª DETERMINACION			2ª DETERMINACION			t	p
	n	MEDIA	EEM	n	MEDIA	EEM		
Osteocalcina	42	4,35	0,60	42	8,17	1,01	- 3,24	p<0,05
Parathormona	42	75,66	4,45	42	60	2,46	3,07	p<0,05
Calcitonina	42	0,199	0,053	42	0,040	0,009	2,99	p<0,05
Calcio sérico	42	9,32	0,15	42	9,40	0,207	- 0,31	NS
Fósforo inorgánico	42	6,48	0,26	42	6,41	0,18	0,22	NS
Fosfatasa Alcalina	42	380,59	15,81	42	377,61	16,57	0,13	NS
Calcio urinario	42	4,24	1,22	42	4,35	1,22	- 0,06	NS
Fósforo urinario	42	8,55	1,62	42	11,18	1,72	- 1,11	NS
Creatinina	42	31,01	5,26	42	13,13	1,31	3,30	p<0,05
Hidroxiprolina	42	110,44	16,96	42	75,67	11,05	1,72	p<0,05

En el grupo de niños nacidos a término, a lo largo del periodo neonatal precoz, desciende la parathormona, calcitonina, creatinina urinaria e hidroxiprolina urinaria, y ascienden los valores séricos de osteocalcina ($p<0.05$; Test t Student) (Tabla XXXVIII).

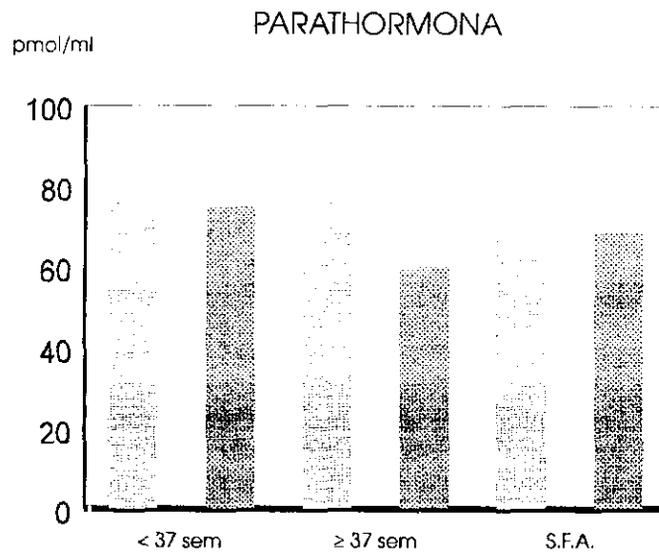
3.3 MARCADORES EN RECIEN NACIDOS CON SUFRIMIENTO FETAL AGUDO AL NACIMIENTO

TABLA XXXIX								
MARCADORES EN RECIEN NACIDOS CON SUFRIMIENTO FETAL AGUDO								
	1ª DETERMINACION			2ª DETERMINACION			t	p
	n	MEDIA	EEM	n	MEDIA	EEM		
Osteocalcina	16	4,59	1,08	16	5,89	0,91	- 0,91	NS
Parathormona	16	68,82	7,38	16	68,46	6,46	0,04	NS
Calcitonina	16	0,524	0,216	16	0,032	0,012	2,27	p<0,05
Calcio sérico	16	9,38	0,27	16	9,23	0,22	0,41	NS
Fósforo inorgánico	16	6,08	0,37	16	6,68	0,34	- 1,18	NS
Fosfatasa Alcalina	16	382,62	43,35	16	387,43	34,42	- 0,09	NS
Calcio urinario	16	4,18	1,00	16	4,04	1,43	0,08	NS
Fósforo urinario	16	3,42	1,35	16	25,90	11,96	- 1,87	NS
Creatinina	16	18,17	4,11	16	15,07	1,72	0,70	NS
Hidroxiprolina	16	33,66	5,95	16	57,91	11,82	- 1,83	NS

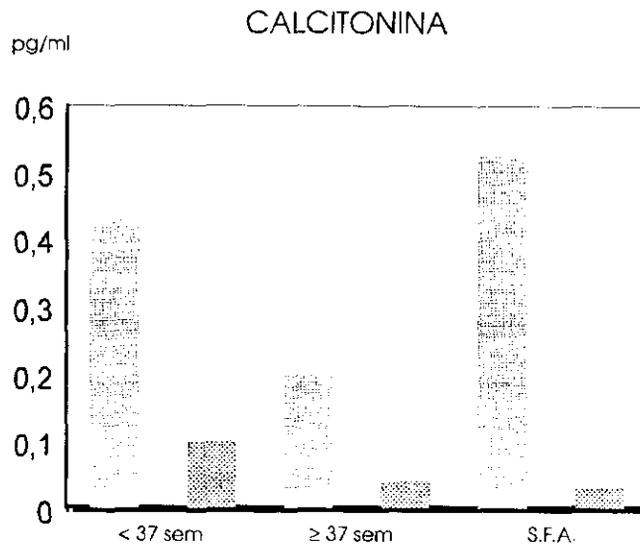
La tabla XXXIX muestra el grupo de los 16 niños recogidos en la muestra que presentaron hipoxia perinatal, y se destaca como parámetro significativo el descenso de niveles séricos que durante la primera semana de vida sufre la CT ($p < 0.05$; Test t Student).



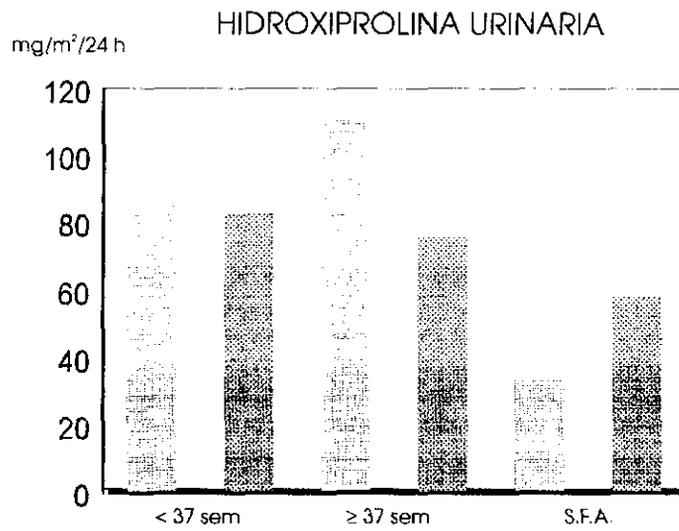
1.42±0.6 DIAS DE VIDA
 7.68±1.02 DIAS DE VIDA



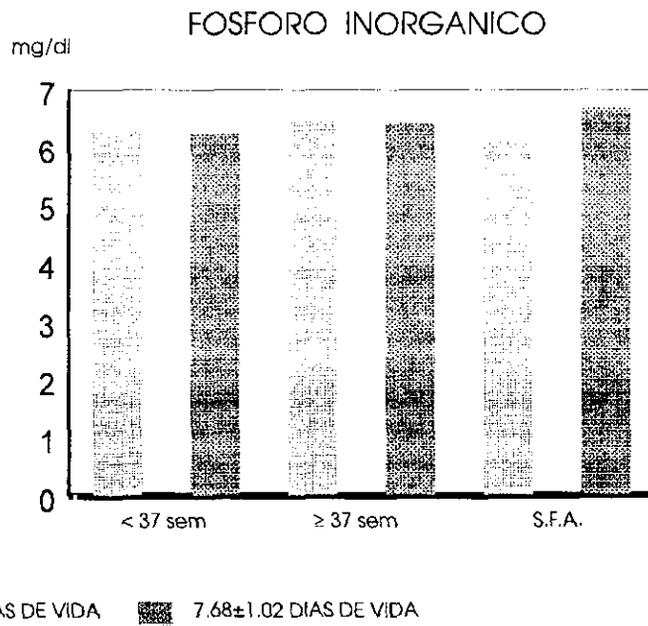
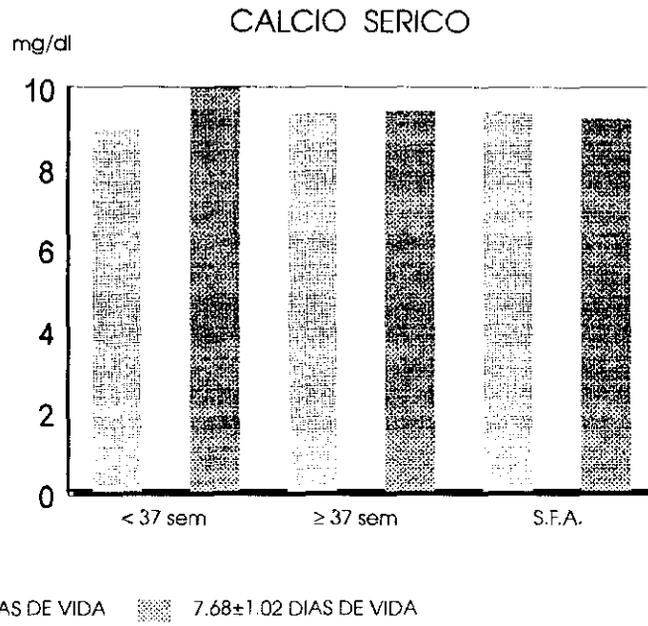
1.42±0.6 DIAS DE VIDA
 7.68±1.02 DIAS DE VIDA



1.42±0.6 DIAS DE VIDA 7.68±1.02 DIAS DE VIDA



1.42±0.6 DIAS DE VIDA 7.68±1.02 DIAS DE VIDA



3.4 ANALISIS COMPARATIVO EN PRIMERA DETERMINACION

3.4.1 RECIEN NACIDOS PREMATUROS CON RECIEN NACIDOS A TERMINO

TABLA XL							
ANALISIS COMPARATIVO EN PRIMERA DETERMINACION							
	< 37 SEM			≥ 37 SEM			P
	n	MEDIA	EEM	n	MEDIA	EEM	
Osteocalcina	63	5,52	0,7	42	4,35	0,60	NS
Parathormona	63	82,16	4,51	42	75,66	4,45	p<0,05
Calcitonina	63	0,430	0,082	42	0,199	0,053	p<0,05
Calcio sérico	63	8,96	0,18	42	9,32	0,15	NS
Fósforo inorgánico	63	6,27	0,14	42	6,48	0,26	p<0,05
Fosfatasa Alcalina	63	494,61	26,82	42	380,59	15,81	p<0,05
Calcio urinario	63	3,09	0,48	42	4,24	1,22	p<0,05
Fósforo urinario	63	8,86	0,14	42	8,55	1,62	NS
Creatinina	63	12,94	0,74	42	31,01	5,26	p<0,05
Hidroxiprolina	63	85,91	26,18	42	110,44	16,96	NS

Los niveles séricos de PTH, CT y fosfatasa alcalina obtenidos en recién nacidos prematuros fueron significativamente más elevados a los encontrados en recién nacidos a término ($p<0.05$; ANOVA), al contrario que ocurrió con los de fósforo inorgánico ($p<0.05$; ANOVA). En orina, tanto el calcio como la creatinina, presentaron niveles inferiores en recién nacidos prematuros ($p<0.05$; ANOVA).

3.4.2 RECIEN NACIDOS PREMATUROS CON RECIEN NACIDOS QUE PRESENTARON SUFRIMIENTO FETAL AGUDO AL NACIMIENTO

TABLA XLI							
ANALISIS COMPARATIVO EN PRIMERA DETERMINACION							
	< 37 SEM			SFA			P
	n	MEDIA	EEM	n	MEDIA	EEM	
Osteocalcina	63	5,52	0,7	16	4,59	1,08	NS
Parathormona	63	82,16	4,51	16	68,82	7,38	NS
Calcitonina	63	0,430	0,082	16	0,524	0,216	NS
Calcio sérico	63	8,96	0,18	16	9,38	0,27	NS
Fósforo inorgánico	63	6,27	0,14	16	6,08	0,37	NS
Fosfatasa Alcalina	63	494,61	26,82	16	382,62	43,35	NS
Calcio urinario	63	3,09	0,48	16	4,18	1,00	NS
Fósforo urinario	63	8,86	0,14	16	3,42	1,35	NS
Creatinina	63	12,94	0,74	16	18,17	4,11	p<0,05
Hidroxiprolina	63	85,91	26,18	16	33,66	5,95	NS

En la tabla XLI, al comparar recién nacidos prematuros con niños que presentaron hipoxia perinatal, sólo se destaca los niveles más elevados de creatinina detectados en recién nacidos con sufrimiento fetal agudo ($p < 0.05$; ANOVA).

3.4.3 RECIEN NACIDOS A TERMINO CON RECIEN NACIDOS QUE PRESENTARON SUFRIMIENTO FETAL AGUDO AL NACIMIENTO

TABLA XLII							
ANALISIS COMPARATIVO EN PRIMERA DETERMINACION							
	≥ 37 SEM			SFA			P
	n	MEDIA	EEM	n	MEDIA	EEM	
Osteocalcina	42	4,35	0,60	16	4,59	1,08	NS
Parathormona	42	75,66	4,45	16	68,82	7,38	NS
Calcitonina	42	0,199	0,053	16	0,524	0,216	p<0,05
Calcio sérico	42	9,32	0,15	16	9,38	0,27	NS
Fósforo inorgánico	42	6,48	0,26	16	6,08	0,37	NS
Fosfatasa Alcalina	42	380,59	15,81	16	382,62	43,35	p<0,05
Calcio urinario	42	4,24	1,22	16	4,18	1,00	NS
Fósforo urinario	42	8,55	1,62	16	3,42	1,35	NS
Creatinina	42	31,01	5,26	16	18,17	4,11	NS
Hidroxi prolina	42	110,44	16,96	16	33,66	5,95	p<0,05

En niños nacidos a término los niveles séricos de CT y fosfatasa alcalina son significativamente más bajos en relación a los niños que presentaron hipoxia perinatal (p<0.05; ANOVA)(Tabla XLII).

3.4.4 CORRELACION DE MARCADORES EN RECIEN NACIDOS
PREMATUROS

TABLA XLIII										
MATRIZ DE CORRELACION DE VALORES EN RECIEN NACIDOS PREMATUROS EN PRIMERA DETERMINACION										
Coeficiente de correlacion de Pearson										
	BGP	PTH	CT	Ca	P	FA	CaU	PU	Crtn	HPU
BGP	1,000									
PTH	- 0,092 p=NS	1,000								
CT	- 0,078 p=NS	0,150 p=NS	1,000							
Ca	0,178 p=NS	- 0,204 p=NS	- 0,406 p<0,05	1,000						
P	0,054 p=NS	0,116 p=NS	0,099 p=NS	- 0,030 p=NS	1,000					
FA	0,110 p=NS	0,030 p=NS	- 0,030 p=NS	0,218 p=NS	- 0,111 p=NS	1,000				
CaU	0,110 p=NS	- 0,285 p<0,05	- 0,013 p=NS	0,358 p<0,05	- 0,096 p=NS	0,152 p=NS	1,000			
PU	0,011 p=NS	0,183 p=NS	- 0,015 p=NS	- 0,045 p=NS	0,226 p=NS	0,032 p=NS	- 0,153 p=NS	1,000		
Crtn	- 0,199 p=NS	- 0,051 p=NS	- 0,203 p=NS	0,051 p=NS	0,137 p=NS	- 0,149 p=NS	0,108 p=NS	0,007 p=NS	1,000	
HPU	- 0,036 p=NS	- 0,213 p=NS	0,193 p=NS	- 0,382 p<0,05	- 0,261 p<0,05	- 0,230 p=NS	0,030 p=NS	- 0,053 p=NS	0,047 p=NS	1,000

Se observa correlación de calcio sérico con CT, calcio urinario e hidroxiprolina (p<0.05); de PTH con calcio urinario (p<0.05) y de hidroxiprolina con fósforo inorgánico (p<0.05) (Tabla XLIII).

