

Excreción urinaria de deoxipiridinolina y su relación con la densidad mineral ósea, el estradiol sérico y los años de postmenopausia en mujeres mexicanas

Rosa Olivia Méndez Estrada y C. Jane Wyatt

Coordinación de Nutrición. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. (CIAD,A.C.).
Hermosillo, Sonora, México

RESUMEN. La excreción de deoxipiridinolina se relaciona a factores de riesgo asociados a pérdida de masa ósea, como es el caso de la disminución de estrógenos. En el presente trabajo se determinó la excreción de deoxipiridinolina en mujeres mexicanas en etapa postmenopáusica y su asociación con indicadores antropométricos, densidad mineral ósea, calcio y fósforo dietarios, años de postmenopausia y estradiol sérico. La densidad mineral ósea en el antebrazo y en el calcáneo de 47 mujeres de 45 a 63 años se midió utilizando absorciometría dual de rayos X. Para la ingestión de calcio y fósforo se aplicó un registro duplicado de consumo de alimentos de 24 horas. Para la cuantificación del estradiol y de la deoxipiridinolina se utilizó un equipo automático Imx y la técnica de ELISA, respectivamente. El promedio de excreción de deoxipiridinolina fue de $7,27 \pm 5,31$ nM/mM. El 29,8% de los valores individuales rebasaron los límites normales. La deoxipiridinolina se asoció significativamente a estradiol ($r = -0,37$, $p = 0,01$) y a años de postmenopausia ($r = 0,35$, $p = 0,02$), pero no hubo asociación de deoxipiridinolina con peso, talla, densidad mineral ósea, ni con el consumo de calcio y fósforo. En conclusión, alrededor del 30% de las mujeres estudiadas presentaron un valor promedio elevado de deoxipiridinolina. Si se considera la correlación negativa entre la deoxipiridinolina y el estradiol sérico, este segmento de la población puede considerarse en riesgo de pérdida acelerada de masa ósea. La terapia de reemplazo hormonal es importante para prevenir la pérdida acelerada de masa ósea en mujeres en etapa postmenopáusica.

Palabras clave: Deoxipiridinolina; postmenopausia; antropometría; densidad ósea; estradiol.

SUMMARY. Relationship of deoxyypyridinoline excretion with bone density, serum estradiol and years of postmenopause in Mexican postmenopausal women. Deoxyypyridinoline is one of the metabolites produced during bone resorption. Deoxyypyridinoline excretion, unlike other markers, is not affected by diet, or the activity level of other tissues. In postmenopausal women, increased excretion of deoxyypyridinoline has been associated with increased bone mass loss. The objective of this study was to determine the association of deoxyypyridinoline excretion in postmenopausal Mexican women with anthropometric factors, bone mass density, calcium and phosphorous intakes, post menopause years and serum levels of estradiol. The concentration of deoxyypyridinoline in 24 h urine was determined utilizing an ELISA technique. An average of $7,27 \pm 5,31$ nM Dpd/mM creatinine was found. A negative correlation between deoxyypyridinoline and serum estradiol levels ($r = -0,37$, $p = 0,01$) was found. Post menopausal years correlated positively ($r = 0,35$, $p = 0,02$) with Dpd. No significant correlation between deoxyypyridinoline and anthropometric data, bone mass density, calcium and phosphorous intakes was found. In conclusion, 30% of the subjects of this study had elevated levels of deoxyypyridinoline excretion and taking into consideration the negative correlation observed with serum estradiol, this segment of the population could be at risk for accelerated bone loss. Hormone replacement is important for post menopausal women to prevent increased bone loss.

Key words: Deoxyypyridinoline, postmenopause, anthropometry, bone density and serum estradiol.

INTRODUCCION

Los marcadores de actividad ósea son metabolitos producidos durante el proceso de recambio óseo. Su cuantificación se realiza en estudios de investigación para reforzar los resultados obtenidos al medir la masa ósea y para monitorear cambios de actividad ósea al aplicar prácticas de intervención terapéuticas en personas con masa ósea disminuida (1,2). Entre los marcadores utilizados se citan a la osteocalcina, cuya concentración se eleva durante la formación ósea y a los entrecruzadores de colágeno tipo I que se aumentan durante la resorción ósea (3). La deoxipiridinolina (Dpd)

