Fosfatasas alcalinas en el estudio de la osteopenia del prematuro

Andrés Román N.¹; John Wilson Sch.¹; Juan Pablo Beca I.; José M. Cortés E.¹;
Vivianne Polette B.²; Ana María Espíndola A.³

Serum calcium, phosphate, alkaline phosphatase and bone density in preterm newborn infants at 28 throughout 44 weeks postconceptional age

Serum calcium, phosphate and alkaline phosphatases with its bone fraction were measured in ten 28 to 30 week gestational age preterm newborn infants. All these measurements were repeated at 32, 36 and 44 weeks of postconceptional age. Bone mineral content was also determined at 36 and 44 week's postconceptional age by dual photon absorptiometry. Results were matched with those from a control group of ten 36 to 37 week's gestation newborn infants. Serum calcium and phosphate levels were similar in both groups, while alkaline phosphatase activities at 32, 36 and 44 weeks were significantly higher in premature infants than in controls ($p < 0.0001$). Lower bone mineral contents were associated to higher alkaline phosphatase activity ($r = 0.77$, $p < 0.0001$) which was almost completely given by the bone fraction isoenzyme. No abnormalities were detected by x-ray bone studies among preterm infants. The usefulness of serum alkaline phosphatase measurement as well as the limitations of bone radiographs in the clinical approach of osteopenia of prematurity were thus highlighted.

(Key words: infant, premature, osteopenia, bone density, absorptiometry, photon, serum calcium, phosphate, alkaline phosphatase.)

La disminución de la mineralización ósea del recién nacido prematuro, también denominada osteopenia o enfermedad ósea metabólica del prematuro, es una enfermedad de incidencia creciente en la medida en que mejora la sobrevivencia de los recién nacidos de muy bajo peso de nacimiento¹⁻⁶. Estos recién nacidos, cuyos depósitos de calcio están disminuidos, son alimentados con fórmulas lácteas o alimentación parenteral con aportes de calcio, fosfatos y vitamina D insuficientes⁷⁻⁹. Además, son muy frecuentemente tratados con furosemida, que aumenta las pérdidas urinarias de calcio y contribuye al desarrollo de la enfermedad^{10, 11}. La evolución de la osteopenia en la mayoría de los casos es subclínica, y puede dar síntomas tardíos, con fracturas patológicas.

El estudio del contenido mineral del hueso¹¹⁻²¹, cuya utilidad en el manejo clínico individual es

discutible, es una herramienta fundamental en el diseño de fórmulas enterales y parenterales que aporten suficientes nutrientes para prevenir el desarrollo de la enfermedad²²⁻²⁵. La radiología presta poca utilidad porque su interpretación es subjetiva y detecta signos tardíos. La medición de las fosfatasas alcalinas en el suero representa un método más sensible y de uso clínico más generalizado como elemento de apoyo diagnóstico^{26, 27}. La densitometría ósea de doble fotón¹⁶, técnica de desarrollo y aplicación recientes en nuestro país, ha aumentado la sensibilidad y la precisión diagnóstica en el estudio de este trastorno.

Con el propósito de valorar la importancia de la fosfatasa alcalina en el diagnóstico y evolución de la osteopenia del prematuro, se diseñó un estudio prospectivo para comparar la actividad de fosfatasas alcalinas totales (FA) y su fracción ósea (FAO) en prematuros de 28 a 30 semanas de edad gestacional y en un grupo control de niños nacidos a las 36 a 37 semanas de gestación, con respecto a los resultados obtenidos con radiología y densitometría ósea.