3.4.5 CORRELACION DE MARCADORES EN RECIEN NACIDOS A TERMINO

TABLA XLIV										
MATRIZ DE CORRELACION DE VALORES EN RECIEN NACIDOS A TERMINO EN PRIMERA DETERMINACION										
Coeficiente de correlacion de Pearson										
	BGP	PTH	CT	Ca	P	FA	CaU	PU	Crtn	HPU
BGP	1,000									
PTH	- 0,243 p=NS	1,000								
CT	0,298 p=NS	0,078 p=NS	1,000							
Ca	0,339 p<0,05	- 0,414 p<0,05	- 0,056 p=NS	1,000						
P	0,054 p=NS	- 0,163 p=NS	- 0,263 p=NS	0,197 p=NS	1,000					
FA	- 0,199 p=NS	- 0,008 p=NS	- 0,002 p=NS	- 0,218 p=NS	0,323 p<0,05	1,000				
CaU	- 0,068 p=NS	0,091 p=NS	- 0,069 p=NS	- 0,127 p=NS	- 0,059 p=NS	0,385 p<0,05	1,000			
PU	- 0,147 p=NS	- 0,012 p=NS	- 0,165 p=NS	- 0,157 p=NS	0,306 p<0,05	0,194 p=NS	0,454 p<0,05	1,000		
Crtn	- 0,120 p=NS	- 0,092 p=NS	- 0,132 p=NS	- 0,081 p=NS	0,276 p=NS	0,085 p=NS	- 0,017 p=NS	0,098 p=NS	1,000	
HPU	- 0,225 p=NS	- 0,132 p=NS	- 0,145 p=NS	- 0,103 p=NS	0,085 p=NS	0,077 p=NS	- 0,179 p=NS	0,033 p=NS	0,142 p=NS	1,000

En la correlación de marcadores en recién nacidos a término expuesta en la tabla XLIV observamos correlación de calcio sérico con BGP y PTH ; calcio urinario con fosfatasa alcalina y fósforo urinario y de fósforo urinario con fósforo inorgánico (p<0.05).

3.4.6 CORRELACION DE MARCADORES EN RECIEN NACIDOS
CON SUFRIMIENTO FETAL AGUDO AL NACIMIENTO

TABLA XLV										
MATRIZ DE CORRELACION DE VALORES EN RECIEN NACIDOS CON S.F.A. AL NACIMIENTO EN PRIMERA DETERMINACION										
Coeficiente de correlacion de Pearson										
	BGP	PTH	CT	Ca	P	FA	CaU	PU	Crtn	HPU
BGP	1,000									
PTH	- 0,057 p=NS	1,000								
CT	- 0,259 p=NS	0,032 p=NS	1,000							
Ca	0,164 p=NS	- 0,092 p=NS	- 0,454 p=NS	1,000						
P	0,232 p=NS	0,260 p=NS	0,149 p=NS	0,115 p=NS	1,000					
FA	0,653 p<0,05	0,011 p=NS	- 0,053 p=NS	0,120 p=NS	0,193 p=NS	1,000				
CaU	- 0,062 p=NS	- 0,279 p=NS	0,020 p=NS	0,060 p=NS	- 0,326 p=NS	- 0,254 p=NS	1,000			
PU	- 0,002 p=NS	- 0,008 p=NS	0,362 p=NS	0,117 p=NS	0,271 p=NS	0,025 p=NS	0,104 p=NS	1,000		
Crtn	- 0,170 p=NS	- 0,185 p=NS	- 0,064 p=NS	- 0,053 p=NS	- 0,070 p=NS	- 0,105 p=NS	0,216 p=NS	0,348 p=NS	1,000	
HPU	- 0,261 p=NS	0,269 p=NS	- 0,296 p=NS	- 0,079 p=NS	0,026 p=NS	- 0,006 p=NS	0,225 p=NS	- 0,370 p=NS	- 0,245 p=NS	1,000

En el grupo de niños que presentaron hipoxia perinatal al nacimiento existe correlación lineal simple y directa de BGP con fosfatasa alcalina ($p<0.05$) (Tabla XLV).

3.5 ANALISIS COMPARATIVO EN SEGUNDA DETERMINACION

3.5.1 RECIEN NACIDOS PREMATUROS CON RECIEN NACIDOS A TERMINO

TABLA XLVI							
ANALISIS COMPARATIVO EN SEGUNDA DETERMINACION							
	< 37 SEM			≥ 37 SEM			P
	n	MEDIA	EEM	n	MEDIA	EEM	
Osteocalcina	63	9,27	0,81	42	8,17	1,01	NS
Parathormona	63	74,79	3,91	42	60	2,46	p<0,05
Calcitonina	63	0,100	0,014	42	0,040	0,009	NS
Calcio sérico	63	9,96	0,13	42	9,40	0,207	NS
Fósforo inorgánico	63	6,23	0,15	42	6,41	0,18	NS
Fosfatasa Alcalina	63	535,55	25,34	42	377,61	16,57	p<0,05
Calcio urinario	63	5,26	0,85	42	4,35	1,22	NS
Fósforo urinario	63	11,01	3,74	42	11,18	1,72	NS
Creatinina	63	10,78	0,51	42	13,13	1,31	NS
Hidroxiprolina	63	82,45	13,95	42	75,67	11,05	NS

En la tabla XLVI se muestra el análisis comparativo entre recién nacidos prematuros y a término, destacándose niveles séricos significativamente más altos de PTH y fosfatasa alcalina en recién nacidos prematuros ($p<0.05$; ANOVA).

3.5.2 RECIEN NACIDOS PREMATUROS CON RECIEN NACIDOS
CON SUFRIMIENTO FETAL AGUDO AL NACIMIENTO

TABLA XLVII							
ANALISIS COMPARATIVO EN SEGUNDA DETERMINACION							
	< 37 SEM			S.F.A.			P
	n	MEDIA	EEM	n	MEDIA	EEM	
Osteocalcina	63	9,27	0,81	16	5,89	0,91	p<0,05
Parathormona	63	74,79	3,91	16	68,46	6,46	NS
Calcitonina	63	0,100	0,014	16	0,032	0,012	NS
Calcio sérico	63	9,96	0,13	16	9,23	0,22	NS
Fósforo inorgánico	63	6,23	0,15	16	6,68	0,34	NS
Fosfatasa Alcalina	63	535,55	25,34	16	387,43	34,42	NS
Calcio urinario	63	5,26	0,85	16	4,04	1,43	NS
Fósforo urinario	63	11,01	3,74	16	25,90	11,96	NS
Creatinina	63	10,78	0,51	16	15,07	1,72	p<0,05
Hidroxiprolina	63	82,45	13,95	16	57,91	11,82	NS

Los niveles séricos de BGP en recién nacidos prematuros son significativamente más elevados que los obtenidos en niños con hipoxia perinatal (p<0.05; ANOVA) (Tabla XLVIII).

3.5.3 RECIEN NACIDOS A TERMINO CON RECIEN NACIDOS CON SUFRIMIENTO FETAL AGUDO AL NACIMIENTO

TABLA XLVIII							
ANALISIS COMPARATIVO EN SEGUNDA DETERMINACION							
	≥ 37 SEM			S.F.A.			P
	n	MEDIA	EEM	n	MEDIA	EEM	
Osteocalcina	42	8,17	1,01	16	5,89	0,91	p<0,05
Parathormona	42	60	2,46	16	68,46	6,46	NS
Calcitonina	42	0,040	0,009	16	0,032	0,012	NS
Calcio sérico	42	9,40	0,207	16	9,23	0,22	NS
Fósforo inorgánico	42	6,41	0,18	16	6,68	0,34	NS
Fosfatasa Alcalina	42	377,61	16,57	16	387,43	34,42	NS
Calcio urinario	42	4,35	1,22	16	4,04	1,43	NS
Fósforo urinario	42	11,18	1,72	16	25,90	11,96	p<0,05
Creatinina	42	13,13	1,31	16	15,07	1,72	NS
Hidroxi prolina	42	75,67	11,05	16	57,91	11,82	NS

Los niveles séricos de BGP en niños nacidos a término son significativamente más altos que los obtenidos en niños con hipoxia perinatal (p<0.05; ANOVA) (Tabla XLVIII).

3.5.4 CORRELACION DE MARCADORES EN RECIEN NACIDOS
PREMATUROS

TABLA XLIX										
MATRIZ DE CORRELACION DE VALORES EN RECIEN NACIDOS PREMATUROS EN SEGUNDA DETERMINACION										
Coeficiente de correlacion de Pearson										
	BGP	PTH	CT	Ca	P	FA	CaU	PU	Crtn	HPU
BGP	1,000									
PTH	- 0,129 p=NS	1,000								
CT	- 0,059 p=NS	0,099 p=NS	1,000							
Ca	- 0,157 p=NS	- 0,201 p=NS	- 0,024 p=NS	1,000						
P	0,070 p=NS	0,159 p=NS	- 0,087 p=NS	- 0,088 p=NS	1,000					
FA	- 0,158 p=NS	0,166 p=NS	0,151 p=NS	- 0,033 p=NS	- 0,057 p=NS	1,000				
CaU	0,068 p=NS	- 0,239 p=NS	0,044 p=NS	0,157 p=NS	- 0,372 p<0,05	0,162 p=NS	1,000			
PU	0,048 p=NS	- 0,034 p=NS	- 0,121 p=NS	0,146 p=NS	- 0,076 p=NS	0,069 p=NS	0,116 p=NS	1,000		
Crtn	- 0,194 p=NS	0,117 p=NS	- 0,026 p=NS	0,212 p=NS	0,047 p=NS	- 0,021 p=NS	- 0,109 p=NS	- 0,107 p=NS	1,000	
HPU	0,225 p=NS	0,074 p=NS	0,015 p=NS	- 0,088 p=NS	0,072 p=NS	- 0,112 p=NS	0,298 p<0,05	- 0,072 p=NS	0,037 p=NS	1,000

En recién nacidos prematuros en su segunda determinación, se aprecia correlación de calcio urinario con fósforo inorgánico e hidroxiprolina urinaria ($p<0.05$) (Tabla XLIX).

3.5.5 CORRELACION DE MARCADORES EN RECIEN NACIDOS A TERMINO

TABLA L										
MATRIZ DE CORRELACION DE VALORES EN RECIEN NACIDOS A TERMINO EN SEGUNDA DETERMINACION										
Coeficiente de correlacion de Pearson										
	BGP	PTH	CT	Ca	P	FA	CaU	PU	Crtn	HPU
BGP	1,000									
PTH	0,018 p=NS	1,000								
CT	0,388 p<0,05	- 0,068 p=NS	1,000							
Ca	0,112 p=NS	- 0,244 p=NS	0,068 p=NS	1,000						
P	0,028 p=NS	0,162 p=NS	- 0,357 p<0,05	0,249 p=NS	1,000					
FA	0,082 p=NS	0,080 p=NS	0,006 p=NS	- 0,024 p=NS	0,193 p=NS	1,000				
CaU	- 0,090 p=NS	- 0,231 p=NS	0,080 p=NS	0,101 p=NS	- 0,083 p=NS	- 0,102 p=NS	1,000			
PU	- 0,373 p<0,05	0,160 p=NS	- 0,357 p<0,05	- 0,126 p=NS	0,221 p=NS	0,284 p=NS	0,056 p=NS	1,000		
Crtn	- 0,225 p=NS	- 0,227 p=NS	0,284 p=NS	- 0,131 p=NS	- 0,490 p=NS	- 0,101 p=NS	- 0,021 p=NS	- 0,045 p=NS	1,000	
HPU	0,146 p=NS	0,022 p=NS	0,179 p=NS	0,109 p=NS	- 0,093 p=NS	0,055 p=NS	0,201 p=NS	- 0,041 p=NS	- 0,102 p=NS	1,000

En la correlación de marcadores en niños nacidos a término en su segunda determinación, destacamos la existente entre BGP con CT y fósforo urinario y la de CT con fósforo inorgánico y fósforo urinario (p<0.05) (Tabla L).

**3.5.6 CORRELACION DE MARCADORES EN RECIEN NACIDOS
CON SUFRIMIENTO FETAL AGUDO AL NACIMIENTO**

TABLA LI										
MATRIZ DE CORRELACION DE VALORES EN RECIEN NACIDOS CON S.F.A. EN SEGUNDA DETERMINACION										
Coeficiente de correlacion de Pearson										
	BGP	PTH	CT	Ca	P	FA	CaU	PU	Crtn	HPU
BGP	1,000									
PTH	- 0,535 p<0,05	1,000								
CT	0,110 p=NS	- 0,208 p=NS	1,000							
Ca	0,558 p<0,05	- 0,365 p=NS	0,091 p=NS	1,000						
P	0,477 p=NS	- 0,342 p=NS	0,210 p=NS	0,660 p<0,05	1,000					
FA	0,543 p<0,05	- 0,441 p=NS	- 0,287 p=NS	0,334 p=NS	0,526 p<0,05	1,000				
CaU	0,007 p=NS	- 0,248 p=NS	0,013 p=NS	0,110 p=NS	- 0,207 p=NS	- 0,410 p=NS	1,000			
PU	- 0,045 p=NS	- 0,112 p=NS	- 0,199 p=NS	0,250 p=NS	- 0,249 p=NS	- 0,153 p=NS	0,625 p<0,05	1,000		
Crtn	- 0,423 p=NS	0,344 p=NS	0,042 p=NS	- 0,813 p<0,05	- 0,632 p<0,05	- 0,320 p=NS	0,081 p=NS	- 0,094 p=NS	1,000	
HPU	0,180 p=NS	0,039 p=NS	- 0,135 p=NS	- 0,127 p=NS	- 0,090 p=NS	0,358 p=NS	- 0,263 p=NS	- 0,076 p=NS	- 0,006 p=NS	1,000

Se observa correlación entre los diversos marcadores: BGP con PTH, calcio sérico y fosfatasa alcalina; y fósforo inorgánico con calcio sérico, fosfatasa alcalina y creatinina (p<0.05) (Tabla LI).

4.- MARCADORES DEL METABOLISMO OSEO Y FOSFOCALCICO DE LA POBLACION ESTUDIADA DIFERENCIADA SEGUN SI PRECISARON APOORTE INTRAVENOSO DE CALCIO

4.1 MARCADORES EN PRIMERA DETERMINACION

TABLA LII							
ANALISIS COMPARATIVO EN PRIMERA DETERMINACION							
	SIN APOORTE I.V.* DE CALCIO			CON APOORTE I.V.* DE CALCIO			p
	n	MEDIA	EEM	n	MEDIA	EEM	
Osteocalcina	67	5.28	0.66	54	4.64	0.56	NS
Parathormona	67	81.34	3.76	54	74.17	4.77	NS
Calcitonina	67	0.417	0.085	54	0.294	0.064	NS
Calcio sérico	67	9.01	0.12	54	9.30	0.20	NS
Fósforo inorgánico	67	6.41	0.17	54	6.20	0.19	NS
Fosfatasa Alcalina	67	453.34	24.43	54	423.96	22.24	NS
Calcio urinario	67	3.40	0.72	54	3.93	0.70	NS
Fósforo urinario	67	8.99	1.43	54	6.85	1.97	NS
Creatinina	67	20.57	3.22	54	19.08	2.38	NS
Hidroxiprolina	67	75.93	10.68	54	101.88	30.85	NS

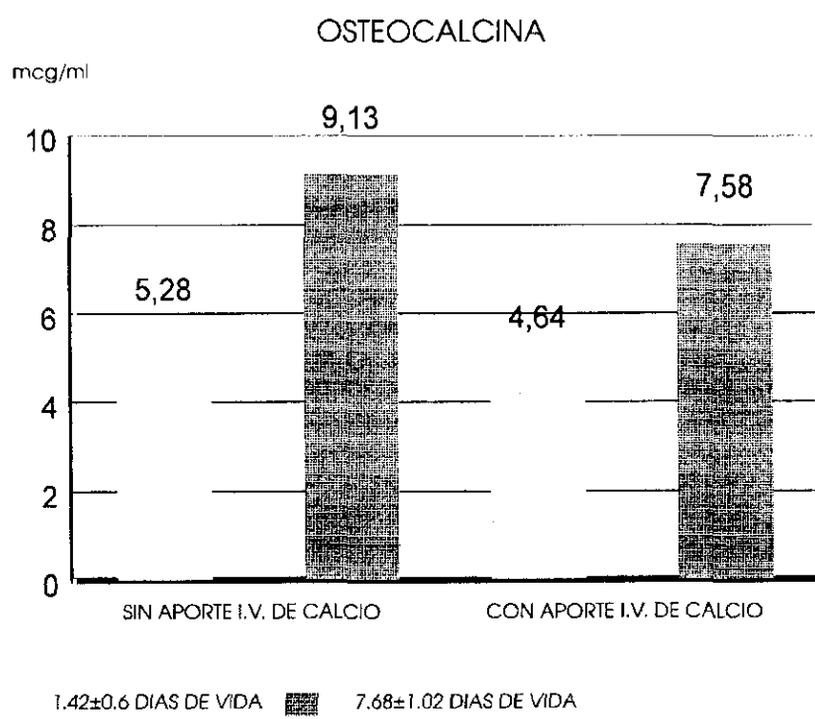
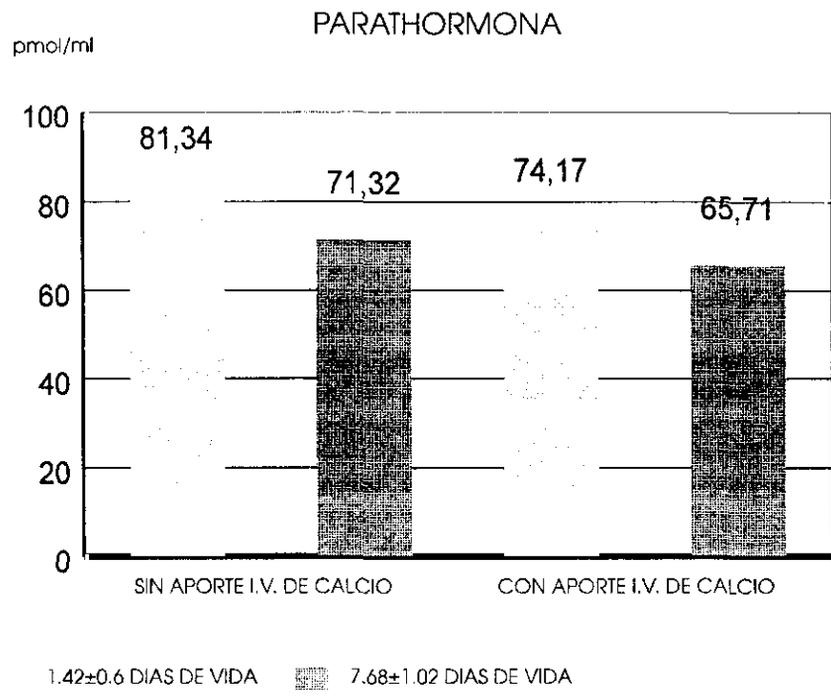
* I.V. : intravenoso