proviene de entrecruzadores de colágeno y a diferencia de otros marcadores de resorción ósea su excreción no se ve afectada por la dieta ni por el grado de actividad de otros tejidos diferentes al hueso (4). Su elevación se observa en los procesos que implican pérdida acelerada de masa ósea como es el caso de mujeres en etapa menopáusica sin terapia de reemplazo hormonal (5-10). La excreción de Dpd también se relaciona directamente a factores de riesgo asociados a pérdida de masa ósea, como es el caso de la disminución de estrógenos. Mazess y Barden (11) mostraron la utilidad de cuantificar marcadores de resorción ósea al reportar que los valores elevados de calcio urinario/creatinina en un grupo de mujeres jóvenes no

correspondían a pérdidas óseas, dado que la excreción del marcador de resorción ósea utilizado no estaba elevada. El objetivo del presente trabajo fue determinar la excreción de Dpd en mujeres mexicanas en etapa postmenopáusica y su asociación con indicadores antropométricos, densidad mineral ósea, calcio (Ca) y fósforo (P) dietarios, años de postmenopausia y estradiol sérico.

MATERIAL Y METODOS

Sujetos

Los detalles referentes a la selección de mujeres, criterios de exclusión, estudios antropométricos, dietarios, densidad mineral ósea y estrógenos fueron reportados por nosotros con anterioridad (12). En resumen, participaron 47 mujeres de 45 a 63 años de edad, quienes tenían al menos un año de haber presentado la menopausia. Se midió el peso y la talla en una balanza (A&D, Japan) y en un estadiómetro portátil (Holtain, UK), respectivamente. En orina de 24 h se determinó creatinina usando un juego de reactivos comercial (Randox Laboratories Ltd., Ardmore UK). Se aplicó un registro duplicado de consumo de alimentos de 24 horas para medir la ingestión dietaria de Ca y P (12). La densidad mineral ósea en antebrazo (DMOb) y en el calcáneo (DMOt) se midió utilizando absorciometría dual de rayos X (PIXI lunar Radiation Corp., Madison, Wisc., USA) y para la cuantificación de estradiol sérico se utilizó un equipo automático Imx (Abbott Laboratories de México). Los criterios de exclusión fueron la presencia de enfermedades (Enfermedad de Cushing's, hiperparatiroidismo, enfermedades renales) y la toma de medicamentos reconocidos por afectar el metabolismo óseo (anticonvulsivos, corticosteroides, tiazidas, tiroxinas) (12).

Determinación de Dpd

La cuantificación de Dpd en orina se realizó utilizando la técnica de ELISA con anticuerpos policlonales antipiridinolina (Metra Biosystems, Inc. Mountain View, CA). La densidad óptica de las muestras se obtuvo en un lector de microplacas Bio-rad Modelo 550 (BIO RAD, Japan), a 405 nm. La concentración de Dpd urinaria se corrigió en base a la excreción de creatinina. El rango de valores normales para mujeres de 25 a 44 años de edad es de 3,0-7,4 nM/mM de acuerdo a los datos reportados por Metra Biosystems (Metra Biosystems, Inc. Mountain View, CA).

Análisis estadístico

Se utilizó el paquete NCSS 60 (13) para obtener el análisis estadístico descriptivo. Se calculó el coeficiente de correlación de Spearman para determinar la asociación entre Dpd y las variables antropométricas, dietarias, años de postmenopausia, DMO y estradiol, ajustando para edad, peso y talla. Los datos

dietarios y de Dpd se transformaron a log considerando que no mostraron distribución normal.

RESULTADOS

La Tabla 1 presenta los datos antropométricos, los años de postmenopausia y los valores de Dpd urinaria de las mujeres participantes en el estudio. Se incluyeron mujeres de 48 a 63 años con un promedio de 55,7 años de edad y 8,6 años de postmenopausia (12). El promedio de Dpd fue de $7,27 \pm 5,31$ nM/mM, encontrándose dentro del rango normal (3,0-7,4 nM/mM) para mujeres de 25 a 44 años de edad, de acuerdo a los datos reportados por Metra Biosystems (Metra Biosystems, Inc. Mountain View, CA). Sin embargo, aproximadamente la tercera parte (29,8%) de los valores individuales rebasaron el límite superior del rango normal.

