

11204



**Universidad Nacional Autónoma
de México**

Facultad de Medicina
División de Estudios de Posgrado e Investigación

7
20J

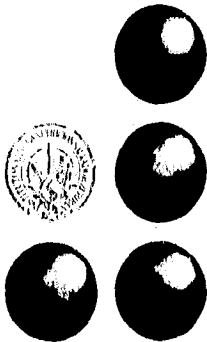
**EFFECTO DE LOS ANTICONCEPTIVOS
HORMONALES EN LA MASA OSEA MAXIMA**

Tesis de posgrado
que para obtener el diploma de

**Especialista en
Biología de la Reproducción Humana**

presenta

Dr. José Edwin Soto Pérez



UNAM

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

México, D.F., marzo de 1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



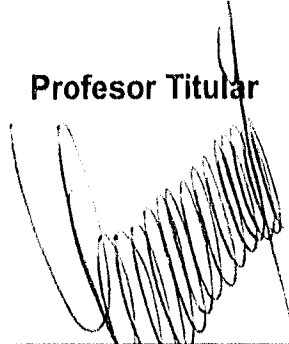
UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

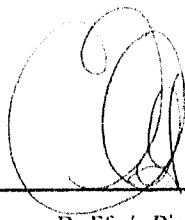
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Profesor Titular



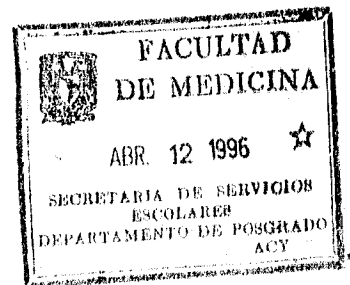
Dr. Gregorio Pérez-Palacios
Curso de Especialización en
Biología de la Reproducción Humana
Instituto Nacional de la Nutrición - Salvador Zubirán

Subdirector General de Enseñanza

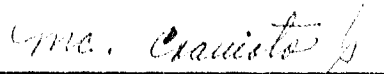


Dr. Efraín Díaz Jouanen
Instituto Nacional de la Nutrición - Salvador Zubirán

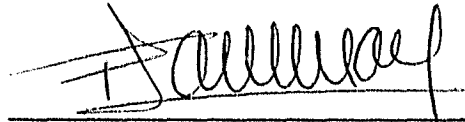
INSTITUTO NACIONAL DE LA NUTRICION
SALVADOR ZUBIRAN
SUBDIRECCION DE ENSEÑANZA
MEXICO, D. F.



Tutores



Dra. María del Carmen Crayloto
Profesor Adjunto
Curso de Especialización en
Biología de la Reproducción Humana
Instituto Nacional de la Nutrición - Salvador Zubirán



Dr. Fernando Larrea Gallo
Jefe del Departamento de Biología de la Reproducción
Instituto Nacional de la Nutrición - Salvador Zubirán

Asesor de Tesis

Dr. Alberto Odor Morales
Investigador Titular
Instituto Nacional de la Nutrición - Salvador Zubirán

Agradecimientos

A la Fundación Rockefeller (Nueva York, E.U.A.)
y al Programa Especial de Enseñanza e Investigación en Reproducción Humana,
de la Organización Mundial de la Salud (Ginebra, Suiza),
que patrocinaron mi entrenamiento de posgrado
y el desarrollo del estudio, respectivamente

Quiero externar mi gratitud a:
la Dra. María del Carmen Cravioto
por proporcionarme sus conocimientos, apoyo y asesoramiento
en la realización de esta tesis
y especialmente
al Dr. Fernando Larrea Gallo
por brindarme su amistad, consejos y apoyo,
valiosos para culminar esta subespecialidad

Asimismo,
hago patente mi reconocimiento a los investigadores
del Departamento de Biología de la Reproducción
y al personal de la Clínica de Salud Reproductiva,
en especial a:
la trabajadora social Guadalupe Tapia
y al señor José Luis Fuziwara,
quienes colaboraron directamente en el proyecto

Dedicatoria

A mi hijo Giuseppe
por ser el manantial inagotable de todas mis inspiraciones y alegrías