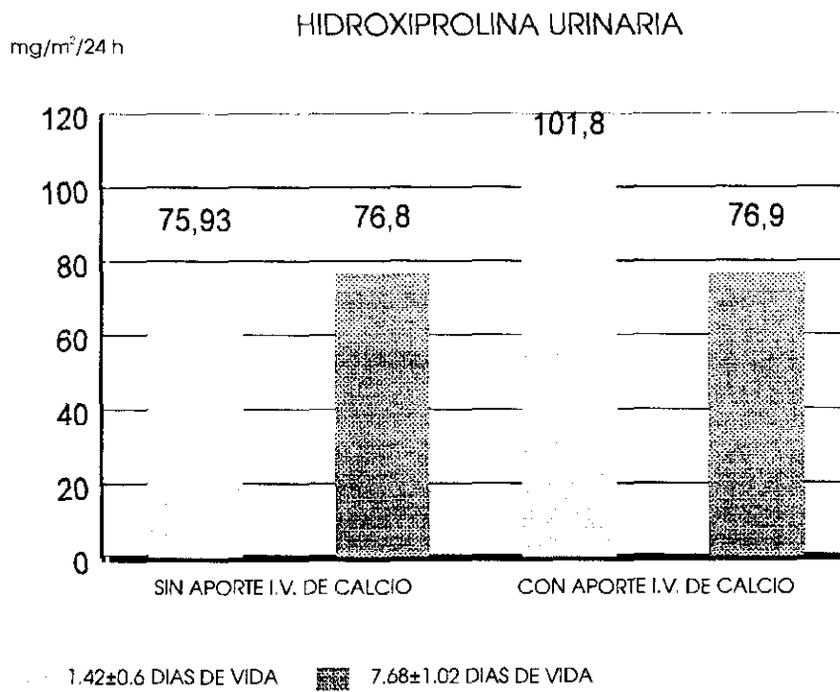
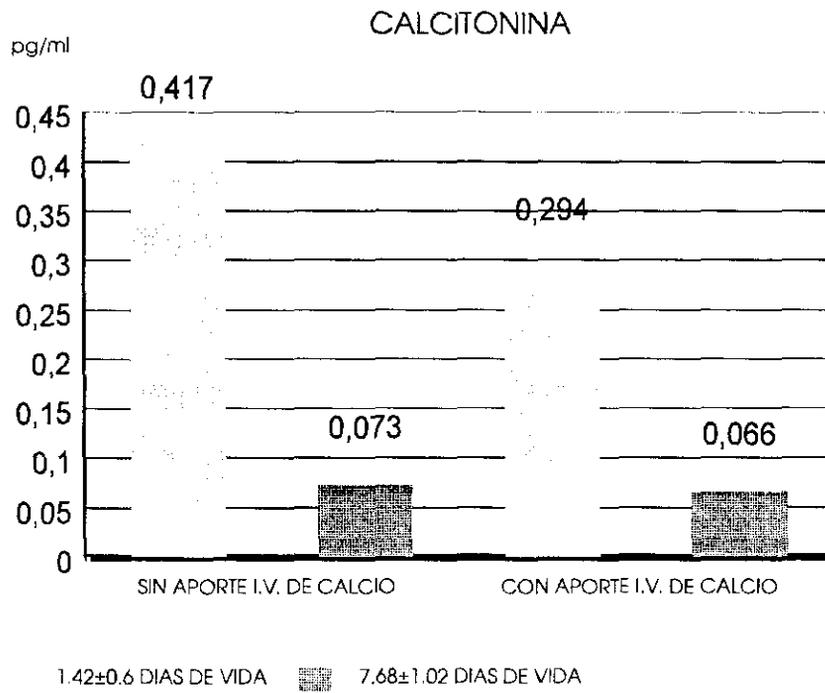
En la tabla LII se muestra el análisis comparativo de los niños que precisaron aporte intravenoso con los que no lo precisaron, y se observa que no existen diferencias significativas en ningún marcador.

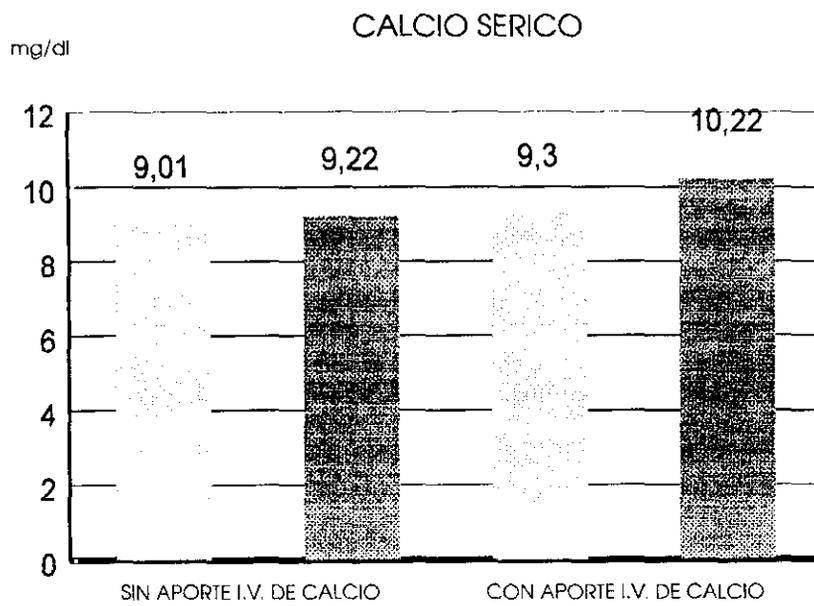
4.2 MARCADORES EN SEGUNDA DETERMINACION

TABLA LIII							
ANALISIS COMPARATIVO EN SEGUNDA DETERMINACION							
	SIN APORTE I.V.* DE CALCIO			CON APORTE I.V.* DE CALCIO			p
	n	MEDIA	EEM	n	MEDIA	<u>EEM</u>	
Osteocalcina	67	9.13	0.73	54	7.58	0.87	NS
Parathormona	67	71.32	3.59	54	65.71	3.12	NS
Calcitonina	67	0.073	0.012	54	0.066	0.011	NS
Calcio sérico	67	9.22	0.11	54	10.22	0.15	NS
Fósforo inorgánico	67	6.40	0.14	54	6.29	0.17	NS
Fosfatasa Alcalina	67	471.02	25.95	54	448.88	18.69	NS
Calcio urinario	67	4.36	0.94	54	5.31	0.83	NS
Fósforo urinario	67	10.25	1.18	54	16.50	5.60	p<0.05
Creatinina	67	12.20	0.90	54	12.11	0.69	NS
Hidroxi prolina	67	76.80	12.40	54	76.91	10.76	NS

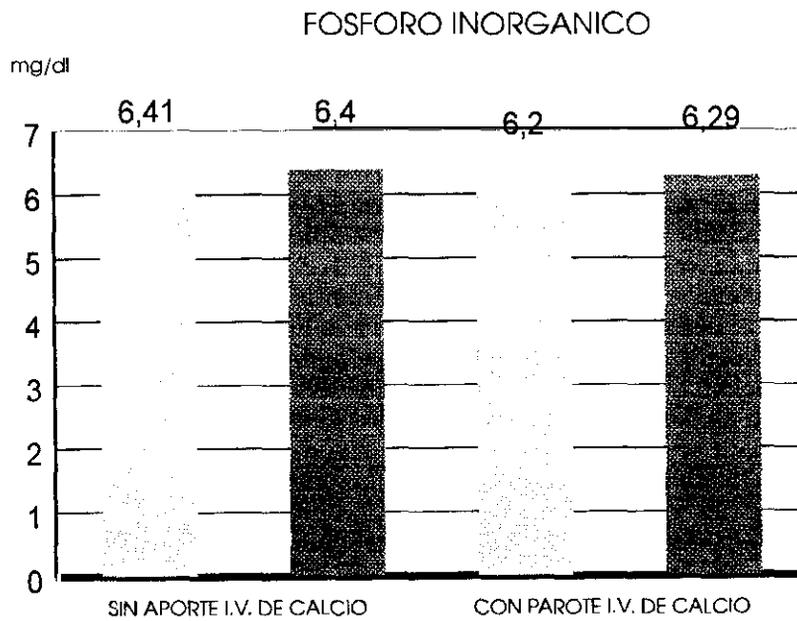
En la tabla LIII se muestran los marcadores del grupo estudiado a la semana de vida, comparando niños que precisaron de aporte intravenoso de calcio con los que no lo precisaron, encontrándose significación en los valores de fósforo urinario, más altos en los niños que recibieron aporte intravenoso de calcio.







1.42 ± 0.6 DIAS DE VIDA 7.68 ± 1.02 DIAS DE VIDA



1.42 ± 0.6 DIAS DE VIDA 7.68 ± 1.02 DIAS DE VIDA

5 MARCADORES DEL METABOLISMO FOSFOCALCICO Y OSEO EN
RECIEN NACIDOS SIN APORTE INTRAVENOSO DE CALCIO

TABLA LIV								
MARCADORES EN RECIEN NACIDOS SIN APORTE I.V. DE CALCIO								
	1ª DETERMINACION			2ª DETERMINACION			t	p
	n	MEDIA	EEM	n	MEDIA	EEM		
Osteocalcina	67	5.28	0.66	67	9.13	0.73	-3.89	p<0.05
Parathormona	67	81.34	3.76	67	71.32	3.59	1.93	NS
Calcitonina	67	0.417	0.085	67	0.073	0.012	4	p<0.05
Calcio sérico	67	9.01	0.12	67	9.22	0.11	-1.19	NS
Fósforo inorgánico	67	6.41	0.17	67	6.40	0.14	0.06	NS
Fosfatasa Alcalina	67	453	24	67	471	25	-0.5	NS
Calcio urinario	67	3.40	0.72	67	4.36	0.94	-0.81	NS
Fósforo urinario	67	8.99	1.43	67	10.25	1.18	-0.68	NS
Creatinina	67	20.57	3.22	67	12.20	0.90	2.5	p<0.05
Hidroxirolina	67	75.93	10.68	67	76.80	12.4	-0.5	NS

6 MARCADORES DEL METABOLISMO FOSFOCALCICO Y OSEO EN
RECIEN NACIDOS QUE RECIBIERON APORTE INTRAVENOSO DE CALCIO

TABLA LV								
MARCADORES EN RECIEN NACIDOS CON APORTE I.V. DE CALCIO								
	1ª DETERMINACION			2ª DETERMINACION			t	p
	n	MEDIA	EEM	n	MEDIA	EEM		
Osteocalcina	54	4.64	0.56	54	7.58	0.87	-2.82	p<0.05
Parathormona	54	74.17	4.77	54	65.71	3.12	1.48	NS
Calcitonina	54	0.294	0.064	54	0.066	0.011	3.51	p<0.05
Calcio sérico	54	9.30	0.20	54	10.22	0.15	-3.6	p<0.05
Fósforo inorgánico	54	6.20	0.19	54	6.29	0.17	-0.36	NS
Fosfatasa Alcalina	54	423	22	54	448	18	-0.86	NS
Calcio urinario	54	3.93	0.70	54	5.31	0.83	-1.26	NS
Fósforo urinario	54	6.85	1.97	54	16.5	5.6	-1.62	NS
Creatinina	54	19.08	2.38	54	12.11	0.69	2.81	p<0.05
Hidroxiprolina	54	101.8	30.8	54	76.9	10.7	0.76	NS

En la tabla LV se refleja el grupo de niños que recibieron calcio intravenoso, destacando el ascenso significativo de la calcemia ($p<0.05$)(Test t Student).

DISCUSSION

V) *DISCUSION*

Hemos planteado la discusión según las dos clasificaciones que se han realizado con el grupo de recién nacidos. En la primera se hace una valoración de los marcadores del remodelamiento óseo según los pesos al nacimiento. En la segunda clasificación se discuten los cambios que acontecen en estos marcadores en relación con la edad gestacional y la existencia o no de hipoxia perinatal.

1.- OSTEOCALCINA

En el conjunto de niños estudiados, la BGP sérica asciende durante la primera semana de vida de forma significativa (4.99 ± 0.44 mcg/ml en la primera determinación frente a 8.44 ± 0.56 mcg/ml en la segunda determinación; $p < 0.05$). Estos hechos fueron ya observados por Avramides y cols. (167), así como por Mimouni y cols., lo que quizás pueda explicarse por un aumento de la liberación desde el hueso en el postparto (168). Iguales resultados obtienen Sanchez y cols. (169) con respecto al periodo neonatal precoz y tardío, para lo cual también argumentan la misma teoría.

En nuestro estudio observamos que la diferencia en los niveles séricos de BGP entre la primera y segunda determinación es significativa en prematuros (5.52 ± 0.7 mcg/ml en primera determinación frente a 9.27 ± 0.81 mcg/ml en la segunda; $p < 0.05$) (Tabla XXXVII) y en recién nacidos a término (4.35 ± 0.6 microgr./ml en primera determinación frente a 8.17 ± 1.01 mcg/ml en segunda; $p < 0.05$) (Tabla XXXVIII), pero al clasificar los recién nacidos atendiendo al peso, es a partir de más de 1500 gr. cuando se encuentra una diferencia significativa respecto a los de peso igual o inferior a 1500gr., por lo que podemos afirmar que en recién nacidos de menos de 1500 gr., y por tanto en

grandes prematuros, la formación ósea es menor, no siendo significativos los ascensos de BGP en la segunda determinación con respecto a la primera (Recién nacidos de peso igual o inferior a 1500 gr.: 4.58 ± 0.84 mcg/ml en primera determinación frente a 7.19 ± 1.34 mcg/ml en la segunda; p:NS) (Tabla XIII).

En el grupo de niños que sufrió hipoxia perinatal, a pesar de aumentar los niveles séricos de BGP en la segunda determinación, este incremento no es significativo, lo cual parece deberse a que la formación ósea en estos recién nacidos está enlentecida, como consecuencia de dicha hipoxia (4.59 ± 1.08 mcg/ml en primera determinación frente a 5.89 ± 0.91 mcg/ml en segunda; p:NS) (Tabla XLII).

Igualmente al estudio realizado con pacientes que recibieron administración parenteral de calcio no ha influido significativamente en la variación de los niveles séricos de BGP (5.28 ± 0.64 mcg/ml en primera determinación en pacientes que no recibieron aporte intravenoso de calcio frente a 4.64 ± 0.56 mcg/ml en niños que precisaron de dicho aporte, p:NS; 9.13 ± 0.73 mcg/ml en segunda determinación en pacientes que no recibieron aporte intravenoso de calcio frente a 7.58 ± 0.87 mcg/ml en niños que precisaron dicho aporte, p:NS).