TABLA 1

Edad, antropometría, años de postmenopausia y excreción urinaria de Dpd en mujeres postmenopáusicas de Hermosillo, Sonora, México (n=47)

Características	Media \pm SD	Rango
Edad, años	55.7 \pm 4.1	48 - 63
Peso, kg	71.7 \pm 10.8	46.6 - 101.2
Talla, m	.6 \pm 0.1	1.5 - 1.7
Años de postmenopausia	8.6 \pm 6.11	1 - 26
Dpd (nM/mM Cr)	7.27 \pm 5.31	0.68 - 30.43

Dpd = Deoxipiridinolina; Cr = Creatinina

La matriz de correlación con los datos de Dpd, antropometría, años de postmenopausia, niveles séricos de estradiol, DMOt, DMOB y Ca y P dietario se muestran en la Tabla 2. El estradiol sérico correlacionó negativamente con Dpd ($r = -0,37$, $p = 0,01$), mientras que los años de postmenopausia mostraron una asociación positiva ($r = 0,35$, $p = 0,02$). Dichas asociaciones no se modificaron al ajustar por peso, talla y edad. No hubo correlación significativa de Dpd con las variables antropométricas, con los valores de densidad ósea en las dos regiones anatómicas estudiadas, ni con el consumo de Ca y P ajustado por energía.

TABLA 2
 Coeficientes de correlación de Spearman entre antropometría, estradiol, densidad mineral ósea, años de postmenopausia, Dpd, fósforo y calcio dietarios¹

	Dpd	P
Edad	0.10	0.50
Peso	0.15	0.31
Talla	-0.10	0.52
Estradiol	-0.37	0.01
DMOt	-0.04	0.78
DMOb	-0.09	0.55
Años Men	0.35	0.02
P	-0.04	0.78
Ca	-0.17	0.27

¹DMOt = Densidad mineral ósea del calcáneo; DMOB = Densidad mineral ósea del antebrazo; Años Men = Años de postmenopausia; Dpd = deoxipiridinolina; P = fósforo dietario; Ca = Calcio dietario.

DISCUSION

La Dpd es un marcador de actividad ósea de elevada especificidad. Vesper et al (2) hicieron varias recomendaciones enfocadas a disminuir la variabilidad de los valores de piridinolina y Dpd. Entre otras sugerencias y coincidiendo con Eastell et al (14), señalaron que la recolección de orina de 24 h ofrece la ventaja de medir la excreción diaria integrada de la Dpd y además permite disminuir la variación intraindividual de la excreción de creatinina. Yu et al (15) cuantificaron Dpd en mujeres premenopáusicas y en postmenopáusicas con y sin terapia de reemplazo hormonal. Sus resultados mostraron valores más elevados en las mujeres postmenopáusicas sin terapia de reemplazo hormonal ($6,82 \pm 1,51$ nM/mM creatinina) al compararlas con las premenopáusicas ($5,37 \pm 0,92$ nM/mM creatinina) y con las postmenopáusicas con terapia hormonal ($4,77 \pm 1,77$ nM/mM creatinina). Pfister et al (16) publicaron niveles de Dpd de $7,43 \pm 2,53$ y $8,91 \pm 4,5$ nM/mM creatinina en mujeres de 41 a 90 años de edad previamente clasificadas como normales y osteoporóticas, respectivamente. En nuestro estudio, el valor medio de Dpd se encuentra dentro del rango normal, sin embargo la tercera parte de los valores individuales superaron los límites normales, indicando que en este grupo de mujeres existe una resorción ósea elevada. La medición de la densidad mineral ósea, clasificó al 37% de las mujeres como osteopénicas (12). Aparici et al (17) reportaron una prevalencia del 31% de resorción ósea acelerada en mujeres climatéricas con 4,5 años de menopausia, utilizando como marcador a la Dpd.

La asociación negativa entre la Dpd y los niveles de estradiol ha sido publicada para mujeres con deficiencias severas de estradiol (18, 19) y en mujeres mayores de 60 años

con disminución gradual de la masa ósea (16). Raisz et al (20) reportaron una reducción en los parámetros de resorción y un aumento en los de formación ósea en mujeres postmenopáusicas tratadas con estrógenos.