A mi esposa Teresa
por su amor y comprensión

A mi papá José
por darme el ejemplo de entereza y perseverancia

A mis hermanos Nelva, Janeth y John
por su cariño y apoyo permanente

Índice

| | |
|--|----|
| INTRODUCCIÓN | 7 |
| 1) Generalidades | 7 |
| 2) Factores determinantes de la masa ósea máxima | 8 |
| 3) Factores que modulan el remodelamiento óseo | 10 |
| 4) Efecto de los eventos reproductivos | 14 |
| 5) Efectos de los esteroides sexuales sintéticos | 15 |
| JUSTIFICACIÓN | 19 |
| OBJETIVO | 20 |
| HIPÓTESIS | 20 |
| DISEÑO | 20 |
| MATERIAL Y MÉTODOS | 22 |
| Criterios de selección | 22 |
| Procedimientos clínicos | 22 |
| Densitometría | 23 |
| Control de calidad de las mediciones | 25 |
| Análisis estadístico | 27 |
| RESULTADOS | 29 |
| DISCUSIÓN | 33 |
| CONCLUSIÓN | 37 |
| REFERENCIAS | 38 |

INTRODUCCIÓN

1) Generalidades

Los esteroides sexuales tienen un importante impacto en la fisiología del hueso; participan en el dimorfismo sexual del esqueleto, juegan un papel importante en mantener la homeostasis mineral durante la etapa reproductiva y son esenciales en el mantenimiento del balance óseo en los adultos. Las concentraciones insuficientes de ciertos esteroides sexuales predisponen al esqueleto humano a la pérdida ósea y fracturas por osteoporosis; los estrógenos constituyen los esteroides sexuales más importantes para prevenir la osteoporosis en la mujer.

Durante el crecimiento y la maduración esquelética, los esteroides sexuales (predominantemente los estrógenos en las mujeres y los andrógenos en los hombres), en combinación con otras hormonas, tienen los siguientes efectos: son responsables del dimorfismo sexual del esqueleto, inician el incremento puberal, modifican la velocidad de crecimiento y determinan el cierre de la placa de crecimiento epifisaria que resulta en el cese del crecimiento lineal de los huesos largos.¹ En relación con el dimorfismo sexual los hombres son típicamente más altos que las mujeres, tienen un espesor de hueso cortical y una masa ósea total mayores que ellas; en cambio, las mujeres tienen una densidad ósea de hueso trabecular mayor que los hombres.² Antes de la pubertad, la masa ósea y la velocidad de crecimiento esquelético son comparables en ambos sexos, sin embargo, el brusco aumento en la producción de esteroides sexuales en la pubertad, en conjunto con la acción de la hormona de crecimiento, hormonas tiroideas, cortisol y quizá otras hormonas, inician la fase transitoria de incremento en el crecimiento esquelético, alrededor de los dos primeros años en ambos sexos. Este incremento de crecimiento empieza aproximadamente a los 11 años de edad en las niñas y alrededor de los 13 a 14 años en los niños. En la etapa prepuberal el promedio de la velocidad del crecimiento lineal es de aproximadamente 5 cm/año, mientras que durante la adolescencia aumenta, alcanzando una velocidad pico promedio de alrededor de 9 cm/año en las mujeres y de 10.5 cm/año en los hombres.

El incremento de la masa ósea durante la adolescencia se produce por la combinación del incremento en la longitud ósea, diámetro óseo, anchura ósea cortical y masa ósea trabecular. Estos cambios hormonales también provocan el cierre de la placa de crecimiento endocondral, con el subsecuente cese del crecimiento lineal esquelético, aproximadamente a los 17 años de edad en la mujer y a los 19 años en el hombre.³ La masa ósea cortical continúa aumentando después del cierre de las epifisis ya que la masa máxima no se alcanza sino hasta aproximadamente los 30 años de edad.⁴ Aunque hay evidencias de que el incremento de la masa ósea

trabecular continúa después del cierre de la placa de crecimiento^{4,5}, estudios recientes en mujeres adolescentes han demostrado que la densidad ósea máxima en la columna lumbar es obtenida tempranamente, a los 16 años.⁶⁻⁹ La masa ósea comienza a declinar un poco después (cerca de los 40).^{10,11} Así, aunque el grado de pérdida de hueso se acelere en el periodo posmenopáusico inmediato, el proceso comienza en los años de la premenopausia.