1. Servicio de Recién Nacidos de Clínica Alemana.

2. Tecnólogo Médico, Laboratorio de Clínica Alemana.

3. Enfermera, Servicio de Recién Nacidos de Clínica Alemana.

Material y Método

El grupo de estudio estuvo constituido por 10 recién nacidos de pretérmino de 28 a 30 semanas de edad gestacional, ingresados entre mayo de 1990 y marzo de 1991 a los servicios de neonatología de la Clínica Alemana de Santiago y del Hospital Parroquial de San Bernardo. Se incluyó a todos los niños con estas características, independientemente de otras afecciones. Los niños fueron alimentados con leche materna o fórmula láctea para prematuros (S26 prematuros (R)) con 80 y 40 mg de calcio y fósforo por 100 ml de fórmula, respectivamente. En todos se midió calcemia, fosfemia, fosfatasa alcalina total (FA) y su fracción ósea (FAO) a las 32, 36 y 44 semanas de edad gestacional postconcepcional. Se realizó, además, radiografía esquelética en ocho de los diez niños y densitometría ósea a las 36 y 44 semanas corregidas en todos los casos.

El grupo control estuvo formado por 10 recién nacidos de 36 a 37 semanas de edad gestacional obstétrica, concordante con la evaluación pediátrica de la edad gestacional, libres de enfermedades, alimentados con leche materna exclusiva. En este grupo se determinó calcemia, fosfemia, FA, FAO, y densitometría ósea durante la primera semana de vida.

Para la determinación de calcemia se utilizó el método de O-cresoltaleína-complexona, sin desproteinización, y para la fosfemia la técnica de UV con molibdato de amonio en medio ácido. Para el estudio de las fosfatasa alcalinas se utilizó el método enzimático con tampón AMP y la fracción ósea por precipitación con lectina de germen de trigo²⁸ (Boehringer Mannheim).

La densitometría ósea se efectuó con densitómetro Norland de doble fotón, modelo 2600. Se hicieron determinaciones de cuerpo entero y se calculó contenido mineral total (TBM), TBM/peso y densidad ósea total (BMD)²⁹. El estudio radiológico consistió en radiografía de huesos largos en la que se buscó signos de desmineralización.

Para cada uno de los aspectos estudiados, con excepción de la radiología, se calcularon promedios y desviaciones estándar, utilizando la prueba de t de Student como para la significación de los resultados.

Los padres fueron informados y se les solicitó su consentimiento por escrito previo al ingreso de los pacientes en el estudio.

Resultados

El peso de nacimiento promedio fue 2 833 g, variando entre 2 500 y 3 290 g y la edad gestacional al nacer era 36,8 semanas en los controles. En el grupo de estudio, el promedio de peso de nacimiento era 1 277 g, variando entre 873 y 1 585, y la edad gestacional promedio fue 29,1 semanas.

En el grupo control la calcemia fue $9,28 \pm 0,94$ mg/dl, fosfemia de $5,86 \pm 0,67$ mg/dl y las fosfatasa alcalinas $216,2 \pm 71,3$ U/l con fracción ósea $216,2 \pm 71,3$ U/l. En los recién nacidos pretérmino, las calcemias fueron $9,88 \pm 0,73$ mg/dl, $9,85 \pm 0,59$ mg/dl y $10,44 \pm 0,57$ mg/dl, a las 32, 36 y 44 semanas de edad postconcepcional y las fosfemias $6,10 \pm 0,73$ mg/dl, $6,0 \pm 0,63$ mg/dl y $6,23 \pm 1,03$ mg/dl a las mismas semanas, sin diferencias estadísticamente significativas con el grupo control. En cambio, los valores de fosfatasa alcalina a las 32, 36 y 44 semanas fueron $439 \pm 125,5$; $471 \pm 126,5$ y $485 \pm 143,7$ U/l respectivamente y las correspondientes a la isoenzima ósea a las mismas semanas de edad gestacional corregida fueron de $400 \pm 102,6$; $466 \pm 118,3$ y $469 \pm 144,9$ U/l respectivamente, constituyendo la fracción ósea casi la totalidad de la actividad de la fosfatasa alcalina global, todos ellos significativamente diferentes de los registrados en los niños control ($p < 0,0001$).