2.- HORMONA PARATIROIDEA

En todos los recién nacidos, los niveles séricos de PTH en la primera determinación fueron superiores a los de la segunda ($78.14 \text{ pmol/ml} \pm 2.98$ frente a $68.28 \pm 2.43 \text{ pmol/ml}$) (Tabla X), y son mayores dichos valores cuanto más bajo sea el peso del recién nacido. Han resultado ser significativos los descensos de PTH a la semana de vida en recién nacidos de peso igual o inferior a 1500 gr ($109.43 \pm 10.4 \text{ pmol/ml}$ en primera determinación frente a $78.21 \pm 6.46 \text{ pmol/ml}$ en segunda; $p < 0.05$) (Tabla XIII). El estudio realizado por Villanueva y cols. (170) concuerda con nuestros resultados, observándose en el mismo que la concentración sérica de PTH desciende tras el ascenso que sufre en las primeras horas de vida, justificable igualmente por el aclaramiento renal de la PTH fetal que también se detecta en nuestra metodología. Igualmente Mimouni y cols (168) encuentran que entre las 2 y 24 horas postparto se produce un ascenso de la PTH para posteriormente disminuir.

Janas y cols. (171) en un estudio longitudinal de los niveles séricos de PTH en 30 recién nacidos a los 2, 7 y 14 días postnatales demuestran un descenso progresivo de PTH. Kruse y Küstermann (172) concluyen que los recién nacidos pretérmino pasarían por un estado de pseudohipoparatiroidismo transitorio en la primera semana de vida postnatal, como reflejo de la inmadurez de la respuesta renal y posiblemente también de la ósea a la PTH. Pitkin (46,53,173,174,175) apoya dicha teoría, postulando igualmente que durante el periodo neonatal se produce un estado de hipo o pseudohipoparatiroidismo. Aunque estos autores interpretan estos hechos como posible factor etiológico de la hipocalcemia de la prematuridad, realmente se puede explicar mejor como un fenómeno consecuente al cese del aporte materno de calcio y a las dificultades metabólicas de estabilizar las necesidades minerales durante el periodo neonatal en los prematuros (176, 177 y 178). También este pseudohipoparatiroidismo transitorio puede ser estrictamente fisiológico para mantener el ritmo de crecimiento, tras encontrarse el recién nacido en condiciones adversas en relación a las existentes intraútero.

A pesar de que nuestro estudio no permite concretar los efectos que pueda tener un determinado nivel sanguíneo de PTH, sí se puede decir que en general hay

variaciones estadísticamente significativas de la inmunoreactividad sérica de la hormona a lo largo del periodo neonatal posiblemente debida a los recién nacidos de muy bajo peso al nacimiento (≤ 1500 gr.), los cuales mantienen los niveles más elevados de PTH en sangre (109.43 ± 10.4 pmol/ml en primera determinación frente a 78.21 ± 6.46 pmol/ml en segunda; $p < 0.05$) (Tabla XIII). Estos resultados son superponibles a los de Beceiro y cols. (179) que afirman que se produce un descenso de PTH en el periodo neonatal tardío que viene a estabilizarse aproximadamente a las 4 semanas de vida, aunque estos autores limitan su estudio a 11 recién nacidos. A los mismos resultados llegan Kruse y cols. en un estudio con 26 recién nacidos.

En el estudio de los niños que presentaron hipoxia perinatal al nacimiento, se mantiene el mismo patrón de descenso de PTH en el periodo neonatal tardío, pero dicho descenso es mínimo (68.82 ± 7.38 pmol/ml en primera determinación frente a 68.46 ± 6.46 pmol/ml en segunda; $p < 0.05$) (Tabla XXXIX), ello hace pensar que probablemente la resorción ósea está disminuida, e igualmente debe estarlo la osteoformación, pues el ascenso de BGP en este grupo también es poco acentuado, lo que parece demostrar que el turnover óseo es poco activo.

Al estudiar el grupo de recién nacidos que recibieron aporte intravenoso de calcio desde el nacimiento (Tabla LI, LII) se puede observar que no existen diferencias significativas de los niveles séricos hormonales de parathormona con respecto al grupo de niños que no recibieron dicho aporte.

3.- CALCITONINA

Los valores séricos de CT en la primera determinación son más elevados que en la segunda, siendo estadísticamente significativas dichas diferencias (Test t de Student para muestras pareadas) (0.363 ± 0.055 pgr/ml en primera determinación frente a 0.071 ± 0.009 pgr/ml en segunda; $p < 0.05$) (Tabla X), lo cual ratifica lo ya expuesto por Munson (86), que afirma que dicho aumento al nacimiento antagoniza el papel fisiológico de la PTH para mantener el equilibrio del calcio en el líquido extracelular, evitando una alteración del turnover óseo por inhibir el fenómeno de resorción estimulado por la PTH. A igual conclusión llegan Galán y cols al estudiar la función de la tirocalcitonina en 25 recién nacidos (101).

Hemos encontrado los niveles más elevados de CT en recién nacidos de peso igual o inferior a 1500 gr. (0.674 ± 0.219 pgr/ml en primera determinación frente a 0.124 ± 0.024 pgr/ml en segunda; $p < 0.05$) (Tabla XIII), al igual que ocurre con PTH.

Al dividir el grupo por edad gestacional, observamos que los recién nacidos prematuros mantienen niveles séricos de CT más elevados (0.430 ± 0.082 pgr/ml en primera determinación frente a 0.100 ± 0.014 pgr/ml en segunda; $p < 0.05$) (Tabla XXXVII) que los recién nacidos a término (0.199 ± 0.053 pgr/ml en primera determinación frente a 0.040 ± 0.009 pgr/ml en segunda) (Tabla XXXVIII), pero sin embargo los niveles de los niños que sufrieron hipoxia perinatal, grupo que presenta enlentecimiento de la formación ósea, fueron superiores a los recién nacidos pretérmino (0.524 ± 0.216 pgr/ml en primera determinación frente a 0.032 ± 0.012 pgr/ml en segunda) (Tabla XXXIX).

Según opinión de Rowe y cols. los efectos de los niveles elevados de CT en el periodo neonatal precoz, a pesar de su gran poder hipocalcemiante, no modifican la calcemia, debido a su rápido descenso en los primeros días de vida (180)

4.- FOSFATASA ALCALINA

Según los resultados obtenidos en nuestro estudio, destacamos los niveles séricos más elevados de fosfatas alcalina cuanto mas inmaduro es el recién nacido, lo cual parece ser consecuencia del hipoparatiroidismo transitorio que presentan estos niños.

Las fosfatasa alcalinas no se correlacionaron con el resto de los marcadores séricos que reflejan el grado de remodelamiento óseo (BGP, PTH, CT), ni con las concentraciones de calcio y fósforo. Tampoco se correlacionaron con el grado de madurez alcanzado al nacimiento (edad gestacional). No se pudieron demostrar diferencias significativas en los índices de actividad enzimática según edad gestacional, y solo se observó un aumento significativo en la segunda determinación en el grupo de recién nacidos de peso comprendido entre 2001 y 2500 gr. (411.17 ± 24.09 U.I. en primera determinación frente a 485.42 ± 25.21 U.I. en segunda; $p < 0.05$) (Test t de Student). Sin embargo, sí encontramos diferencia cuando se compara el grupo de recién nacidos pretérmino con los recién nacidos a término; en los primeros los niveles de las fosfatasas alcalinas son significativamente mayores que en los segundos, tanto en la primera determinación (494.61 ± 26.82 U.I. frente a 380.59 ± 15.81 U.I.; $p < 0.05$) (Tabla XL) (ANOVA) como en la segunda (535.55 ± 25.34 U.I. frente a 377.61 ± 16.57 U.I.; $p < 0.05$) (Tabla XLVI) (ANOVA).

Ello podría justificarse por el hecho de que el recién nacido pretérmino, en condiciones adversas para desarrollar la normal osteoformación, mineralización y resorción ósea, responde con un incremento de las fosfatasas alcalinas, reflejo de un intento de adaptación para mantener una actividad osteoblástica que asegure el crecimiento, puesto que las elevaciones de este marcador serobiológico se pueden considerar como parámetro de actividad osteoblástica.

5.- CALCIO Y FOSFORO

Tanto la calcemia (9.14 ± 0.11 mg/dl en primera determinación frente a 9.67 ± 0.10 mg/dl en segunda) (Tabla X) como la fosforemia (6.32 ± 0.12 mg/dl en primera determinación frente a 6.35 ± 0.11 mg/dl en segunda) (Tabla X), mantienen sus niveles a la semana de vida, y solamente encontramos una elevación significativa del calcio sérico a los siete días de vida. Al separar del conjunto total el grupo de recién nacidos que se les aportó calcio intravenoso (9.30 ± 0.20 mg/dl a las 24 h de vida frente a 10.22 ± 0.15 mg/dl a los siete días de vida, $p < 0.05$) (Test t de Student) (Tabla LV).

Al agrupar la población según peso al nacimiento, los niveles más bajos de calcio se encontraron en las primeras horas de vida en recién nacidos de peso inferior a 1500 g. (8.81 ± 0.29 mg/dl) (Tabla XIII), lo cual coincide con otros estudios realizados por autores como Maldonado y cols. (181) que señalan que las concentraciones séricas de calcio siguen una correlación lineal y directa con la edad gestacional y peso al nacimiento.

Hay que destacar la importancia que ha adquirido en los últimos años el conocimiento de la fisiología del fósforo en neonatología (177,182), sobre todo en los recién nacidos que no han completado la gestación. Las concentraciones séricas de fósforo inorgánico descienden a lo largo del periodo neonatal precoz, tanto en los recién nacidos prematuros (6.27 ± 0.14 mg/dl en primera determinación frente a 6.23 ± 0.15 mg/dl en segunda; $p < 0.05$) (Tabla XXXVII) como en los niños nacidos a término (6.48 ± 0.26 mg/dl en primera determinación frente a 6.41 ± 0.18 mg/dl en segunda; $p < 0.05$) (Test t Student) (Tabla XXXVIII). Los niveles séricos más bajos de fósforo se detectan, al igual que ocurre con el calcio sérico, en recién nacidos prematuros, especialmente en niños de peso inferior a 1500 gr. al nacimiento. Solamente encontramos niveles séricos de fósforo inorgánico más elevados a la semana de vida que al nacimiento en recién nacidos que sufrieron hipoxia perinatal (6.08 ± 0.37 mg/dl al nacimiento frente a 6.68 ± 0.34 mg/dl a la semana de vida) posiblemente justificado por el fallo renal ocasionado por la hipoxia hística que presentaron estos recién nacidos.

Gundberg y cols (147,148), en un estudio acerca del ritmo circadiano de la BGP. No pudieron demostrar correlaciones entre este marcador sérico y los niveles de fósforo o de calcio. Este estudio se realizó en una serie de 10 adultos en la tercera década de la vida (186), por lo que aún sin ser comparable con nuestro trabajo, coincide en los resultados obtenidos, en los cuales tampoco hemos podido demostrar relación entre dichos marcadores.

Quero y cols. (178), en un artículo de revisión en el que puntualizan la asistencia y soporte nutricional a recién nacidos de bajo peso y muy bajo peso al nacer, señalan que la provisión de cantidades adecuadas de calcio y fósforo para la mineralización ósea presenta el mismo problema para recién nacidos con muy bajo peso, ya sean alimentados enteral o parenteralmente, e insisten en que un aporte de fósforo a la dosis de 30 mg/Kg/día en forma de sales de fosfato dipotásico o monosódico, que habitualmente se administran a este tipo de recién nacidos, está por debajo de las necesidades del inmaduro, lo que favorece la osteopenia y el raquitismo.

Una revisión bibliográfica realizada por Moya y cols. (178), afirma que existe una notable desproporción entre la oferta y los requisitos reales de calcio y fósforo en la nutrición del pretérmino, que explicarían la tendencia a las alteraciones ósea (osteopenia) y a un ritmo anormal del crecimiento.

6.- HIDROXIPROLINA URINARIA

La hidroxiprolina urinaria ha sido ampliamente estudiada en relación al metabolismo óseo, considerándose ésta como un parámetro diagnóstico y evolutivo de la resorción ósea, que aún está vigente. El hecho de que la metodología de recogida de la muestra pueda presentar dificultades que obliguen a rechazar algunas de las muestras obtenidas, algunos autores proponen determinar en una muestra matutina de orina el índice hidroxiprolina/creatinina, que es igualmente fiable (187,188), aunque en nuestro estudio se ha preferido utilizar la clásicamente estudiada hidroxiprolina en orina de 24 horas.

Klein y cols en 1966 en un estudio realizado en 9 recién nacidos encuentran que la hidroxiprolina aumenta desde el nacimiento hasta aproximadamente el 8º mes, en que comienza a descender progresivamente hasta adquirir los valores del adulto (189). Justifican esta evolución por una baja activación en la vía hepática de la hidroxiprolina oxidasa, y una deficiente reabsorción en túbulos renales en el recién nacido. Estos hechos no coinciden con nuestros hallazgos de los valores de hidroxiprolina que han sido por lo general, más elevados al nacimiento, descendiendo a la semana de vida (Tabla X).

Desde los estudios de Ziff y cols (190) se conoce que la excreción de hidroxiprolina en niños es mayor que en adultos, y diversos estudios posteriores por autores como Jasin y cols (191) y Kivirikko y cols (192) establecen los valores normales en el periodo comprendido desde el nacimiento al año de vida en 115.1 ± 75.3 mg/m²/24 h. En nuestro estudio los valores de hidroxiprolina urinaria descienden en la segunda determinación con respecto a la primera (87.51 ± 14.96 mg/m²/24 h. en primera determinación frente a 78.85 mg/m²/24 h. en segunda; p:NS) (Tabla X) (Test t de Student). Adzick y cols, exponen que los valores de hidroxiprolina están inversamente relacionados con la edad (193), lo cual concuerda con nuestros resultados, donde como hemos dicho los valores más altos de hidroxiprolina urinaria se obtuvieron en la primera determinación (Tabla XIV, XV, XVI, XXXVII, XXXVIII), a excepción de los recién nacidos de muy bajo peso al nacimiento (igual o inferior a 1500 gr. de peso) (45.06 ± 11.43 mg/m²/24 h. en primera determinación frente a 63.35 ± 22.54 mg/m²/24 h. en segunda;

p:NS) (Tabla XIII) (Test t de Student) y en recién nacidos que presentaron sufrimiento fetal agudo al nacimiento (33.66 ± 5.95 mg/m²/24 h. en primera determinación frente a 57.91 ± 11.82 mg/m²/24 h. en segunda; p:NS) (Tabla XXXIX) (Test t de Student), lo cual corrobora que tanto la gran inmadurez como la hipoxia perinatal, pueden alterar el turnover óseo.

Tanto en recién nacidos pretérmino como a término encontramos disminución de la hidroxiprolina en la segunda determinación respecto a los encontrados en la primera, pero solamente en recién nacidos a término este descenso es significativo (110.44 ± 16.96 mg/m²/24 h. en primera determinación frente a 75.67 ± 11.05 mg/m²/24 h. en segunda; p<0.05) (Test t de Student) (Tabla XXXVIII).

CONCLUSIONES

VI) CONCLUSIONES

- 1.- Los recién nacidos prematuros de peso inferior a 1500 gr. presentan los niveles más bajos de calcio sérico y más altos de parathormona, posiblemente debido al menor aclaramiento renal de parathormona fetal, que es poco funcinante.
- 2.- Los niveles séricos más altos de parathormona no se han acompañado, como cabría esperar, de los niveles más elevados de hidroxiprolina urinaria, lo que también podría justificarse por la existencia de parathormona fetal con escasa actividad funcionante.
- 3.- Durante la primera semana de vida los niveles séricos de parathormona descienden, a la vez que aumenta la calcemia, ambos hechos perfectamente concordantes
- 4.- Hemos observado que los niveles de parathormona y calcitonina descienden paralelamente durante la primera semana de vida, como es propio de dos hormonas estrechamente relacionadas
- 5.- La concentración sérica de calcitonina, que desciende desde el primero al séptimo día de vida, presenta sus valores mayores cuanto más baja es la concentración de calcio sérico. Los niveles más altos de calcitonina se observaron en el grupo de niños de peso igual o inferior a 1500 gr.
- 6.- La osteocalcina aumenta significativamente durante la primera semana de vida, posiblemente como consecuencia de una formación ósea muy activa en el período neonatal precoz.