2) Factores determinantes de la masa ósea máxima

Los principales factores que influyen en la constitución de la masa ósea, enlistados en la tabla 1, son los siguientes:

Tabla 1

| Factor | Comentarios | Referencias |
|------------------|--|--|
| Genético | Influye en más del 75% de la DMO Polimorfismo de la región 3' del gen VDR | Morrison ¹⁰ Yamagata ¹² |
| Peso Corporal | En mujeres, la masa grasa contribuye a la producción periférica de estrona | Reid ¹⁵ |
| Dieta | Correlación entre la tasa de aposición ósea y absorción de calcio | Recker ⁴ |
| Ejercicio | Efecto positivo del grado de actividad física sobre la DMO en mujeres mayores de 30 años | Recker ⁴ |
| Función hormonal | Relación lineal entre la DMO de columna lumbar en mujeres jóvenes con función ovárica normal | Drinkwater ¹⁷ |

DMO = densidad mineral ósea

a) Factor genético. Estudios en gemelos sugieren que más del 80% de la variabilidad de la densidad ósea del esqueleto axial y apendicular es determinada genéticamente.^{12,13} Por ejemplo, recientemente se ha informado que en mujeres australianas los factores genéticos influyen en más del 75% sobre la densidad mineral ósea (DMO) y que esto puede deberse a un polimorfismo en la región 3' del gen VDR.¹⁴ Tales efectos parecen ser de mayor relevancia en las mujeres jóvenes y se observan en relación con las características de la masa ósea máxima alcanzada así como con la pérdida ósea subsecuente.¹⁵ Como quiera, tales observaciones fueron encontradas en algunas poblaciones,¹⁶ pero no en otras;¹⁷ se requieren por tanto de estudios posteriores que definan las bases genéticas exactas de la masa ósea máxima. Diversos grupos étnicos y raciales pueden adquirir diferentes valores de masa ósea máxima. Por ejemplo, las

mujeres afroamericanas tienen valores de masa ósea más altos que las mujeres caucásicas con peso y edad comparables. De la misma manera, las mujeres asiáticas tienden a tener valores bajos de masa ósea, aunque el riesgo de fractura a edades similares es menor que en las caucásicas.¹⁸

b) Peso corporal. Es uno de los más fuertes determinantes de la masa ósea máxima, al parecer por existir una relación entre el peso y la fuerza de tracción ejercida; este hecho se puede ver más claramente en los hombres. En cambio, en las mujeres, el efecto del peso se asocia a la acumulación de masa grasa cuyo mecanismo más importante es la producción periférica de estrona (sobre todo en mujeres obesas), aunque el efecto mecánico también está presente.¹⁵

c) Dieta. El hueso está compuesto de proteína y mineral. Muchos factores nutricionales influyen efectivamente en el organismo complementando el componente genético del desarrollo óseo. Estos incluyen proteínas, vitaminas y minerales. El esqueleto humano al nacimiento contiene aproximadamente 25 g de calcio, comparado con 1,000 g o más en la mujer madura. En los adultos sólo alrededor de un 4% a 8% del calcio ingerido es retenido, pero durante el crecimiento esta captación es elevada, aproximadamente un 40% en la infancia y un 20% en los adultos jóvenes. Recker y colaboradores informaron que existe una correlación muy importante en la tasa de aposición ósea y la absorción de calcio, expresada en la relación calcio/proteína de la dieta.⁴ La absorción de proteínas influye fuertemente en la conservación y excreción de calcio, por lo que los requerimientos de calcio varían directamente con la absorción de proteína y de fósforo. La absorción adecuada de calcio es crítica para alcanzar la masa ósea máxima óptima y también modula la tasa de pérdida ósea asociada con la edad. Los requerimientos óptimos de calcio varían entre 400-600 mg en niños de 6 a 12 meses de edad, hasta 1000 a 1500 mg en mujeres posmenopáusicas.

d) Ejercicio. Este es también un determinante importante de la masa ósea, la cual se incrementa cuanto mayor es la carga mecánica, sobre todo en lo que respecta a la tracción que se ejerce en las palancas óseas. En un estudio longitudinal Recker encontró un efecto positivo del grado de actividad física con la ganancia de densidad ósea en mujeres de la tercera década de la vida.⁴ En otro estudio se documentó aumento en la densidad ósea en el brazo dominante de adolescentes, jugadores de basquetbol.²⁰

e) Estado hormonal. El crecimiento esquelético normal demanda de un estado endócrino igualmente adecuado (hipófisis, suprarrenal, tiroides y gónadas). Particularmente relevante en la obtención de un pico de masa ósea inadecuado en mujeres jóvenes es la deficiencia gonadal (principalmente de estrógenos, pero también de progesterona); las concentraciones hormonales también tienen un efecto positivo en la ganancia ósea después de la pubertad. Se ha visto que los estrógenos actúan en el hueso ajustando la masa ósea en respuesta a la carga mecánica. Drinkwater encontró una relación lineal entre la densidad ósea de la columna lumbar y la normalidad de la función ovárica en mujeres jóvenes atletas.²¹