En estudios reportados por Gorai et al (21) y por Zittermann et al (22) se sugiere que aún los cambios cíclicos en los niveles de los esteroides sexuales durante el ciclo menstrual de las mujeres jóvenes, pueden provocar variaciones en los marcadores de formación y resorción ósea. En nuestro estudio, la asociación negativa entre Dpd y estradiol ($p = 0,01$) permaneció significativa aún después de ajustar por peso, talla y edad. Por lo tanto, cubrir los niveles séricos de estradiol podría ser una medida preventiva contra la pérdida ósea asociada a los bajos niveles de esta hormona. Sin embargo es importante que antes de iniciar una terapia estrogénica las mujeres conozcan sus riesgos y beneficios y que con esa base consideren iniciar dicha terapia. Entre los efectos benéficos de la terapia estrogénica se señalan, además de la prevención de pérdida de masa ósea, posibles propiedades neuroprotectoras (23), disminución de los niveles de colesterol en mujeres hipercolesterolémicas en etapa postmenopáusica (24) y disminución de los síntomas de la menopausia (25). Por otra parte, Kerlikowske et al (26) calcularon el riesgo relativo de cáncer de pecho en mujeres que participaron en estudios publicados entre 1996 y el 2000 y concluyeron que la probabilidad de cáncer de pecho es mayor cuando la terapia incluye progestina y tiene una duración de cinco años o más. Otros riesgos a la salud que se relacionan con la terapia estrogénica son tromboembolia (27) y enfermedades coronarias del corazón (28).

Las alteraciones en los niveles hormonales y en los marcadores de actividad ósea se observan en mayor o menor proporción durante la menopausia. Garnero et al (29) publicaron que la sola presencia de la menopausia incrementó los niveles de marcadores de formación ósea hasta un 52%, mientras que los de resorción ósea aumentaron hasta un 97% en mujeres con 40 años de postmenopausia. Se señala que dichos incrementos se conservan o se elevan con la edad o con los años de postmenopausia. En el mismo sentido, Eriksen et al (30) manifiestan que la pérdida acelerada de hueso esponjoso durante la postmenopausia es el resultado de una respuesta inadecuada de formación ósea frente a una resorción ósea acelerada.

Otros estudios puntualizaron que la resorción ósea presenta diferentes grados de actividad a través del tiempo de postmenopausia. Iki et al (31) reportaron una pérdida ósea acelerada durante los primeros 10 años posteriores a la menopausia, mientras que de acuerdo a los resultados de Taguchi et al (32) la resorción ósea se incrementa dramáticamente dentro de los primeros cinco años de postmenopausia y permanece elevada en mujeres osteoporóticas. Mazzuoli et al (33) cuantificaron un marcador de formación (fosfatasa

alcalina plasmática) y uno de resorción ósea (hidroxiprolina urinaria) en mujeres pre y postmenopáusicas saludables de 40 a 60 años de edad y concluyeron que aún cuando la resorción ósea supera a la formación en los 2 primeros años de postmenopausia, la formación ósea predomina los siguientes 3 ó 5 años, de tal manera que, en cierta medida, existe una reparación del desequilibrio entre la resorción y la formación ósea. La correlación positiva entre los años de postmenopausia y los niveles de Dpd, en el presente estudio, no se modificó cuando se ajustó por edad, peso y talla.

La falta de correlación entre los valores de densidad ósea y Dpd se puede explicar al considerar que la densidad ósea actual no solo es reflejo de la pérdida registrada durante los años de postmenopausia sino que también lo es de la cantidad de masa ósea alcanzada durante la adolescencia y juventud. Respecto a la relación no significativa entre Dpd y consumo de Ca, Kärkkäinen et al (34) coinciden con nuestro resultado al no encontrar efecto de diferentes dosis de Ca sobre marcadores de formación y resorción ósea, aún cuando ellos reportaron una disminución de la hormona paratiroidea y un aumento de la concentración de calcio sérico ionizado. En cuanto a la relación Dpd-ingesta de P, existen reportes realizados en mujeres (35, 36) y en hombres (37) en los cuales los resultados, al igual que los nuestros, mostraron cambios no significativos en los niveles urinarios de marcadores de resorción ósea frente a ingestas elevadas de fósforo.

En conclusión, los resultados obtenidos en el presente estudio mostraron un valor promedio de excreción de Dpd de $7,27 \pm 5,31$ nM/mM en mujeres mexicanas en etapa postmenopáusica. Dicho valor se encuentra dentro del rango normal, sin embargo alrededor de la tercera parte de las mujeres estudiadas podría, en años futuros, ver comprometidos sus valores de masa ósea como efecto de una actividad ósea aumentada. Cubrir los niveles séricos de estradiol, entre otras medidas, ofrecería cierto grado de protección frente a la pérdida ósea asociada a los bajos niveles de esta hormona.