7.- Hemos encontrado altos niveles de fosfatasa alcalina sérica y osteocalcina en los recién nacidos estudiados. Los niveles más elevados de ambos marcadores los presentan los recién nacidos prematuros, lo que indica una mayor actividad osteoformadora

8.- La hipoxia perinatal parece frenar la respuesta de la secreción de parathormona, siendo en el grupo de niños con esta alteración en donde se detectaron los niveles séricos más bajos de parathormona. A la vez que también encontramos en estos niños los niveles más altos de calcitonina

9.- Hemos observado el ascenso del fósforo inorgánico a lo largo de la primera semana de vida en niños que presentaron hipoxia perinatal, mientras que en el resto, como ya es conocido, dichos valores disminuyeron durante este mismo periodo. Este hecho muy posiblemente se encuentre en relación con la afectación renal debida a la hipoxia.

ANEXO

ANEXO

Relación de los resultados obtenidos del grupo estudiado de recién nacidos, donde:

eg: edad gestacional

e: edad en el momento de la recogida de muestra, donde "1" corresponde a la primera determinación a los 1.42 ± 0.6 días de vida; y "2" a la segunda determinación a los 7.68 ± 1.02 días de vida.

v: representa la variable correspondiente al aporte intravenoso de calcio, donde "1" equivale a niños que recibieron calcio intravenoso, y "0" los que no recibieron dicho.

t: talla

	eg	peso	e	bgp	pth	tct	ca	p	fa	cau	pu	crtn	hidrox	v	t
1	38	3480	1	14,0	64,00	,140	9,30	7,30	383	6,60	12,60	38,2	221,0	0	51
2	38	3600	1	,45	65,50	,480	7,96	5,00	367	,90	4,20	41,1	300,0	1	50
3	38	3040	1	3,25	77,00	,061	8,92	9,77	350	3,00	46,40	126,2	130,0	0	52
4	40	3000	1	,38	79,00	,000	10,38	7,31	644	42,80	29,50	19,4	60,00	0	50
5	39	3400	1	,22	91,70	,000	5,93	4,00	407	24,80	20,70	53,1	145,0	1	50
6	41	4720	1	,55	181,0	,053	9,15	5,07	337	,80	5,50	13,2	140,0	1	54
7	40	3520	1	4,95	19,00	,130	10,10	7,22	422	1,40	6,60	42,6	110,0	0	50
8	39	3900	1	1,24	92,00	,000	8,51	7,50	345	,50	27,29	2,0	84,00	0	51
9	41	3670	1	1,97	48,00	,000	10,15	9,13	555	4,13	,06	74,4	52,00	1	50
10	39	3670	1	,56	80,00	,130	8,52	8,48	604	,26	9,40	6,0	220,0	0	51
11	38	3320	1	10,6	41,00	,320	9,49	7,58	320	,53	7,07	39,6	60,00	0	53
12	42	3400	1	4,35	61,00	,000	10,21	8,44	338	,50	5,80	69,9	180,0	1	50
13	39	2700	1	6,00	59,00	,000	10,67	6,58	208	3,50	1,20	95,4	220,0	1	46
14	40	4260	1	2,82	82,00	,034	10,17	9,76	361	,10	18,60	35,4	150,0	0	53
15	39	3820	1	,54	91,00	,000	7,98	7,99	524	2,20	,40	178,0	146,0	0	50
16	38	3200	1	8,44	92,00	,480	8,05	7,06	403	2,00	4,20	2,3	75,00	0	50
17	40	3700	1	1,72	79,00	,000	8,05	9,44	435	,70	19,20	,3	175,0	1	52
18	39	2580	1	8,10	74,00	,360	9,77	6,82	458	,90	2,80	11,5	74,00	0	50
19	40	2675	1	10,1	56,00	,350	10,94	6,07	305	6,20	2,10	17,7	2,02	0	48
20	39	2460	1	9,20	70,00	,058	8,88	7,51	555	20,30	28,31	9,9	17,50	1	50
21	39	2480	1	8,38	71,00	,250	9,80	6,80	275	,02	8,92	11,5	88,50	1	49
22	39	3860	1	,13	96,00	,800	9,43	6,19	490	2,10	1,00	36,2	29,67	0	53
23	39	3400	1	2,31	55,00	,045	9,47	6,83	305	,14	6,34	23,8	227,0	1	53
24	38	2900	1	2,88	40,00	,059	10,07	8,41	519	,22	3,93	13,7	336,6	0	51
25	40	3700	1	2,47	69,00	,000	9,21	7,32	292	,06	,18	14,0	30,52	0	51
26	42	2980	1	,10	34,00	,160	10,11	3,81	321	5,80	30,90	22,7	10,74	0	51
27	42	3610	1	5,45	92,00	,075	9,83	7,78	399	1,30	7,50	16,4	18,18	0	49
28	40	3600	1	6,38	115,0	,070	9,39	4,06	381	1,90	,30	20,7	27,50	1	49
29	39	3720	1	8,34	69,00	,059	10,22	5,88	291	1,60	1,00	13,1	30,40	0	53
30	38	2220	1	7,54	105,0	1,70	8,26	4,25	483	6,80	9,20	17,4	123,0	1	47
31	38	1680	1	1,24	76,00	,071	10,46	5,62	260	1,16	4,75	15,6	89,90	1	42
32	39	2400	1	,60	39,00	,063	8,96	4,15	341	2,60	1,80	8,8	55,70	1	48
33	38	1900	1	10,7	50,00	,110	10,69	6,70	294	8,80	5,00	14,8	30,60	1	42

	eg	peso	e	bgp	pth	tct	ca	p	fa	cau	pu	crtn	hidrox	v	t
34	37	2200	1	9,65	73,00	,120	9,92	4,65	311	1,10	2,00	22,4	21,57	1	46
35	40	2200	1	10,1	60,00	1,30	10,07	5,08	232	2,00	1,50	28,7	29,50	1	47
36	38	1790	1	,19	150,9	,180	8,50	7,00	249	11,50	8,00	12,2	1,12	0	38
37	39	2280	1	1,45	80,00	,300	9,54	5,70	316	,34	,92	18,1	19,40	0	49
38	37	2240	1	7,95	87,00	,260	9,08	6,26	391	2,40	1,30	22,4	13,00	0	47
39	37	2080	1	2,78	64,00	,000	9,75	5,44	371	,60	10,20	23,5	517,3	0	44
40	40	1820	1	1,36	104,0	,000	7,59	2,87	343	5,20	1,90	26,1	34,45	0	39
41	40	2020	1	,47	78,00	,073	9,00	3,50	300	,50	,80	15,4	302,5	0	34
42	40	2280	1	3,03	68,00	,098	9,00	6,00	500	,20	,10	29,0	39,90	0	46
43	36	2620	1	,20	84,90	,590	8,75	7,00	557	1,10	13,30	12,8	24,30	1	47
44	36	2600	1	,25	48,00	,000	9,15	6,80	601	1,00	1,30	28,4	47,00	0	46
45	36	3180	1	1,08	49,00	,050	10,28	5,56	341	,69	,16	9,4	34,90	1	49
46	36	3670	1	6,75	77,00	,000	9,91	7,50	324	1,38	7,19	9,8	1,13	0	50
47	36	2570	1	4,80	81,00	,650	8,25	5,29	316	1,37	2,76	16,8	39,50	0	48
48	36	2440	1	,27	97,00	,059	10,41	7,10	390	8,79	,06	33,2	49,05	1	46
49	36	2700	1	3,12	64,00	,150	9,63	5,63	697	1,15	,78	10,9	77,11	1	49
50	36	2460	1	7,17	92,00	,440	8,73	7,28	315	1,00	1,00	27,4	19,88	0	46
51	35	2250	1	16,7	56,00	,100	9,55	7,50	401	8,90	1,40	10,5	101,4	1	47
52	35	2450	1	4,10	39,00	,100	9,49	6,82	306	5,70	,30	22,3	66,00	1	47
53	35	2300	1	4,90	84,00	,110	8,49	7,75	160	,69	,70	13,6	110,9	0	48
54	33	2440	1	17,4	62,00	,210	11,12	7,33	385	3,00	63,00	10,1	194,0	0	50
55	36	1950	1	,22	71,00	,330	10,00	7,00	300	6,05	,01	14,6	133,3	1	45
56	33	1660	1	6,04	41,00	,030	11,98	6,69	642	4,92	9,09	8,6	11,14	1	43
57	29	975	1	5,32	43,00	,081	11,42	2,84	840	17,77	1,81	6,1	48,70	0	39
58	27	950	1	5,00	175,0	1,30	7,54	6,67	385	3,29	5,74	8,3	9,90	1	37
59	31	1910	1	2,55	38,00	1,40	4,14	3,65	176	1,00	,40	15,9	1659,	1	44
60	31	1300	1	6,03	94,00	3,00	7,60	6,78	744	7,00	2,90	8,7	43,10	0	42
61	31	1700	1	4,88	42,00	,180	4,59	7,63	304	1,10	,70	8,0	66,40	1	43
62	35	2020	1	6,41	92,00	1,30	8,13	7,09	438	5,00	20,00	13,0	133,0	0	47
63	34	1840	1	14,9	54,60	,078	10,18	6,73	573	3,20	,90	8,7	72,90	1	47
64	36	2100	1	3,67	55,10	,081	9,28	7,30	369	4,90	1,00	8,4	203,4	1	48
65	36	2030	1	3,25	47,70	,190	8,93	6,91	225	,20	3,30	11,7	102,4	0	43
66	27	1275	1	,43	67,40	1,90	7,44	7,33	466	1,20	5,90	5,7	13,01	0	38

	eg	peso	e	bgp	pth	tct	ca	p	fa	cau	pu	crtn	hidrox	v	t
67	34	2030	1	8,80	31,00	,120	7,49	6,55	379	1,00	15,00	12,4	85,60	1	47
68	36	2040	1	1,90	64,10	,290	8,68	6,31	351	1,60	6,00	12,9	81,86	0	45
69	33	1490	1	7,35	114,5	,078	10,71	6,41	785	2,50	6,10	11,2	9,44	1	43
70	32	1580	1	2,22	57,00	,900	9,00	4,50	480	3,25	,11	6,9	38,90	0	40
71	30	1250	1	5,31	75,00	1,70	10,00	7,00	300	8,75	2,53	10,2	148,0	1	42
72	29	990	1	3,02	111,0	,120	9,00	7,00	356	,46	4,28	6,5	29,50	0	36
73	33	2060	1	18,4	36,20	,310	10,19	7,47	691	14,10	,80	15,4	117,7	0	48
74	33	1700	1	7,35	39,00	,120	10,31	5,84	679	9,00	1,80	8,9	110,6	1	47
75	33	1850	1	2,02	64,00	,094	10,19	5,82	461	16,90	,90	16,2	204,3	1	42
76	34	2210	1	,53	79,30	,000	8,98	7,00	594	1,10	93,00	16,9	21,77	1	46
77	33	2040	1	1,16	145,0	,580	7,26	6,22	468	3,10	17,40	26,5	79,64	0	44
78	34	2100	1	,19	74,10	,097	6,19	5,00	490	3,50	15,10	10,3	1,20	0	44
79	36	1840	1	2,47	53,70	,100	8,32	4,82	519	1,10	3,00	17,4	3,42	1	41
80	36	2000	1	2,17	77,00	,110	10,28	6,65	452	1,10	1,80	16,3	24,45	1	41
81	34	2160	1	3,50	65,00	,000	10,10	7,94	294	1,20	9,50	13,8	14,40	1	47
82	27	970	1	1,47	152,0	,310	8,22	7,22	385	4,20	46,30	21,4	6,83	1	36
83	36	2300	1	18,5	41,00	,000	9,94	5,13	477	,43	,01	14,3	20,89	0	47
84	30	1040	1	1,58	68,00	,054	7,76	5,81	770	,45	,23	12,3	12,40	1	41
85	30	1760	1	7,29	89,00	,520	9,40	6,67	723	,20	34,70	9,5	103,6	0	42
86	26	730	1	1,53	144,0	,580	8,05	6,61	661	1,10	11,50	8,7	13,13	1	35
87	35	2090	1	3,36	100,0	,072	8,00	7,00	600	,40	13,40	13,9	33,40	0	46
88	35	1960	1	2,09	67,00	,100	10,30	6,51	155	2,10	2,40	11,0	6,24	0	46
89	32	1115	1	5,86	103,0	,092	10,00	4,00	400	,04	,16	9,0	19,00	1	36
90	32	1340	1	11,0	133,0	1,00	8,55	6,81	708	,40	10,60	10,3	46,95	1	39
91	33	1500	1	7,53	94,00	,091	9,72	5,32	579	3,13	,15	12,3	18,20	0	40
92	33	1980	1	11,8	132,0	,100	8,73	6,39	453	1,40	2,10	7,7	6,46	1	46
93	33	2160	1	30,3	106,0	,170	8,16	6,50	690	1,10	9,10	11,3	38,35	0	46
94	35	1820	1	4,51	116,0	,067	9,56	6,14	452	2,30	3,80	12,2	48,89	0	45
95	33	2270	1	2,34	81,00	2,30	7,31	6,79	206	,19	12,93	9,0	40,66	0	43
96	30	1660	1	5,44	156,0	,100	8,25	6,74	464	,13	20,60	8,2	69,03	0	40
97	29	1280	1	,56	156,0	,100	8,09	5,00	645	,51	6,55	9,0	119,1	0	39
98	29	1175	1	,87	147,0	,350	8,29	7,61	433	,30	17,78	11,3	45,54	0	34
99	35	1360	1	8,90	128,0	,130	9,00	3,53	450	3,20	,30	11,3	27,90	0	42

	eg	peso	e	bgp	pth	tct	ca	p	fa	cau	pu	crtn	hidrox	v	t
100	27	1120	1	9,09	40,00	,000	9,39	3,68	498	3,30	19,00	5,5	128,5	0	37
101	35	2720	1	2,33	80,00	,120	8,00	6,00	300	1,20	9,30	18,1	69,96	0	46
102	33	2670	1	5,28	82,00	,160	12,00	5,00	300	,10	,01	17,0	22,56	1	48
103	34	2400	1	2,25	87,00	1,20	9,00	5,00	500	,90	1,30	10,5	145,5	0	46
104	34	2170	1	8,39	98,00	2,40	7,35	7,00	724	,90	14,90	8,9	65,60	0	46
105	36	3200	1	3,80	36,00	,130	10,01	6,07	635	8,00	,30	28,4	71,20	1	52
106	38	4200	1	7,87	42,00	2,00	6,57	5,12	464	7,30	,80	20,2	21,40	0	54
107	40	3580	1	3,06	38,00	,160	11,02	4,87	378	14,70	,40	11,1	70,20	1	52
108	38	3180	1	6,66	43,00	,010	10,01	6,48	411	6,00	15,57	19,2	37,00	0	53
109	42	3600	1	,27	41,00	1,60	9,98	7,76	226	1,80	1,40	9,7	18,90	1	50
110	40	3020	1	2,25	82,00	,300	10,00	7,00	280	2,44	1,51	7,6	40,70	1	52
111	39	3180	1	3,39	74,00	,069	9,00	7,10	300	1,37	,30	14,8	65,70	1	54
112	39	3020	1	,70	58,70	,190	10,08	2,08	326	1,60	,20	15,2	8,94	1	51
113	40	3080	1	,54	64,50	,043	8,47	4,80	234	,98	,31	26,1	37,71	1	51
114	38	3140	1	2,85	56,00	,030	9,90	6,34	267	8,10	9,12	76,0	8,80	0	51
115	38	3180	1	14,3	33,00	,000	10,47	6,74	850	,17	2,69	15,6	7,60	1	50
116	40	3280	1	7,25	60,00	,150	8,87	4,48	213	9,20	,80	12,3	31,88	0	51
117	37	2500	1	,52	87,00	,510	8,19	6,51	590	1,34	,22	20,7	77,50	0	52
118	37	3580	1	5,18	73,00	,061	9,00	7,10	216	2,70	,90	4,6	21,79	0	52
119	37	3140	1	13,1	111,0	,060	10,48	7,95	591	,10	3,40	8,5	20,66	0	50
120	39	3800	1	,74	97,00	2,92	8,82	7,00	360	3,80	16,70	18,9	7,18	0	51
121	38	2760	1	4,74	141,0	,290	9,30	6,07	416	5,30	,50	10,3	62,72	0	48
122	38	3460	2	14,6	66,00	,091	10,03	7,76	360	8,60	17,80	9,4	117,8	0	51
123	38	3400	2	,11	52,00	,000	9,71	7,00	409	6,30	1,50	8,8	28,49	1	50
124	38	3150	2	1,45	52,00	,000	8,80	6,00	409	43,00	25,30	10,4	138,5	0	52
125	40	3180	2	,13	82,60	,000	9,23	7,30	478	3,00	15,00	7,2	27,40	0	50
126	39	3440	2	,17	72,00	,000	10,40	5,00	371	,20	12,70	16,0	88,60	1	50
127	41	4840	2	6,54	55,30	,000	8,36	5,07	496	1,00	14,90	16,8	30,90	1	54
128	40	3620	2	,88	40,00	,000	10,09	7,45	292	,50	19,10	14,0	16,10	0	50
129	39	4120	2	,70	46,00	,000	8,51	7,00	345	2,00	10,10	9,7	97,40	0	51
130	41	3580	2	,88	48,00	,000	9,09	6,80	453	6,50	59,50	23,6	114,8	1	50
131	39	3620	2	,98	59,00	,000	9,21	6,48	312	,18	18,23	9,3	18,40	0	51
132	38	3320	2	19,1	75,00	,052	10,23	7,28	275	,90	8,00	12,3	80,64	0	53