3) Factores que modulan el remodelamiento óseo

En las últimas dos décadas y en forma gradual se ha incrementado el conocimiento del papel crítico que desempeñan los esteroides sexuales, particularmente los estrógenos, en el control del remodelamiento óseo. Aunque no está completamente esclarecido el proceso de remodelamiento y su control, hay suficiente información para llegar a la conclusión de que los esteroides sexuales juegan un papel clave en la homeostasis del esqueleto, probablemente regulando la frecuencia con que los nuevos ciclos de remodelado son iniciados y quizá también modulando el equilibrio entre resorción y formación en cada ciclo de remodelado. Se cree que los estrógenos juegan un importante papel en el mantenimiento de la masa ósea en mujeres adultas, en parte, ejerciendo una supresión tónica del remodelado del hueso esponjoso y manteniendo el equilibrio de remodelado entre la actividad osteoblástica y osteoclástica.²²⁻²⁴ Cuando hay deficiencia de estrógenos se evidencia que hay incremento en la frecuencia de activación de las unidades nuevas de remodelamiento óseo y existe incremento en el desequilibrio del remodelado,²³ como resultado del incremento de la actividad osteoclástica; los osteoclastos construyen profundos espacios de resorción y hay alguna evidencia de que la habilidad de los osteoblastos para rellenar estos espacios está disminuida. Estas anomalías se ven con mayor intensidad en mujeres posmenopáusicas osteoporóticas.²²

a) Estrógenos. En 1988 dos grupos de investigadores informaron la existencia de receptores de alta afinidad para estrógenos (RE) en cultivo de células óseas, en rata y en humano.^{25, 26} Estos hallazgos fueron confirmados por otros grupos.^{27, 28} La presencia del RE fue demostrada con diferentes técnicas: análisis de unión de ligando,^{25, 26} Northern blot^{25, 26, 29} e inmunohistoquímica.^{29, 30} En el estudio de Eriksen y cols. el número de RE en células osteoblásticas cultivadas fue muy bajo (200-500 sitios por célula), alcanzando sólo alrededor del 5% de las concentraciones del receptor uterino.²⁵ A pesar de la presencia de receptores de estrógenos en el osteoclasto, es posible que la unión del estrógeno al receptor de osteoblastos regule indirectamente la función osteoclástica.

Tanto los osteoblastos como los osteoclastos son derivados de progenitores que residen en la médula ósea, según se muestra en la figura 1. Los osteoblastos pertenecen a la línea del mesénquima del estroma medular y los osteoclastos a la línea hematopoyética. El desarrollo de los osteoclastos a partir de estos progenitores es dependiente de las células osteoblásticas del estroma que son la mayor fuente de las citocinas (interleucinas 6 y 11) que desempeñan una acción estimuladora de la osteoclastogénesis. Estudios más recientes sugieren que la regulación de muchos factores de resorción ósea se realiza indirectamente a través de mecanismos mediados por osteoblastos. Se ha demostrado que las citocinas y algunos factores de crecimiento incrementan la actividad osteoclástica, incluyendo el factor estimulante de colonias