El estudio radiológico, de ocho de los diez recién nacidos del grupo de prematuros, no mostró a las 36 y 44 semanas de edad gestacional corregida, signos de desmineralización en ninguno.

Tabla

Fosfatasa alcalinas séricas y densitometría ósea de diez recién nacidos de pretérmino (28 a 30 semanas EG)

	RN 36 - 37 sem		32 sem	DE	RN pretérmino 28 - 30 sem		44 sem	DE
	$\bar{x}$	DE	$\bar{x}$	DE	$\bar{x}$	DE	$\bar{x}$	DE
Fosfatasa alcalinas (U/l)	216,2	71,3	439	125,5	471	126,5	485	143,7
TBM/p (g)	19,7	1,9	—	—	11,2	1,5	12,2	2,2
Densidad ósea (g/cm ²)	0,531	0,06	—	—	0,275	0,05	0,536	0,04

TBM/p : masa ósea total /peso

La densidad ósea, en cambio, mostró correlación negativa con las fosfatasas alcalinas, según se aprecia en la tabla y en la figura 1. El análisis de regresión lineal arrojó un índice de 0,77 como se observa en la figura 2 ($p < 0,0001$).

Comentario

Se ha descrito retraso de la osificación en los recién nacidos prematuros alimentados con leche materna o con fórmulas lácteas habituales, con respecto a la velocidad de osificación observada en la vida intrauterina. La evolución asintomática de la enfermedad hasta las etapas tardías y la falta de un método clínico práctico para ello, dificulta el diagnóstico de la osteopenia. Se ha empleado con frecuencia las fosfatasas alcalinas en el estudio de la osteopenia, pero su interpretación presenta también algunas dificultades, en particular en establecer los valores normales para recién nacidos prematuros con velocidad de crecimiento tan acelerada como la del último trimestre del embarazo. Sin embargo, se ha sugerido que concentraciones séricas de 500 U/l indicarían osteopenia de cierta significación^{30, 31}. Por otra parte, la diversidad de isoenzimas de fosfatasas alcalinas podría hacer dudar de su especificidad en el diagnóstico de enfermedad ósea.

Nuestro estudio muestra que, en nacidos pretérmino, las concentraciones séricas de fosfatasas alcalinas y su isoenzima ósea están elevadas desde las 32 semanas postconcepcionales, son significativamente mayores que en niños de término y se mantienen sin variación hasta las 44 semanas de edad postconcepcional, estableciéndose una correlación negativa con la densidad ósea. Sin embargo, pese a la severidad de las alteraciones de la mineralización mostradas por estos dos métodos en todos los prematuros, ninguno tuvo evidencias clínicas o radiológicas de enfermedad. La normalidad de las determinaciones de calcemia y fosfemia en ellos tampoco aportó elementos de apoyo al diagnóstico. Esto respalda el concepto de que ni la clínica ni la radiología son confiables en el diagnóstico de osteopenia del prematuro.

El hecho que casi el total de las fosfatasas alcalinas detectadas corresponde a la fracción ósea ($\bar{x}$ 96,5%) y, por otro lado, la existencia de correlación significativa entre su elevación y la

Fig. 1: Fosfatasas alcalinas y densitometría ósea en recién nacidos del grupo control (36 - 37 sem) y en el grupo de estudio (28 - 30 sem) a las 32, 36 y 44 sem de edad postconcepcional.

Fig. 2: Correlación entre la fracción ósea de las fosfatasas alcalinas y la densitometría ósea en recién nacidos prematuros de 28 - 30 sem.

disminución de la densidad ósea determinada por densitometría de doble fotón, reafirman la utilidad de la medición de las fosfatasas alcalinas plasmáticas en el diagnóstico de la osteopenia del prematuro. Los exámenes radiológicos de los huesos —como se había descrito anteriormente y se corrobora en nuestro estudio— no muestran alteraciones pese a la severidad de las anomalías demostradas por las otras dos técnicas, lo que hace poco recomendable su uso en clínica.