	eg	peso	e	bgp	pth	tct	ca	p	fa	cau	pu	crtn	hidrox	v	t
133	42	3400	2	4,35	61,00	,000	10,21	6,44	338	1,41	13,66	10,9	86,00	1	50
134	39	2740	2	5,88	61,00	,000	10,39	6,85	332	1,40	7,70	9,0	160,4	1	46
135	40	4160	2	12,4	75,00	,051	10,18	6,43	282	1,10	5,60	8,9	51,81	0	53
136	39	3920	2	7,04	91,00	,000	7,98	7,99	320	1,40	16,70	7,6	120,1	0	50
137	38	2990	2	11,4	91,00	,032	9,25	7,36	371	1,00	,90	9,7	188,8	0	50
138	40	3620	2	8,56	56,00	,000	10,46	6,91	511	1,00	24,60	8,1	3,47	1	52
139	39	2370	2	4,81	78,00	,025	9,61	6,07	371	2,00	21,70	10,4	1,00	0	50
140	40	2610	2	20,1	45,00	,073	5,88	3,87	151	10,40	,10	9,7	10,47	0	48
141	39	2550	2	4,00	75,00	,000	8,90	6,34	452	2,63	29,98	7,9	44,80	1	50
142	39	2450	2	23,7	48,00	,160	10,85	6,33	355	8,03	1,60	10,8	48,20	1	49
143	39	3700	2	12,7	98,00	,120	7,90	7,90	533	,04	11,68	14,2	34,60	0	53
144	39	3420	2	7,44	62,00	,120	7,38	7,38	370	,13	8,43	13,1	70,10	1	53
145	38	2840	2	7,58	76,00	,000	5,90	5,90	599	,15	20,60	10,5	78,96	0	51
146	40	3520	2	2,67	72,00	,000	7,86	6,60	327	,31	21,60	13,3	91,89	0	51
147	42	2950	2	,10	42,00	,150	8,00	3,00	300	2,10	2,10	62,2	19,16	0	51
148	42	3360	2	17,5	63,00	,000	10,16	7,15	407	1,41	8,69	18,5	41,27	0	49
149	40	3500	2	1,23	66,00	,000	9,67	6,75	272	1,40	17,40	12,7	24,57	1	49
150	39	3740	2	14,3	51,00	,000	10,32	7,92	338	4,30	7,40	10,5	39,63	0	53
151	38	2540	2	20,0	37,00	,100	10,82	6,28	568	11,70	8,30	8,3	358,0	1	47
152	38	1700	2	6,94	50,00	,000	6,40	6,40	414	1,40	1,10	11,8	68,18	1	42
153	39	2420	2	2,56	34,00	,054	10,62	5,97	329	2,00	1,60	13,3	83,90	1	48
154	38	2090	2	9,41	36,00	,065	10,47	7,31	269	3,00	5,20	6,8	28,70	1	42
155	37	2480	2	13,6	50,20	,079	11,15	6,97	619	1,60	6,80	10,3	59,03	1	46
156	40	2210	2	11,1	48,00	,170	10,51	6,53	568	,50	9,90	12,5	56,80	1	47
157	38	1560	2	,15	42,00	,000	11,65	8,21	214	24,90	2,30	16,6	47,99	0	38
158	39	2220	2	14,5	65,00	,047	9,54	5,70	316	,70	1,80	11,9	39,90	0	49
159	37	2230	2	13,7	74,00	,000	9,99	6,14	349	,04	9,20	9,4	80,40	0	47
160	37	2020	2	13,6	44,00	,000	9,82	5,50	348	,60	,10	14,1	25,39	0	44
161	40	1800	2	7,70	62,00	,110	9,61	3,94	202	1,90	,10	16,8	302,5	0	39
162	40	1980	2	7,06	73,00	,190	9,91	3,57	322	18,80	,70	15,5	97,65	0	34
163	40	2180	2	11,3	46,00	,000	9,77	6,53	513	3,45	,02	18,8	55,63	0	46
164	36	2390	2	,49	59,60	,000	9,48	7,00	655	18,30	2,30	24,2	61,00	1	47
165	36	2440	2	8,10	56,70	,000	9,00	6,00	550	1,70	15,90	15,0	37,44	0	46

	eg	peso	e	bgp	pth	tct	ca	p	fa	cau	pu	crtn	hidrox	v	t
166	36	3080	2	1,01	79,00	,035	10,00	5,50	300	,20	8,90	11,7	78,40	1	49
167	36	3720	2	6,75	77,00	,087	9,91	7,50	324	,50	14,40	9,6	14,57	0	50
168	36	2440	2	21,1	41,00	,150	7,05	7,05	335	1,67	2,09	9,1	43,60	0	48
169	36	2120	2	6,17	77,00	,052	10,87	7,83	444	1,61	2,03	9,8	18,07	1	46
170	36	2480	2	6,55	76,00	,036	10,55	7,18	592	1,50	8,01	8,4	263,7	1	49
171	36	2520	2	17,0	66,00	,110	9,11	7,08	340	3,00	2,20	9,5	111,6	0	46
172	35	2240	2	18,5	64,00	,080	10,10	4,23	421	25,60	5,00	12,3	132,3	1	47
173	35	2400	2	25,9	30,00	,050	10,37	7,85	494	10,10	7,30	6,3	52,80	1	47
174	35	2360	2	8,50	78,00	,120	8,93	7,65	761	,75	23,80	11,8	96,10	0	48
175	33	2460	2	7,76	146,0	,055	9,10	6,09	576	5,74	7,94	11,9	44,90	0	50
176	36	1820	2	3,50	75,00	,480	11,28	7,40	332	2,88	2,52	17,2	264,0	1	45
177	33	2140	2	23,3	57,00	,050	10,52	6,40	630	2,95	2,41	7,3	28,61	1	43
178	29	1150	2	2,35	31,00	,200	9,93	4,63	103	25,05	2,70	5,1	37,90	0	39
179	29	920	2	12,3	33,00	,000	11,79	4,37	612	15,64	233,0	8,1	29,00	1	37
180	31	1750	2	17,3	74,00	,120	11,58	7,83	399	7,00	2,50	11,3	76,10	1	44
181	31	1450	2	6,50	68,00	,420	9,86	4,76	687	4,28	,58	8,4	38,60	0	42
182	31	1500	2	12,4	66,70	,000	10,27	7,48	388	6,30	1,90	8,0	96,27	1	43
183	35	1910	2	14,2	34,40	,100	9,88	4,73	448	1,90	5,10	7,1	31,65	0	47
184	34	2110	2	12,8	50,00	,063	11,30	7,22	460	5,50	,50	8,4	188,6	1	47
185	36	2160	2	8,25	54,20	,130	11,27	7,10	356	17,30	15,90	10,7	117,6	1	48
186	36	2200	2	9,49	41,00	,075	9,74	6,61	294	1,60	12,40	11,1	99,00	0	43
187	27	1140	2	,36	54,60	,200	8,68	7,43	450	2,90	6,90	6,9	22,40	0	38
188	34	2090	2	5,49	155,9	,140	10,25	7,38	373	,70	29,50	9,0	69,01	1	47
189	36	2100	2	13,2	65,00	,240	9,53	7,31	519	3,30	23,30	7,6	66,90	0	45
190	33	1440	2	1,20	70,20	,100	12,20	7,61	825	1,00	12,00	11,8	21,50	1	43
191	32	1490	2	8,15	48,00	,110	9,50	3,89	518	4,30	3,40	7,0	16,50	0	40
192	30	960	2	1,68	74,00	,110	10,43	7,31	356	,33	,22	8,6	35,90	1	42
193	29	1000	2	2,34	140,0	,078	10,00	7,00	500	1,79	11,65	13,8	33,60	0	36
194	33	2100	2	14,8	91,70	,170	9,50	6,50	500	1,30	,50	10,3	161,5	0	48
195	33	1510	2	2,40	61,20	,100	11,77	6,05	693	7,10	,80	16,0	16,00	1	47
196	33	1880	2	1,10	81,80	,010	10,06	6,69	473	2,10	2,20	16,9	361,0	1	42
197	34	2380	2	2,17	56,20	,042	10,45	6,74	586	2,80	18,90	10,3	121,3	1	46
198	33	2400	2	,32	95,70	,000	9,36	6,00	561	1,20	26,80	9,1	14,00	0	44

	eg	peso	e	bgp	pth	tct	ca	p	fa	cau	pu	crtn	hidrox	v	t
199	34	2280	2	,28	91,10	,000	8,87	6,00	792	1,00	4,40	9,8	15,10	0	44
200	36	1650	2	4,31	41,00	,150	10,03	3,83	435	11,60	,90	10,0	6,21	1	41
201	36	1800	2	4,30	69,00	,140	10,27	4,43	413	2,50	,20	9,3	14,66	1	41
202	34	2240	2	1,24	57,00	,050	10,02	5,85	467	3,10	8,30	10,0	23,10	1	47
203	27	800	2	4,91	79,00	,150	10,39	3,90	546	15,60	9,10	9,6	11,71	1	36
204	36	2320	2	16,1	82,00	,000	9,94	6,71	477	1,00	11,00	9,9	29,10	0	47
205	30	1400	2	10,0	103,0	,140	11,42	5,81	747	10,30	1,10	7,6	45,50	1	41
206	30	1580	2	12,0	71,00	,200	9,94	6,79	725	3,40	9,20	11,0	8,27	0	42
207	26	760	2	4,99	69,00	,260	10,63	4,14	607	14,10	2,00	6,8	74,01	1	35
208	35	2120	2	8,71	200,0	,041	8,71	7,75	893	,80	45,50	10,9	56,60	0	46
209	35	1800	2	7,95	65,00	,100	9,76	6,50	151	2,90	,14	12,2	27,60	0	46
210	32	1050	2	12,9	84,00	,060	10,01	3,70	492	,59	,14	18,2	115,5	1	36
211	32	1260	2	5,70	94,00	,000	10,02	7,64	540	1,90	3,00	11,4	15,96	1	39
212	33	1410	2	6,00	104,0	,110	10,33	6,25	619	2,68	,09	13,1	65,85	0	40
213	33	1700	2	11,6	64,00	,080	11,90	3,55	366	5,09	,10	8,3	17,54	1	46
214	33	2300	2	21,1	74,00	,000	10,51	7,13	513	1,74	9,05	11,0	60,70	0	46
215	35	2160	2	15,0	93,00	,000	9,00	7,00	400	1,32	6,44	11,4	89,47	0	45
216	33	2130	2	8,74	12,90	,000	9,42	7,79	304	,52	12,53	9,3	30,69	0	43
217	30	1480	2	23,2	105,0	,078	8,00	6,00	400	,05	19,50	6,6	421,7	0	40
218	29	1160	2	14,0	78,00	,110	9,13	5,35	513	7,65	,10	10,9	9,76	0	39
219	29	1050	2	5,57	103,0	,120	8,77	4,02	648	8,40	1,00	6,5	16,46	0	34
220	35	1630	2	16,7	76,00	,074	9,51	5,48	604	33,00	,05	9,5	671,2	0	42
221	27	1045	2	7,00	70,00	,000	9,00	7,00	400	6,70	,90	6,6	128,5	0	37
222	35	2580	2	8,42	76,00	,000	8,57	6,06	346	1,10	1,30	9,9	37,34	0	46
223	33	2560	2	8,35	59,00	,000	12,49	5,25	310	,20	,10	29,0	23,92	1	48
224	34	2230	2	12,1	88,00	,170	9,53	5,83	567	,40	,90	15,5	175,5	0	46
225	34	2130	2	12,1	127,0	,590	8,66	6,84	765	,90	15,90	15,2	45,72	0	46
226	36	3080	2	16,2	48,00	,000	9,11	6,83	548	3,09	15,60	10,8	55,60	1	52
227	38	4000	2	8,32	33,00	,000	8,99	5,75	605	3,50	29,80	13,4	196,5	0	54
228	40	3460	2	8,50	59,00	,120	10,27	8,44	411	,52	23,50	11,1	69,80	1	52
229	38	3220	2	1,80	60,00	,066	10,11	7,65	403	,52	26,93	9,0	43,20	0	53
230	42	3550	2	5,00	59,00	,000	9,88	5,18	260	19,00	201,9	14,5	24,20	1	50
231	40	2780	2	5,65	68,00	,050	9,83	7,77	213	16,20	6,60	10,3	30,98	1	52

	eg	peso	e	bgp	pth	tct	ca	p	fa	cau	pu	crtn	hidrox	v	t
232	39	3150	2	8,00	70,00	,046	9,61	7,13	306	1,97	6,45	13,2	76,80	1	54
233	39	3040	2	,29	135,7	,000	7,86	4,00	212	,60	18,70	27,9	74,02	1	51
234	40	2840	2	,29	114,8	,000	8,06	5,00	258	1,20	2,00	20,8	80,40	1	51
235	38	3060	2	2,89	52,00	,000	8,82	6,00	320	,75	15,75	8,5	8,40	0	51
236	38	3140	2	8,14	69,00	,000	10,64	8,07	594	,10	10,80	8,6	7,60	1	50
237	40	3180	2	9,93	47,00	,110	9,04	5,01	252	7,20	1,70	20,3	18,30	0	51
238	37	2440	2	8,35	39,00	,000	8,62	6,95	557	6,02	7,40	25,5	36,28	0	52
239	37	3540	2	2,00	70,00	,000	8,40	6,90	405	4,03	11,40	21,4	32,35	0	52
240	37	3400	2	10,5	84,00	,000	9,96	7,92	545	,20	31,00	8,8	115,5	0	50
241	39	3700	2	3,52	70,00	,120	8,00	7,00	350	2,80	9,10	22,0	56,69	0	51
242	38	2635	2	11,0	65,00	,000	9,74	8,19	508	,15	11,40	5,9	55,65	0	48

BIBLIOGRAFIA

VII) BIBLIOGRAFIA

- 1.- Matkovit V, Chesnat C. Genetic factor and adquisition of bone mass. *J Bone Miner Res* 1987; 2(supp 1): Abstract 329.
- 2.- Ortiz O, Russell M. Differences in eskeletal muscle and bone mineral mass between black and white females and their relevance to estimates of body composition. *Am J Clin Nutr* 1992; 55:8-13
- 3.- Luckey MM, Meier D. Radial and vertebral bone density in white and black women. *J Clin End Metab* 1989;69:762-770
- 4.- Eastell R, Riggs BL. Diagnostic evaluation of osteoporosis. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1988;17:547-571
- 5.- Raisz LG, Kream BE. Regulation of bone formation. *N Engl J Med* 1983;309:29-35
- 6.- Green H, Morikawa M. A dual effector theory of growth hormone action. *Differentiation* 1985;29:195-198
- 7.- Miller JZ, Johnston CC. Relationship of dietary calcium and bone mass in twin children. *J Bone Miner Res* 1990;5(supp):s275
- 8.- Chan GM. Dietary calcium and bone mineral status of children and adolescents. *Am J Dis Child* 1991;145:631-634