macrófago granulocito (FEC-MG),³¹ el factor estimulante de colonia macrófago (FEC-M),³² el factor de necrosis tumoral alfa (FNT- α)³³ y la interleucina-1 (IL-1),³⁴ además de la ya citada interleucina-6 (IL-6).³⁵ Los tres últimos se conocen también como factores de activación de osteoclastos (FAO). Los efectos del factor de crecimiento tumoral β (FCT- β) en la resorción ósea son variables, pero fundamentalmente es un potente inhibidor de la función osteoclástica y ha sido informado que disminuye tanto la actividad resorptiva osteoclástica como el reclutamiento osteoclástico.³⁶ Asimismo, la interleucina 4 (IL-4) inhibe la formación de células osteoclásticas y la resorción ósea osteoclástica en cultivo de órgano de ratón.³⁷ También se sabe que la interleucina-8 (IL-8) está involucrada en la quimiotaxis y la interacción célula-célula y que puede afectar el reclutamiento de los osteoclastos y la interacción osteoclasto-osteoblasto. Se conoce que los esteroides sexuales, particularmente los estrógenos, regulan algunos de los inductores de resorción ósea ya mencionados como FNT- α e IL-1,³⁸⁻⁴⁰ según se esquematiza en la figura 1. Estos son secretados en cantidades aumentadas en monocitos de sangre periférica de mujeres premenopáusicas ovariectomizadas con concentraciones bajas de estrógenos en suero, comparadas con controles de la misma edad.³³ El FNT- α e IL-1 rápidamente actúan en el precursor del osteoblasto induciendo la producción y secreción de FEC-MG e IL-6, con estimulación de la diferenciación osteoclástica y por lo tanto incrementando la población osteoclástica y la resorción ósea.³⁷ Asimismo los estrógenos inhiben la secreción osteoblástica de IL-6 y en cultivos de estroma de médula ósea se ha visto que inhiben las líneas celulares osteoblásticas.⁴² Otro posible intermediario en la acción de los estrógenos es el factor de crecimiento linfocito/ hematológico, interleucina-4. La IL-4 inhibe la diferenciación osteoclástica;³⁷ recientemente en ratón transgénico con sobreproducción de IL-4 se vio que hubo disminución en la formación ósea.⁴³ Finalmente el factor de crecimiento tipo I parecido a la insulina (FCI-1) que tiene actividad mitogénica en cultivo de células osteoblásticas y estimula la producción de colágena tipo I,⁴⁴ también ha sido implicada en los efectos de los estrógenos en el hueso, siendo que su producción en el hígado y en otros órganos es regulada por los estrógenos. Observaciones similares sugieren que la FCI-1 puede estar involucrada en la osteogénesis de la homeostasis del hueso. En resumen los mecanismos con que los estrógenos disminuyen la resorción ósea pueden estar mediados por la liberación de citocinas y factores de crecimiento por el osteoblasto.

b) Progesterona. El ovario premenopáusico produce cantidades importantes de progesterona durante la fase lútea de cada ciclo; en un estudio se sugiere que la secreción inadecuada de progesterona (ciclos anovulatorios frecuentes) está asociada con pérdida de la masa ósea de hueso esponjoso en los cuerpos vertebrales en mujeres premenopáusicas, aún en presencia de adecuadas concentraciones de estrógenos.⁴⁵

c) Andrógenos. Los andrógenos, especialmente la testosterona y la androstendiona son produ-