Podemos concluir que las fosfatasas alcalinas totales, por corresponder casi completamente a la fracción ósea en el período neonatal, pueden ser usadas como elemento para el diagnóstico de osteopenia. La coincidencia entre los resultados las concentraciones de fosfatasas alcalinas y los de densitometría ósea, permiten recomendar la primera de las técnicas como método de apoyo diagnóstico de osteopenia.

Resumen

Se midieron calcemia, fosfemia, fosfatasa alcalinas y la fracción ósea de éstas en diez recién nacidos de pretérmino entre 28 y 30 semanas de edad gestacional al nacer y a las 32, 36 y 44 semanas de edad gestacional corregida. Además se les determinó densidad ósea por densitometría de doble fotón y radiografía esquelética a las 36 y 44 semanas de edad gestacional corregida. Los resultados obtenidos fueron comparados con un grupo control de otros diez recién nacidos de 36 a 37 semanas de edad gestacional. Calcemias y fosfemias no mostraron diferencias significativas entre ambos grupos. Sin embargo, las concentraciones séricas de fosfatasa alcalinas a las 32, 36 y 44 semanas fueron significativamente distintas que en el grupo control ($p < 0,0001$). La disminución de la densidad ósea en los niños prematuros ($p < 0,0001$) se correlacionó con la elevación de las fosfatasa alcalinas ($r = 0,77$; $p < 0,0001$). Casi el total de las fosfatasa alcalinas medidas correspondía a la fracción ósea. La radiografía ósea no demostró alteraciones en los niños prematuros y sus controles, a pesar de los cambios descritos. Se demuestra la utilidad de la medición de FA como elemento diagnóstico en osteopenia y se corrobora la nula utilidad de la radiología ósea en la detección precoz de esta patología.

(Palabras clave: recién nacido, prematuro, osteopenia, densidad ósea, densitometría de absorción, fotón, calcio sérico, fosfato, fosfatasa alcalina.)

Agradecimientos

Agradecemos la valiosa colaboración de la Sra. María Gloria Icaza, del Departamento de Estadística del INTA, Universidad de Chile, por el análisis estadístico de los datos; al Laboratorio Boehringer Mannheim que facilitó los reactivos para el análisis bioquímico; al Laboratorio Wyeth que aportó la fórmula láctea para prematuros.