- 9.- Fawcett DW. Tratado de histología 11 Ed Interamericana McGraw Hill 1987;199-239
- 10.- Hahn T.: Fisiología del hueso: mecanismos de los trastornos que producen osteopenia. Hospital Practice 1987; 2:9-23
- 11.- Dempster DW. Bone remodeling. En: Coe LF. Disorders of bone and mineral metabolism. Raven press. New York 1992:355-80
- 12.- Boskey A.L.: Current concep of the physiology and biochemistry of calcification. Clin. Orthop 1981; 157:225-57
- 13.- Erickson EF, Hodgson SF. Cancellous bone remodeling in type I (postmenopausal) osteoporosis: quantitative assessment of rates of formation, resorption and bone loss at tissue and cellular levels. J. Bone Min Res 1990;5:311-319
- 14.- Frost HM. Dynamics of bone remodeling. Frost HM ed Bone Biodynamics Boston: Little, Brown 1964:315-333
- 15.- Rodan GA, Martin TJ. The role of osteoclasts in hormonal control of bone resorption. Calcif Tissue Int 1981; 33:349-51
- 16.- Eriksen EF: Normal and pathological remodeling of human trabecular bone: three dimensional reconstruction of the remodeling sequence in normal and metabolic bone disease. Endocrine Reviews 1986;7:379-408
- 17.- Glimcher MJ. The nature of the mineral component of bone. En Coe LF. Disorders of bone and mineral metabolism. Raven Press, New York. 1992; 265-68
- 18.- Suda T., Takahashi N, Martin TJ. Modulación of osteoclast differentiation. Endocrine Reviews 1992; 13:66-80

- 19.- Raisz LG, Luben RA: Efecto de osteoclast activating factor from human leukocytes on bone metabolism. *J. Clin. Invest.* 1975;56:408-413.
- 20.- Hattersley G, Chambers TJ. Generation of osteoclast from hemopoietic cells and a multipotential cell line in vitro. *J Cell Physiol* 1989; 140:478-482
- 21.- Brocbeck JA, Best A. Bases fisiológicas de la práctica médica. Ed. Panamericana (Williams & Williams), 10ª ed. Buenos Aires 1982; 1023-1065.
- 22.- Copp DH. Endocrine regulation of calcium metabolism. *Ann Rev Physiol* 1960; 32: 61-68.
- 23.- Coburn JW, Hartenbower DL. Intestinal absorption of calcium and the effect of renal insufficiency. *Kidney Int.* 1973; 4: 96-98
- 24.- Twardock AR, Austin MK. Calcium transfer in perfused Guinea-pig placenta. *Am. J. Physiol* 1970;219:540-45.
- 25.- Pettifor JM, Ross P. Rickets in children of rural origin: is low dietary calcium a factor? *J Pediatr* 1987; 92:320-24
- 26.- David L Anast CS. Calcium metabolism in newborn infants. The interrelationship of parathyroid function and calcium, magnesium and phosphorus metabolism in normal, sick and hypocalcemic newborns. *J. Clin. Invest.* 1974; 54:287-96
- 27.- Kliegman M., Wald MK. Problemas de adaptación metabólica: glucosa calcio y magnesio. En: Klaus/Fanaroff ed. Asistencia del recién nacido de alto riesgo. Ed. Panamericana. 3ª ed. Buenos Aires, 1987; 244-62
- 28.- Legido A., Olivares JM. Homeostasis del metabolismo fosfocálcico en la vida intrauterina y en el periodo neonatal. Revisión. *Acta Pediatr Esp* 1984;42:167-72.

- 29.- Royer P. Régulation hormonale du métabolisme du calcium /biologie et pathologie). En: Job JC, Pierson M. Endocrinologie pédiatrique et croissance. Ed. Flammarion. Paris. 1981:347
- 30.- Raisz LG, Kream BE. Regulation of bone formation. *N Engl J Med* 1983;309:83-89
- 31.- Carrascosa A, Del Rio L. Mineralización del esqueleto óseo durante la infancia y adolescencia. Factores reguladores y patrones de normalidad. *An Esp Pediatr* 1994;40:246-52
- 32.- Royer P. Growth and development of bony tissues. En: Davis JA Eds Scientifics Foundations of Paediatrics, 2nd Ed. Heinemann. London 1981; 565-589
- 33.- Del Rio L, Minoves M. Evolution of bone mass in childhood and adolescence, use of the bone densitometry. First European Symposium on Pediatric Nuclear Medicine. Ed. Domenech-Torné FM. Barcelona 1992: 205-211
- 34.- Raisz LG, Simmons HA.: Direct stimulation of bone resorption by epidermal growth factor. *Endocrinology* 107:270-273
- 35.- Cortelyou JR, McWhinnie DJ. Parathyroid glands of anfibians. I. Parathyroid structure and function in the anfibian, with emphasis on regulation of mineral ions in body fluids. *Am Zoologist* 1967; 7:843-855
- 36.- Collip JB. The extraction of a parathyroid hormone which will prevent or control parathyroid tetany and which regulates the levels of blood calcium. *J Biol Chem* 1925; 63:395-438.
- 37.- Aurch GA Isolation of parathyroid hormone following extraction with pheol. *J Biol Chem* 1959; 234:3179-84.

- 38.- Aurbach GA. Parathyroid hormone calcitonin, and the calciferols. En: Williams. Textbook of Endocrinology. Saunders 1986 (7^a ed. cap 29) pp 1137-1217.
- 39.- Habener JF, Potts JT. Biosynthesis of parathyroid hormone. N Engl J Med 1978; 299:580-85.
- 40.- Habener JF, Rosenblatt M. Pre-parathyroid hormone: aminoacid sequence, chemical synthesis and some biological studies of the precursor region. Proc Natl Acad Sci USA 1978; 75: 2616-24.
- 41.- Kemper B, Habener JF. Proparathyroid hormone: identification of a biosynthetic precursor to parathyroid hormone. Proc Natl Acad Sci USA 1972; 69: 643-47.
- 42.- Rosenblatt M. Pre-proparathyroid hormone, proparathyroid hormone and parathyroid hormone. The biologic role of hormone structure. Clin Orthop Res 1982; 170: 260-76
- 43.- Brown EM. Parathyroid secretion in vivo and in vitro. Regulation by calcium and other secretagogues. Min Elect Metab 1982; 8:130-150
- 44.- Chan Y, McKay C. The effects of 1-25-(OH)₂-D₃ on parathyroid hormone secretion by monolayer cultures of bovine parathyroid cells. Calcif Tissue Int 1986;38:27-32.
- 45.- Oldham SB, Lipson LG. The high affinity calcium inhibition of parathyroid adenylate cyclase is not calmodulin dependent. Calcif Tissue Int 1986; 38: 275-81
- 46.- Pitkin RM, Reynolds WA, Williams GA. Calcium metabolism in normal pregnancy, A longitudinal study. Am J Obstet Gynecol 1979; 133:781-90
- 47.- Cruikshank DP, Pitkin RM. Effects of magnesium sulfate treatment on perinatal calcium metabolism. Am J Obstet Gynecol 1979; 134:143-249

- 48.- Martinez ME, Sanchez C, Balaguer G. Parathormona: aspectos perinatales. *An Esp Pediatr* 1988; 28: 2: 115-18
- 49.- Martinez ME, De Pedro C, Catalán P. Levels of osteocalcin in normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 153:708-9
- 50.- Garel J, Dumont C. Distribution and inactivation of labeled parathyroid hormone in the rat fetus. *Hum Metab Res* 1972; 4:217-23
- 51.- Northop G, Minenhimer MD. Failure of parathyroid hormone to cross the non human primate placenta. *Am J Obstet Gynecol* 1977; 129:441-54.
- 52.- Schedewie H, Odell W. Parathormon and perinatal calcium homeostasis. *Pediatr Res* 1979;13:1-7
- 53.- Pitkins RM Cruikshank. Fetal calciotropic hormones and neonatal calcium homeostasis. *Pediatrics* 1980;66:77-81
- 54.- Tsang RC. Homeostasis perinatal del calcio: hipocalcemia y desmineralización ósea en periodo neonatal. *Clin Perinatol* 1977; 2:283-408
- 55.- Noguchi A, Eren M, Tsang RC. Parathyroid hormone in hipocalcemic and normocalcemic infants of diabetic mother. *J Pediatr* 1980; 97: 112-18
- 56.- Moya M, Ballester I. Desproporciones en la oferta y los requerimientos reales de calcio en el prematuro. En: *Avances en nutrición infantil*. Uniasa. Madrid, 1987:129-38
- 57.- Hauschka P.V.; Llan J.B., Gallop P.M.: Direct identification of the calcium binding aminoacid gamma-carboxylglutamate, in mineralized tissue. *Proc. Nat. Acad. USA* 1975, 72:3925-3929.

- 58.- Price P.A. , Otsuka A.S.: Characterization of gamma-carboxyglutamic acid containing protein from bone. *Proc. Nat Acad. USA* 1976, 73:1447-1451
- 59.- Lian JB, Friedman PA. The vitamin-K dependent synthesis of carboxyglutamic acid by bone microsomes. *J Biol Chem* 1978;253:6.623
- 60.- Nishimoto SK, Price PA. Proof that the carboxyglutamic-acid-containing bone protein is synthesized in calf bone: comparative synthesis rate and effect of coumadin on synthesis. *J Biol Chem* 1979; 254:437
- 61.- Price P.A. Osteocalcin. En: Peck W.A. ed. Bone and mineral research. Annual I. Amsterdam: Elsevier, 1983, 157-190.
- 62.- Lian J.B. Glimcher M.J.: Alterations of de gamma-carboxyglutamic acid and osteocalcin concentrations in vitamin D deficient chick bone. *J. Biol. Chem.* 1982, 257:4999-5004.
- 63.- Gundberg CM, Cole DE. Serum osteocalcin in the treatment of inherited rickets with 1-25-(OH)₂-D₃. *J Clin Endocrinol Metab* 1983; 56:1063
- 64.- Price P.A., Nishimoto S.K. Radioimmunoassay for the vitamin K dependent protein of bone and its discovery in plasma. *Proc Nat. Acad USA* 1980;77:2234-2238.
- 65.- Price P.A., Letherringer J.W. Origin of the vitamin K dependent bone protein found in plasma and its clearance by kidney and bone. *J. Biol. Chem.* 1981, 256:12760-12766.
- 66.- Deftos L., Catherwood B.D.. BGP and bone metabolism. En: Peck A. ed. Bone and mineral research. Annual 2. Amsterdam:Elsevier, 1983, 112-115.
- 67.- Friedman P.A., Hausschka P.V., Shia M.A.: Characteristics of the vit K dependent carboxylating system in human placenta. *Biochem Biophys Acta*, 1979, 583, 261-265.

- 68.- Price P.A., Poser J.W.: Primary structure of the gamma-carboxyglutamic acid containing protein from bovine bone. Proc Nat. Acad. USA 1976, 73:3374-3375.
- 69.- Poser J.W. Ling N.C. Isolation and sequence of the vitamin K dependent protein from human bone. J. Biol. Chem. 1980, 255:8685-8691.
- 70.- Malone J.D., Teitelbaum S.L. Recruitment of osteoclast precursors by purified bone matrix constituents. J. Cell. Biol. 1982, 92:227-230.
- 71.- Mundy G.I., Poser J.W. Chemotactic activity of the gamma-carboxyglutamic acid containing protein in bone. Calcif. Tissue Int. 1983, 35:164-168.
- 72.- Delmas P, Wilson DM. Effect of renal function on plasma levels of bone Gla-protein. J Clin Endocrinol Metab 1983; 57:1028
- 73.- Krane S, Muñoz AJ. Urinary polypeptides related to collagen synthesis. J Clin Invest 1970; 49:716
- 74.- Posen S, Cornish C. Alkaline phosphatase and metabolic bone disorders. En: Avioli L (ed) Metabolic bone disease. Academic Press. New York 1977 vol 1:141
- 75.- Beresford J.N. Gallagher J.A. Poser J.W.: Production of osteocalcin by human bone cells in vitro. Metab. Bone Dis & Rel Res 1984, 5:229-234.
- 76.- Deftos L. Parthemore J.G. Changes in plasma bone Gla protein during treatment of bone disease. Calcif Tissue Int. 1982, 34:740-742.
- 77.- Pérez Cano R.: Osteocalcina. 1987, 88, 107-109.
- 78.- Pastourea P, Delmas PD. Measurement of serum bone gla-protein in humans with an ovine BGP-based radioimmunoassay. Clin Chem 1990; 36:1620-24

- 79.- Coop, D.H.: Davidson, A.G. y Cheney, B.A.: Evidence for a new parathyroid hormone which lowers blood calcium. *Proc. Can. Fed. Biol. Soc.*, 1961, 4, 17-21.
- 80.- McMillan p. J.; Hooker, W. M. y Delfos L.J.: Distribution of calcitonin-containing cells in the human thyroid. *Am. J. Anat.*, 1974, 140, 73-79.
- 81.- Pearse, A. G.E.: Common cytochemical and ultrastructural characteristics of cells producing polypeptide hormones and their relevance to thyroid and ultimobranchial C cells and calcitonin. *Proc. Roy. Soc. B.* 1968, 170, 71-75.
- 82.- Passeri M, Gennari C. Osteocalcin and calcitonin. En: Pecile A (ed) *Calcitonin. Ricerca Scientifica ed Educazione Permanente.* Milano 1984;16
- 83.- Rico, H y Huertal R.: La calcitonina: Hormona de efecto multisistémico. *Rev. Clin. Esp.*, 1981, 1, 1-8
- 84.- Rauldis D; Hagaman J; Onties D A et al: The complete aminoacid sequence of rat thyrocalcitonina. *Eur. J. Biochem.* 1967, 64, 607-610
- 85.- Wezeman F.H., Reynolds W.A. Stability of fetal calcium secretion in ovine, porcine and bovine fetuses. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1972, 139: 428-433.
- 86.- Munson P.L.: Studies on the role of the parathyroids in calcium and phosphatase metabolism. *Ann. N. Ac. Sc.*, 1955, 60, 776-783.
- 87.- Heerche J.N., Marcus R. y Aurbach G.D.: Calcitonin and the formation of 3'-5'-AMP in bone and kidney. *Endocrinology*, 1974, 94, 241-247.
- 88.- Deftos L.J.: Calcitonin. En: Gray, C.H., James V.H.T. (eds.). *Hormones and blood.* New York. Academic Press Inc., 1979, 76-83.

- 89.- Samaan N.A., Anderson G.D. and Adam-Mayne M.E. Immunoreactive calcitonin in the mother, neonate, child and adult. *Am J Obstet Gynecol*, 1975, 121: 622-625
- 90.- Wieland P., Fischer J.A., Trechsel U. Perinatal parathyroid hormone, vitamin D metabolites, and calcitonin in man. *Am J Physiol*, 1980, 239: E385-390.
- 91.- Pitkin R.M., Cruikshank D.P., Hargis G.A. Fetal calciotropic hormones and neonatal calcium homeostasis. *Pediatrics*, 1980, 66: 77-82.
- 92.- Seino Y., Ishida M., Yamaoka K. Serum calcium regulating hormones in the perinatal period. *Calcif Tissue Int*, 1982, 34: 131-135.
- 93.- Bergman L., Kjellmer I. Calcitonin and parathyroid hormone-relation t, early neonatal hypocalcemia in infants of diabetic mothers. *Biol Neonate*, 1974, 24: 151-160.
- 94.- Leroyer-Alizon E., David L. Evidence for calcitonin in the thyroid gland of normal and anencephalic human fetuses: Immunocytological localization, radioimmunoassay, and gel filtration of thyroid extracts. *J Clin Endocrinol Metab*, 1980, 50: 316-321.
- 95.- David L., Salle B.L., Putet G. Serum immunoreactive calcitonin in low birth weight infants. Description of early changes; effect of intravenous calcium infusion; relationship with early gastrin levels. *Pediatr Res*, 1981, 15: 803-808.
- 96.- Venkataraman P., Tsang R.C., Chen M. Elevated calcitonin in birth asphyxia and prematurity: role of the pathogenesis of early neonatal hypocalcemia. *Pediatr Res*, 1984, 18: 352A.
- 97.- Salle B.L., David L., Choparf J.P. Prevention of early neonatal hypocalcemia in low birth weight infants with continuous calcium infusion. Effect on serum calcium, phosphorus, magnesium and circulating immunoreactive parathyroid hormone and calcitonin. *Pediatr Res*, 1977, 11: 1180-1185