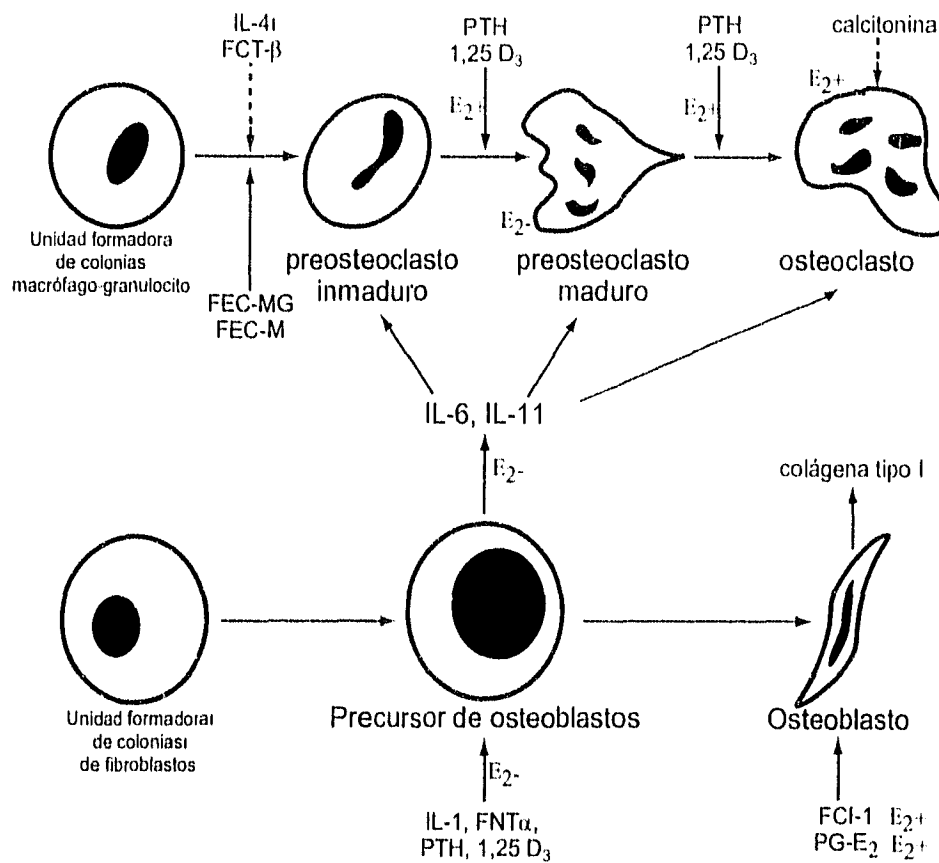


Figura 1. Vías de diferenciación de osteoblastos y osteoclastos. E₂ indica los puntos modulados por estrógenos (E₂⁻ = inhibición; E₂⁺ = estimulación)

cidos en el ovario premenopáusico y pueden continuar siendo secretados en el ovario posmenopáusico por lo menos en algunos individuos.⁴⁶ Las concentraciones circulantes de testosterona durante la posmenopausia son aproximadamente 25 a 50% menos que las cifras premenopáusicas. Se ha observado que los andrógenos in vitro estimulan directamente la proliferación y diferenciación de las células óseas.^{47, 48}

Aunque la deficiente secreción de estrógenos es el principal determinante de la pérdida ósea en los primeros años de la posmenopausia, la producción (o falta de) de otros esteroides, especialmente de andrógenos, puede ser importante en las etapas tardías de la vida.⁴⁹

d) Prostaglandinas. En relación a los efectos de las prostaglandinas se ha sugerido que los estrógenos pueden afectar el metabolismo óseo indirectamente por su influencia en la síntesis endógena de prostaglandina E₂ (PG-E₂). Esta prostaglandina causa estimulación de la síntesis de colágena osteoblástica, pero también estimula la resorción ósea.^{50, 51} Se ha evidenciado que la PG-E₂ incrementa el número y la actividad del osteoclasto en cultivo óseo.⁵² Como quiera el

efecto de la PG-E₂ activando la resorción ósea no ha sido confirmado en osteoclastos aislados.⁵³ Los osteoblastos producen cantidades significativas de PG-E₂, que pueden tener la función de acoplar la actividad osteoblástica y osteoclástica.⁵⁴ La administración de PG-E₂ a ratas ooforectomizadas incrementa la masa ósea trabecular aproximadamente en un 35% comparada con el 20% en ratas hembras intactas.⁵⁵ La administración de PG-E₁ y E₂ en humanos y animales estimula la formación ósea del endostio y del periostio. En animales de experimentación, tanto la formación como la resorción ósea se incrementan, pero el equilibrio es claramente positivo.⁵⁶ En resumen, los múltiples y potentes efectos de las PGE en las células óseas, in vitro e in vivo, sugieren fuertemente su participación como mediadores locales del metabolismo óseo. Más que un mediador obligatorio, la PGE actúa como un modulador, que junto con otros factores, pueden controlar la velocidad de formación y resorción ósea.

Además de los factores óseos mencionados existen otros factores sistémicos que regulan el metabolismo óseo; como son:

e) Calcitonina. La calcitonina ejerce un efecto positivo en el metabolismo óseo y se ha sugerido que desempeña un papel como intermediario entre los estrógenos y el metabolismo del hueso.⁵⁷ La calcitonina es la única hormona que tiene efectos directos en los osteoclastos que poseen receptores para ella.⁵⁸ La estimulación de la mitogénesis de los precursores osteoblásticos en los humanos es incierta. Esta hormona inhibe a los osteoclastos aislados que erosionan la superficie de rebanadas de hueso en cultivo.⁵³ Altas dosis de estradiol y bajas dosis de progestágenos estimulan la secreción de calcitonina en cultivo de células C de rata.⁵⁹ La administración de estrógenos a mujeres posmenopáusicas resulta en aumento significativo en el plasma de las concentraciones de calcitonina medidas a medio día, pero no a las 9 de la mañana.⁶⁰ En otros estudios clínicos no se observaron cambios en las concentraciones plasmáticas de calcitonina durante la terapia estrogénica de reemplazo.⁵⁷⁻⁶¹ De cualquier manera las concentraciones basales de calcitonina fueron estadísticamente más bajas en mujeres posmenopáusicas que en premenopáusicas y esto se correlacionó fuertemente con las concentraciones circulantes de estrona. Este estudio concluye que la capacidad secretora de la calcitonina parece estar modulada por las concentraciones circulantes de estrona.⁶²