Referencias

- Forbes G: Some remarks on bone mineralization. *J Pediatr* 1988; 113: 167-171.
- Minton S, Steichen J, Tsang R: Bone mineral content in term and preterm appropriate-for-gestational-age infants. *J Pediatr* 1979; 95: 1037-1042.
- Steichen J, Gratton T, Tsang R: Osteopenia of prematurity: the cause and possible treatment. *J Pediatr* 1980; 96: 528-534.
- Koo W, Gupta J, Nayanar V, Wilkinson M, Posen S: Skeletal changes in preterm infants. *Arch Dis Child* 1982; 57: 447-452.
- James J, Congdon P, Truscott J, Horsman A, Arthur R: Osteopenia of prematurity. *Arch Dis Child* 1986; 61: 871-876.
- Horsman A, Ryan S, Congdon P, Truscott J, James J: Osteopenia in extremely low birthweight infants. *Arch Dis Child* 1989; 64: 485-488.
- Roberts C, Chan G, Folland D, Rayburn C, Jackson R: Adequate bone mineralization in breast-fed infants. *J Pediatr* 1981; 99: 192-196.
- Gross S: Bone mineralization in preterm infants fed human milk with and without mineral supplementation. *J Pediatr* 1987; 111: 450-458.
- Mac Mahon P, Blair ME, Treweek P, Kovar I: Association of mineral composition of neonatal intravenous feeding solutions and metabolic bone disease of prematurity. *Arch Dis Child* 1989; 64: 489-493.
- Ryan S, Congdon P, Horsman A, James J, Truscott J, Arthur R: Bone mineral content in bronchopulmonary dysplasia. *Arch Dis Child* 1987; 62: 889-894.
- Atkinson S, Shah J, Mc Gee C, Steele B: Mineral excretion in premature infants receiving various diuretic therapies. *J Pediatr* 1988; 113: 540-545.
- Barden H, and Mazess R: Bone densitometry in infants. *J Pediatr* 1988; 113: 172-177.
- Steichen J, Steichen P, and Tsang R: Bone mineral content measurement in small infants by single-photon absorptiometry: Current methodologic issues. *J Pediatr* 1988; 113: 181-187.
- Vyhmester N, and Linkhart T: Measurement of humerus and radius bone mineral content in the preterm and term infant. *J Pediatr* 1988; 113: 188-195.
- Petersen S, Gølfredsen A, and Knudsen F: Lean body mass in small for gestational age and appropriate for gestational age infants. *J Pediatr* 1988; 113: 886-889.
- Petersen S, Gølfredsen A, and Knudsen F: Total body bone mineral in light for gestational age infants and appropriate for gestational age infants. *Acta Paediatr Scand* 1989; 78: 347.
- Mazess R: Bone densitometry in infants. *J Pediatr* 1988; 113: 196-204.
- Horsman A, Ryan SW, Congdon PJ, Truscott JG, Simpson M: Bone mineral content and body size preterm and full term infants. *Arch Dis Child* 1989; 64: 1579-1586.
- Mimouni F, and Tsang R: Bone mineral content: Data analysis. *J Pediatr* 1988; 113: 178-180.
- Minton S, Steichen J, and Tsang R: Decreased bone mineral content in Small-for-Gestational-Age infants compared with Appropriate-for-Gestational-Age infants: Normal serum 25-Hydroxyvitamin D and decreasing parathyroid hormone. *Pediatrics* 1983; 71: 383-388.
- Vyhmester N, Linkhart T, Hay S, Baylink D, Ghosh B: Measurement of bone mineral content in the term and preterm infant. *AJDC* 1987; 141: 506-510.
- Greer F, Steichen J, Tsang R: Effects of increased calcium, phosphorus and vitamin D intake on bone mineralization in very low-birth-weight infants fed formulas with polycose and medium-chain triglycerides. *J Pediatr* 1982; 100: 951-955.

23. Chan G, Leeper L, Book L: Effects of soy formulas in mineral metabolism in term infants. *AJDC* 1987; 141: 527-530.
24. Steichen J, Tsang R: Bone mineralization and growth in term infants fed soy-based or cow milk-based formula. *J Pediatr* 1987; 110: 687-692.
25. Greer F, McCormick A: Improved bone mineralization and growth in premature infants fed fortified own mother's milk. *J Pediatr* 1988; 112: 961-969.
26. Moss D: Alkaline phosphatase isoenzymes. *Clin Chem* 1982; 28: 2007-2016.
27. Rosalki S, Ying Foo A: Two new methods for separating and quantifying bone and liver alkaline phosphatase isoenzymes in plasma. *Clin Chem* 1984; 30: 1182-1186.
28. Behr W, Barnert J: Quantification of bone alkaline phosphatase in serum by precipitation with wheat-germ lectin: a simplified method and its clinical plausibility. *Clin Chem* 1986; 32: 1960-1966.
29. Wilson J, Román A, Beca JP, et al.: Osteopenia de niños nacidos antes de término. Evaluación mediante densitometría ósea. *Rev Chil Pediatr* 1993; 64: 89-93.
30. Glass EJ: Plasma alkaline phosphatase activity in rickets of prematurity. *Arch Dis Child* 1982; 57: 373.
31. Kovar HYA: Plasma alkaline phosphatase activity in the preterm neonate. *Acta Paediatr Scand* 1981; 70: 501.