REFERENCIAS

- Christenson RH. Biochemical markers of bone metabolism: an overview. *Clin Biochem* 1997;30:573-93.
- Vesper H, Demers L, Eastell R, Garnero P, Kleerekoper M, Robins S, Srivastava A, Warnick R, Watts N, and Myers G. Assessment and recommendations on factors contributing to preanalytical variability of urinary pyridinoline and deoxypyridinoline. *Clin Chem* 2002;48:220-235.
- Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover for the clinical investigation of osteoporosis. *Osteoporos Int Suppl* 1993;3:81-6.
- Colwell A, Russell RGG, Eastell R. Factors affecting the assay of urinary 3-hydroxy pyridinium crosslinks of collagen as markers of bone resorption. *Eur J Clin Invest* 1993;23:341-9.
- Seibel MJ, Woitge H, Scheidt-Nave C, Leidig-Bruckner G, Duncan A, Nicol P, Ziegler R, Robins SP. Urinary hydroxypyridinium crosslinks of collagen in population-based screening for overt vertebral osteoporosis: results of a pilot study. *J Bone Miner Res* 1994;9:1433-40.
- Seibel MJ, Woitge HW. Basic principles and clinical applications of biochemical markers of bone metabolism: biochemical and technical aspects. *J Clin Densitom* 1999;2:299-321.
- Uebelhart D, Gineyts E, Chapuy MC, Delmas PD. Urinary excretion of pyridinium crosslinks: a new markers of bone resorption in metabolic bone disease. *Bone Miner* 1990;8:87-96.
- McLaren AM, Hordon LD, Bird HA, Robis SP. Urinary excretion of pyridinium crosslinks of collagen in patients with osteoporosis and the effects of bone fracture. *Ann Rheum Dis* 1992;51:648-51.
- Seibel MJ, Cosman F, Shen V, Gordon S, Dempster DW, Ratcliffe A, Lindsay R. Urinary hydroxypyridinium crosslinks of collagen as markers of bone resorption and estrogen efficacy in postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1993;8:881-9.
- Hashimoto K, Nozaki M, Yokoyama M, Sano M, Nakano H. Urinary excretion of pyridinium crosslinks of collagen in oophorectomized women as markers for bone resorption. *Maturitas* 1994;18:135-42.
- Mazes RB and Barden HS. Bone density in premenopausal women: effects of age, dietary intake, physical activity, smoking, and birth-control pills. *Am J Clin Nutr* 1991;53:132-42.
- Méndez RO, Gómez MA, López AM, González H, Wyatt CJ. Effects of calcium and phosphorus intake and excretion on bone density in postmenopausal women in Hermosillo, México. *Ann Nutr Metab* 2002;46:249-253
- NCSS 60: NCSS 6.0.21-2 Statistical System for Windows, Kaysville, Utah. Number Cruncher Statistical Systems, 1996.
- Eastell R, Colwell A, Hampton L, Reeve J. Biochemical markers of bone resorption compared with estimates of bone resorption from radiotracer kinetic studies in osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1997;12:59-65.
- Yu SL, Ho, LM, Lim BC, Sim ML. Urinary deoxypyridinoline is a useful biochemical bone marker for the management of postmenopausal osteoporosis. *Ann Acad Med Singapore* 1998;27:527-9.
- Pfister, A.K., Martin, S., Welch Ch., and Saville, P.D. A single determination of a urinary biochemical marker of bone turnover for detecting bone density in the hip. *J App Res* 2002;2(3).
- Aparici M, Navarro M, Rabanaque G, García A, Otte A, Soriano M, Viñals E. Se encuentra en : <http://www.enfervalencia.org/ei/articles/rev55/artic05.htm>.
- Griesmacher A, Peichl P, Pointinger P, Mateau R, Broll H 2nd, Hartl W, Gruber W. Biochemical markers in menopausal women. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 1997;227:64-72.
- Peichl P, Griesmacher A, Pointinger P, Marteau R, Hartl W, Gruber W, Broll, H. Association between female sex hormones and biochemical markers of bone turnover in peri- and postmenopausal women. *Calcif Tissue Int* 1998;62:388-394.
- Raisz LG, Wiita B, Artis A, Bowen A, Schwartz S, Trahiotis M, Shoukri K, Smith J. Comparison of the effects of estrogen