f) Hormona paratiroidea. La PTH por su parte es una potente hormona de resorción ósea que incrementa el número y actividad de los osteoclastos in vivo.⁶³ La PTH estimula la liberación de calcio por el hueso en cultivo e incrementa las concentraciones séricas de calcio in vivo.^{64,65} También se sabe que la PTH estimula la generación de osteoclastos en cultivo de médula ósea.⁶⁶ Estos efectos se piensa que son indirectos, puesto que los receptores de PTH fueron visualizados en osteoblastos y no en osteoclastos.⁶⁷ Hay muy pocas evidencias directas de que los estrógenos tienen efectos en la secreción de PTH en mujeres adultas.

g) Vitamina D. La mayor función del metabolito activo de la vitamina D, por su parte

(1,25(OH)₂D₃) es la de incrementar la absorción de calcio en el intestino. Las células óseas poseen receptores de 1,25(OH)₂D₃ que responden a esta hormona in vitro, pero el efecto directo in vivo es incierto. En estudios in vitro no se conoce efecto directo alguno de los estrógenos en la formación de calcitriol.⁶⁸ La regulación potencial del calcitriol que puede estar influida por los estrógenos es vía PTH, calcio extracelular y fósforo.⁶⁹

4) Efecto de los eventos reproductivos

a) Embarazo y lactancia. Los estudios de la relación entre el comportamiento reproductivo y la densidad ósea no han sido consistentes en sus hallazgos.^{11, 73, 88} El control endocrinológico de la homeostasis mineral durante el embarazo y la lactancia está pobremente caracterizado y las acciones específicas de los estrógenos son desconocidas. Aunque estudios en animales lactantes han mostrado una pérdida de mineral del hueso, no se puede concluir que exista una relación entre la densidad mineral ósea y la lactancia en humanos. Algunos estudios sugieren que una paridad y lactancia altas pueden afectar de manera adversa la densidad ósea, mientras que otros concluyen que estos factores no tienen efecto o pueden aún tener un efecto de protección.^{71, 73, 83-}
⁸⁵ Goldsmith y Johnson encontraron que mujeres que amamantaron durante dos semanas o más tuvieron una menor densidad ósea en comparación con mujeres nulíparas;⁸⁶ estos hallazgos también han sido confirmados en grupos pequeños de mujeres por Hayslip y cols.⁸⁷ Por otro lado, otros dos estudios observaron que la lactancia puede incrementar la densidad ósea por lo menos en algunos sitios del organismo.^{88, 89} Cann y sus colegas observaron que la pérdida de mineral óseo que ocurre durante estados hipoprogénicos transitorios como la lactancia es un fenómeno temporal y reversible después de que el estado hipoprogénico es corregido.⁹⁰ Ya que el proceso de pérdida ósea podría resultar en fracturas, dos estudios examinaron el riesgo de fractura de cadera en relación a la lactancia. Uno de ellos demostró que la lactancia tiene un efecto protector⁹¹ (razón de momios=0.5), pero los investigadores del segundo estudio no encontraron ninguna asociación.⁹² Los patrones de prevalencia y duración del amamantamiento varían considerablemente entre los grupos de población y países; siendo la lactancia durante 12 meses o más la norma en la mayoría de los países en desarrollo. El efecto anticonceptivo del amamantamiento, más que cualquier otro método de regulación de la fertilidad, promueve un mayor espaciamiento entre los nacimientos. La asociación entre la lactancia y la supresión de la ovulación está bien establecida y provee una base para afirmar que la relación entre el amamantamiento y el metabolismo óseo existe. Las limitaciones/debilidades inherentes a los estudios, debidos a la naturaleza del diseño utilizado en la mayoría de las instancias, la falla en el control de patrones de lactancia (como duración, inicio e intensidad del amamantamiento), una muestra pequeña y las diferentes técnicas y sitios de la medición de la densidad ósea, son

factores que contribuyen a una falla en la detección de diferencias pequeñas o moderadas en la densidad ósea, lo cual lleva a la carencia de un consenso.⁹³