- 98.- Sann L., David L., Chayvialle J.A. Effect of early oral calcium supplementation on serum calcium and immunoreactive calcitonin concentration in preterm infants. *Arch Dis Child*, 1981, 55: 611-615.
- 99.- Werner S., Widstrom A.M., Wahlberg V. Immunoreactive calcitonin in maternal milk and serum in relation to prolactin and neurotensin. *Early Hum Devel*, 1982, 6: 77-82.
- 100.- Bucht E., Arver S., Sjoberg H.E. Heterogeneity of immunoreactive calcitonin in human milk. *Acta Endocrinol.* 1983, 103: 572-576.
- 101.- Galán F. y Garrido M.: Calcitonina en 1981. ¿Una hormona en busca de función?. *Rev. Clin. Esp.*, 1982, 164, 353-357.
- 102.- Rico H. Huertas R. et al.: Calcitonina y calcio en el tratamiento de la enfermedad ósea de Paget. *Med. Clin. (Barc.)*, 1982, 78, 179-182.
- 103.- Franck W., Bress N., Singer F. y Krane S.: Rheumatic manifestation of Paget's disease of bone. *Acta Pathol.*, 1974, 75, 496-500.
- 104.- Ardaillou R.: Kidney and calcitonin. *Nephron*. 1975, 15, 250-260.
- 105.- Bijvoet O.L.M., Van Der Silly J., De Vries H.R. et al.: Natriuretic effect of calcitonin in man. *N. Eng. J. Med.*, 1971, 284, 681-688.
- 106.- Prockop OJ, Kivirikko KJ. Hydroxyproline and the metabolism of collagen. In: *Treatise on Collagen*. Acad Press. New York 1968; 215-246
- 107.- Rico H, Del Rio A. Correlación entre la excreción urinaria de hidroxiprolina y masa ósea. *Med Clin* 1977; 69: 540-2

- 108.- Kivirikko KI. Excretion of urinary hydroxyproline peptide: in the assessment of bone collagen deposition and resorption. *Clin Dis Bone Min Metabol Amsterdam* 1983; 105-107
- 109.- Udenfriend S. Formation of hydroxyproline in collagen. *Science* 1966; 152: 1335-1340
- 110.- Rico H, Del Rio A. La hidroxiprolina en el diagnóstico biológico de lesión ósea. *Rev Esp Oncol* 1978; 25: 121-129
- 111.- Rico H, Del Rio A. La hidroxiprolina en el diagnóstico de metástasis óseas en enfermos oncológicos. *Oncología* 1977; 6: 227-232
- 112.- Cushieri A. Urinary hydroxyprolyne excretion in early and advanced breast cancer: a sequential study. *Br Med J* 1973; 60: 800-803
- 113.- Platt WD, Doolittle LH, Hartshorn JWS. Urinary hydroxyproline excretion in metastatic cancer of bone. *N Engl J Med* 1964; 271: 287-290
- 114.- Sanz J, Mayo J, Riancho J. Valor de la determinación de hidroxiprolina urinaria en la detección de metástasis óseas. *Med Clin* 1983; 81: 296-298
- 115.- Goverde BC, Veenkamp YN. Routine assay of total urinary hydroxyprolyne based on resin-catalysed hydrolysis. *Clin Chim Acta* 1972; 41: 29-40
- 116.- Roberts JG, Baum M. Predictive value of hydroxyproline:Creatinine ratio in advanced breast cancer. *Br Med J* 1975; 2: 559-561
- 117.- Niell HB, Palmieri GM. Postabsorption urinary hydroxyprolyne test in patients with metastatic bone disease from breast cancer. *Arch Inter Med* 1981; 243: 1471-73

- 118.- Wharton BA, Gongh G, Williams A. Urinary total hydroxyprolyne:creatinine ratio. Arch Dis Child 1972; 47: 74-79
- 119.- Cundy T, Bartlett M. Plasma hydroxyproline in uremia: relationship with histologic and biochemical indices of bone turnover. Metab Bone Dis Rel Res 1983; 4:297-303
- 120.- Maltallen CC. Circandian rhythm of urinary total and free hydroxyproline excretion and its relation to creatinine ratio. J Lab Clin Med 1970; 75:11-18
- 121.- Delmas PD, Stenner D. Serum bone gla protein increases with aging in normal women: implications for the mechanism of age-related bone loss. J Clin Invest 1983; 71: 1316-1321
- 122.- Hyldstrup L McNair P. Bone mass as referent for urinary hydroxyproline excretion: age and sex-related changes in 125 normals and in promary hyperparathyroidism. Calf Tissue Int 1984; 36: 639-644
- 123.- Nordin BEC, Horsman A, Aaron J. Diagnostic procedures. En: Nordin BEC Calcium, phophate and magnesium metabolism. New York 1976; 469-524
- 124.- Saleh AEC, Coenegrach T. The influence of age and weight on the urinary excretion of hydroxyproline and calcium. Clin Chim Acta 1968;21: 445-452
- 125.- Hoogkinson A, Thompson T. Measurement of the fasting urinary hydroxyproline:creatinine ratio in normal adults and its variations with age and sex. J Clin Pathol 1982; 35: 807-811
- 126.- Williams CB, Windsor ACM The use of the hydroxyproline-creatinine ratio in elderly patients. Geront Clin 1971; 13:277-284
- 127.- Roberts JG, Baum M. Predictive value of hydroxyproline:creatinine ratio in advanced breast cancer. Br Med J 1975; 2: 559-561

- 128.- Niell HB, Palmeri GM. Postabsorptive urinary hydroxyproline test in patients with metastatic bone disease from breast cancer. *Arch Inter Med* 1981; 243: 1471-3
- 129.- Rico H, Torrubiano J. Desviaciones analíticas en la osteoporosis involutiva. *Ann Med Inter (Madrid)* 1984; 5: 183-185
- 130.- Rico H, Charro A. Lack of hormonal changes in postmenopausal women of equal weight with and without osteoporosis, including relation to time of menopause. *Clin Rheumatol* 1984; 3: 337-343
- 131.- Nordin BEC. Diagnosis procedures in disorders of calcium metabolism. *Clin Endocrinol* 1978; 8: 55-67
- 132.- Robinson R. The significance of phosphoric esters in metabolism. New York University Press 1932.
- 133.- Harris H. The human alkaline phosphatases: what we know and what we don't know. *Clin Chim Acta* 1989; 186:133-150.
- 134.- Fleish H, Russell RGG, Straumen F. Effects of pyrophosphate on hydroxyapatite and its implications in calcium homeostasis. *Nature* 1966; 212: 901-903
- 135.- Rasmussen H. Hypophosphatasia. En: *Metabolic basis of Inherited Disease*. Ed by Stanbury JB. ed. McGraw-Hill Book Company. New York 1983; 1497-1507
- 136.- Seargeant LE , Stinson RA. Evidence that three structural genes code for human alkaline phosphatases. *Nature* 1979; 281: 152.154
- 137.- Moss DW, Campbell DM. Anagnostou-Kakaras E. Characterization of tissue alkaline phosphatase and their partial purification by starch-gel electrophoretic. *Biochem J* 1961; 81: 441-447

- 138.- Moss DW, King EJ. Properties of alkaline phosphatase fraction separated by starch.gel electrophoresis. *Biochem J* 1962; 84: 192-195
- 139.- Moss DW. Alkaline phosphatase isoenzymes. *Clin Chem* 1982; 28: 2007-2016
- 140.- Kay HD. Plasma phosphatase. The enzyme in disease, particularly in bone disease. *J Biol Chem* 1930; 89: 249-256
- 141.- Clark LC, Beck E. Plasma alkaline phosphatase activity.. Normative data for growing children. *J Pediat* 1950; 36: 335-343
- 142.- Krabbe S, Christiansen C, Rodbro P. Pubertal growth as reflected by simultaneous change in bone mineral content and serum alkaline phosphatase. *Acta Pediat Scand* 1980; 69: 49-52
- 143.- Berson SA, Yalow RS. Parathyroid hormone in plasma in adenomatous hyperparathyroidism, uremia and bronchogenic carcinoma. *Science* 1966; 154: 907-9
- 144.- Felberg JF. Radioimmunoassay in the clinical chemistry laboratory. *Adv Clin Chem* 1978; 20:129
- 145.- Hales CH, Randle PJ. Immunoassay of insulin with insulin antibody precipitate. *Biochem Journal* 1963; 88: 137-46
- 146.- Nicholson A, Barner BM. El laboratorio en la práctica pediátrica. *Pediatr Clin North Am (ed esp)* 1980; 4: 809-30
- 147.- Gundberg CM, Gallop PM. Osteocalcin, the vitamin K-dependent protein of bone. En: Acherman RC, Dekker EE (ed). *Modification of proteins during agains*. Alan R. Liss Inc. New York. 1985 a; 93-107

- 148.- Gundberg CM, Wilson Ps, Gallop PM. Determination of osteocalcin in human serum: results with two kits compared with those by a well characterized assay. Clin Chem 1985 b; 31: 1720-3
- 149.- Aaron DC, Lindall AV, Huber MB. Detection and characterization of small parathyroid hormone fragments in normal and hiperparathyroid glands and serum by immunoextraction and region specific radioimmunoassay. Clin Res 1981; 25: (abstract nº 400)
- 150.- Jacob JW, Potts JT, Bell NH. Calcitonin precursor identified by cell-free translation of mRNA. J Biol Chem 1979; 254: 10600-11979
- 151.- Goodman RH, Jacobs JW. Cell-free translation of messenger RNA coding for a precursor of human CT. 1979; 91: 932-938
- 152.- Singer FR, Habener JF. Multiple immunoreactive forms of calcitonin in human plasma. 1974; 61: 710-16
- 153.- Snider RH, Silva OL, Moore CF. Immunochemical heterogeneity of calcitonin in man: effect on radioimmunoassay. Clin Chim Acta 1977; 76: 1-14
- 154.- Body JJ, Heath H. Estimates of circulating monometric calcitonin: physiological studies in normal and thyroidectomized man. J Clin Endocrinol Metabol. 1983; 57: 897-903
- 155.- Becker KL, Bivins LE, Radfur RH. Study of calcitonin heterogeneity using a radioreceptor assay. Horm Metab Res 1978; 10: 457-8
- 156.- Diehk H, Ellingbol J. Analitical Chemistre 1956; 28: 822-84
- 157.- Bell RD, Doisey EA. Rapid colorimetric methods for the determination of phosphorus in urine and blood. J Biol Chem 1920; 44: 55-67

- 158.- Zilversmith DB, Davis K. J Lab Clin Med 1950; 35: 155-59
- 159.- Bower GN, McComb RB. Clin Chem 1986; 12: 80
- 160.- Bessey OA, Lowry ON, Brock MA. A method for rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum. J Biol Chem 1946; 164: 321-23
- 161.- Birkenhager JC. The urinary excretion of hidroxyprolyne in metabolic disorders of connective tissue and bone. Folia Med Neerl 1970; 13: 79-87
- 162.- Prockop DJ, Kivirikko KI. Relationship of hidroxyprolyne excretion in urine to collagen metabolism. Ann Intern Med 1967; 66: 1243-66
- 163.- Jaffé M. Kinetic serum creatinine assay. I. The role of various factors in determining specificity. Z Physiol Chem 1886; 10: 391-400
- 164.- Castillo M, Rodriguez E, Valdivia M. Determinación de insulina. Laboratorio 1979; 68: 343-58
- 165.- Martín A, Luna JD, Sanchez-Cantalejo E, Bolaños MJ. Bioestadística. Universidad de Granada. 1986.
- 166.- Sokal RR, Rohlf FJ. Biometría: principios y métodos estadísticos en la investigación biológica. Ed Blume Madrid, 1979
- 167.- Avramides A, Andreou A, Papouli M, Spyropoulou A. Osteocalcin (BGP) levels in preterm and full term infants. XI European Congress of Perinatal Medicine. Abstract Book. Rome, 1988: 57
- 168.- Nimouni F, Loughead J, Ross R, Tsang RC. Decreasing postnatal osteocalcin (OC) concentrations inversely correlate with parathyroid hormone (PTH) concentrations. Pediatr Res 1988; 23 (abstrac nº 482): 281A

- 169.- Sanchez MC, Potau J, Alonso J, Balaguer A, Ballabriga A. Osteocalcina como marcador de crecimiento. XVII Congreso Español de Pediatría. Resumen de comunicaciones. Zaragoza. An Esp Pediatr 1988; 90
- 170.- Villanueva C, Figueras J, Llorens A, Rivera F, Jimenez R. Calcio y metabolismo de la vitamina D en el periodo perinatal. Arch Pediatr 1987; 38: 413-22
- 171.- Janas LM, Picone TA, Benson JD, Mclean JR. Influence of dietary calcium to phosphorus ratio on serum calcium (Ca), phosphorus (P) and parathormone (PTH) during the first two weeks of life. Pediatr Res 1988; 23 (abstrac nº 1703): 485A
- 172.- Kruse K, Küsterman. Pruebas a favor de una resistencia periférica transitoria a la hormona paratiroidea en niños pretérmino. Acta Paediatr Scand 1987a; 4: 127-30
- 173.- Pitkin RM, Vitaminas y minerales en la gestación. En: Barnes JL y Pitkin R eds. Clinica Perinatológica 1975; 223-34
- 174.- Pitkin RM, Reynolds WA, Willians GA. Calcium regulating hormones during the menstrual cycle. J Clin Endocrinol Metab 1978; 47: 626-31
- 175.- Pitkin RM. Regulación endocrina de la homeostasis del calcio durante el embarazo. Clin Perinatol (ed esp) 1983; 3: 569-87
- 176.- Campoy C, Maldonado J, Narbona E, Bayés R. Consideraciones y criterios generales acerca de los requerimientos nutricionales de los recién nacidos de bajo peso. En: Molina JA, Bayés R, Narbona E (eds). III Jornadas de Neonatología: Nutrición en el periodo neonatal. Ed. Centro de Documentación de Uniasa. Granada. 1988: 79-153
- 177.- Moya M, Ballester I, Cortés E. Desproporción entre la oferta y los requerimientos reales de calcio en la nutrición del pretérmino. En: Avances en Nutrición Infantil. Uniasa. Madrid 1987: 129-38

- 178.- Quero J, Beceiro J, Morena V, García A, Pellicer A, Pérez J. Dificultades prácticas para la ordenada provisión de nutrientes en el recién nacido de muy bajo peso. En: Molina JA, Bayés R, Narbona E (eds). III Jornadas de Neonatología. Nutrición en el periodo neonatal. Ed. Centro de Documentación de Uniasa. 1988; 19-57
- 179.- Beceiro J, Martínez ME, Catalán P, Quero J. Niveles de PTH intacta en el recién nacido pretérmino. IX Reunión Nacional de Medicina Perinatal. Libro de ponencias y comunicaciones. Alicante 1987: 196
- 180.- Phang JM, Weiss IW. Maintenance of calcium homeostasis in human beings. In Greep RO, Astwood GD (eds) Handbook of Physiology. Sec 7, Vol 7. Baltimore. Williams & Wilkins, 1976 : 157
- 181.- Maldonado J, Bayés R, Narbona E, Rodríguez E. Contribución al estudio del metabolismo fosfocálcico en el periodo perinatal. An Esp Pediatr 1984; 21: 399
- 182.- Rowe JC, Carey DE. Phosphorus deficiency syndrome in very low birth-weight infants. Ped Clin North Am 1987; 34: 997-1017
- 183.- Espgan. Committee on Nutrition: Guidelines on infants nutrition I. Recommendations for the composition of an adapted formula. Acta Paediatr Scand 1979; (supplment 262): 1-20
- 184.- Espgan. Committee on Nutrition of de preterm infants. Acta Paediatr Scand 1987; (supplement 305): 1-19
- 185.- Academia Americana de Pediatría. Necesidades nutritivas de los recién nacidos de bajo peso. Pediatrics (ed esp) 1985; 19: 340-44
- 186.- Martín M, Campoy C. Remodelamiento óseo y crecimiento perinatal. Nutr. Inf. 1989; 347-8

187.- Wharton BA, Gogh G, Williams A, Kitts S. Urinary total hydroxyproline:creatinine ratio. Range of normal and clinical application in British Children. Arch Dis Child 1972; 47: 74-79

188.- Suquía B, Del Pino J, Juanes A. Comparación del índice hidroxiprolina/creatinina y de la hidroxiprolina de 24 horas. Rev Diag Biol 1988; 37: 177-179

189.- Klein L, Teree T. Skeletal metabolism in early infancy: urinary hydroxyproline. The journal of pediatrics 1966; 69:266-273

190.- Ziff M, Kibrick A, Dresner E. Excretion of hydroxyproline in patients with rheumatic and non-rheumatic diseases. J Clin Invest 1956; 35: 579

191.- Jasin HE, Fink CW, Wise W. Relationship between urinary hydroxyproline and growth. J Clin Invest 1962; 41: 1928-9

192.- Kivirikko K, Laitinen O. Clinical significance of urinary hydroxyproline determinations in children. Ann Paed Fenn 1965; 11: 148-153)

193.- Adzick NS, Harrison MR, Glick PL. Comparison of fetal, newborn and adult wound healing by histologic, enzyme-histochemical, and hydroxyproline determinations. Journal of Pediatr Surgery. 1985; 20: 315-319