- alone and estrogen plus androgen on biochemical markers of bone formation and resorption in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:37-43.
21. Gorai I, Taguchi Y, Chaki O, Kikuchi R, Nakayama M, Yang BC, Yokota S, and Minaguchi H. Serum soluble interleukin-6 receptor and biochemical markers of bone metabolism show significant variations during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83:326-332.
 22. Zittermann A, Schwarz I, Scheld K, Sudhop T, Berthold H, von Bergmann K, H. van der Ven and Stehle P. Physiologic fluctuations of serum estradiol levels influence biochemical markers of bone resorption in young Women. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 95-101.
 23. Marks SJ, Batra RR, Frishman WH. Estrogen replacement therapy for cognitive benefits: viable treatment or forgettable "senior moment"? *Heart Dis.* 2002 Jan-Feb;4(1):26-32.
 24. Godsland IF. Effects of postmenopausal hormone replacement therapy on lipid, lipoprotein, and apolipoprotein (a) concentrations: analysis of studies published from 1974-2000. *Fertil Steril.* 2001 May;75(5):898-915.
 25. van der Mooren MJ, Kenemans P. Postmenopausal hormone therapy: impact on menopause-related symptoms, chronic disease and quality of life. *Drugs.* 2004;64(8):821-36.
 26. Kerlikowske K, Miglioretti DL, Ballard-Barbash R, Weaver DL, Buist DS, Barlow WE, Cutter G, Geller BM, Yankaskas B, Taplin SH, Carney PA. Prognostic characteristics of breast cancer among postmenopausal hormone users in a screened population. *J Clin Oncol.* 2003 Dec 1;21(23):4314-21.
 27. Hoibraaten E, Qvigstad E, Arnesen H, Larsen S, Wickstrom E, Sandset PM. Increased risk of recurrent venous thromboembolism during hormone replacement therapy-results of the randomized, double-blind, placebo-controlled estrogen in venous thromboembolism trial (EVTET). *Thromb Haemost.* 2000 Dec;84(6):961-7.
 28. Warren MP. A comparative review of the risks and benefits of hormone replacement therapy regimens. *Am J Obstet Gynecol.* 2004 Apr;190(4):1141-67.
 29. Garnero P, Sornay-Rendu E, Chapuy MC, Delmas PD. Increased bone turnover in late postmenopausal women is a major determinant of osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1996;11:337-49.
 30. Eriksen EF, Hodgson SF, Eastell R, Cedel SL, O'Fallon WM, Riggs BL J. Cancellous bone remodeling in type I (postmenopausal) osteoporosis: quantitative assessment of rates of formation, resorption, and bone loss at tissue and cellular levels. *Bone Miner Res* 1990;5:311-9.
 31. Iki M, Kajita E, Dohi Y, Nishino H, Kusaka Y, Tsuchida C, Yamamoto K, Ishii Y. Age, menopause, bone turnover markers and lumbar bone loss in healthy Japanese women. *Maturitas* 1996;25:59-67.
 32. Taguchi Y, Gorai I, Zhang MG, Chaki O, Nakayama M, Minaguchi H. Differences in bone resorption after menopause in Japanese women with normal or low bone mineral density: quantitation of urinary cross-linked N-telopeptides. *Calcif Tissue Int* 1998;62:395-9.
 33. Mazzuoli G, Acca M, Pisani D, Diacinti D, Scarda A, Scarnecchia L, Pacitti MT, D'Erasmus E, Minisola S, Bianchi G, Manfredi G. Annual skeletal balance and metabolic bone marker changes in healthy early postmenopausal women: results of a prospective study. *Bone* 2000;26:381-6.
 34. Kärkkäinen M, Lamberg-Allardt Ch, Ahonen S, and Välimäki M. Does it make a difference how and when you take your calcium? The acute effects of calcium on calcium and bone metabolism. *Am J Clin Nutr* 2001;74: 335-342.
 35. Karkkainen M, Lamberg-Allardt C. An acute intake of phosphate increases parathyroid hormone secretion and inhibits bone formation in young women. *J Bone Miner Res* 1996;11:1905-1912.
 36. Grimm M, Muller A, Hein G, Funfstuck R, Jahreis G. High phosphorus intake only slightly affects serum minerals, urinary pyridinium crosslinks and renal function in young women. *Eur J of Clin Nut* 2001;55:153-161.
 37. Whybro A, Jagger H, Barker M, Eastell R. Phosphate supplementation in young men: lack of effect on calcium homeostasis and bone turnover. *Eur J Clin Nutr* 1998;52:29-33.

Recibido: 26-05-2004

Aceptado: 20-10-2004