b) Menopausia. Existe evidencia consistente que apoya la relación causal entre la privación de estrógenos y la osteoporosis. La disminución en la función ovárica que comienza en el periodo de la menopausia se ha reportado como la principal causa de la pérdida rápida de hueso. El aumento en la tasa de pérdida de hueso después de una ooforectomía y otras condiciones hipoestrogénicas también ha sido observado.⁹⁴⁻⁹⁶ La evidencia más fuerte de una asociación causal viene de numerosos estudios que muestran la eficacia de la terapia de reemplazo de estrógenos en reducir la pérdida de hueso después del cese de la función ovárica por una ooforectomía, falla ovárica prematura y menopausia.⁹⁶⁻¹⁰⁸ Se ha reportado que tanto los estrógenos naturales y las progestinas C-21, como el acetato de medroxiprogesterona, administrados a mujeres posmenopáusicas han tenido efectos significativamente benéficos en la prevención de la pérdida de hueso.¹⁰⁴⁻¹⁰⁸ Existe evidencia reciente que indica la presencia de receptores de estrógenos y progesterona en el hueso, lo cual provee apoyo para una base biológica en esta relación.^{24-29, 109-110}

5) Efectos de los esteroides sexuales sintéticos

Dada la asociación causal entre la deficiencia de estrógenos y el grado de pérdida de hueso, una relación entre los anticonceptivos esteroides y la densidad ósea no se puede ignorar. Los datos disponibles del efecto de anticonceptivos hormonales (AH) se limitan a anticonceptivos orales combinados (AOC), a excepción de un estudio relacionado con el uso de acetato de medroxiprogesterona de depósito (DMPA),¹¹¹ y otro que compara el implante subdérmico de levonorgestrel (Norplant®) con DMPA.¹⁰⁸ Los datos hasta ahora publicados sobre el tema no son consistentes en confirmar el efecto de protección del uso de AOC en la densidad ósea y el metabolismo del hueso. Por lo tanto, los informes disponibles pueden ser agrupados como: (a) estudios que observan una asociación positiva y (b) estudios que no encuentran una asociación. Las tablas 2 y 3 resumen estos estudios. No hay ningún informe que muestre que el uso de AOC afecta de manera adversa la densidad ósea. Un estudio llevado a cabo hace dos décadas dió la primera indicación de que los AOC pueden aumentar la densidad mineral ósea del hueso en el radio distal.⁸⁶ Entre 1984 y 1991, seis estudios en usuarias de AOC encontraron una mayor densidad ósea medida, en sitios diferentes en el organismo, utilizando técnicas diferentes, mientras que en un número igual de estudios no se encontró ninguna asociación.⁹³

En un estudio para identificar las determinantes de la densidad ósea entre mujeres de 24-35 años, Kanders y cols. encontraron que las mujeres que han utilizado la píldora por más de 5 meses tuvieron una mayor densidad ósea en la columna lumbar, medida por absorciometría

Tabla 2

| | Grupo de Estudio | | Densidad Ósea | | |
|---------------------|------------------|-----------------------|---------------------|-------------|---|
| | n | Edad | Técnica Diagnóstica | Sitio | |
| Goldsmith (1975) | 2119 | 15 - 79 | SPA | RD | Altas dosis de AOC |
| Kanders (1984) | 60 | 24 - 35 | DPA | CL | Asociación con uso por más de 5 meses |
| Lindsay (1986) | 57 | 25 - 35 | DPA SPA | CL R1/2 | Asociación a CL |
| Stevenson (1989) | 284 | 21 - 68 | DPA | CL | Asociación a posmenopausia |
| Enzelsberger (1989) | 200 | perimeno- páusicas | SPA | RPD | Asociación con uso por más de 10 años |
| Kleerekoper (1991) | 2297 | 15 - 91 | DPA SPA | CL RD | Multicéntrico. asociación. con duración de uso de AOC |
| Recker (1992) | 156 | 20 - 29 | DPA SPA | CL RD | Incremento en todos los sitios de medición |
| Fortney (1994) | 352 | 40 - 54 | DPA SPA | CL R1/2D | Asociación con premenopausia |
| Gambacciani (1994) | 90 | 40 - 49 | DEXA | CL | Mujeres oligomenorréicas con AOC |

CL=columna lumbar RD=radio distal RPD=radio proximal, distal R1/2=parte media del radio
 SPA=absorciometría simple de fotones DPA=absorciometría doble DEXA=absorciometría doble de rayos-x
 AOC=anticonceptivos orales combinados
 Modificada de Mehta S, et al.²¹

Tabla 3

| | Grupo de Estudio | | Densidad Ósea | | |
|--------------------|------------------|-------------------|---------------------|--------------|--|
| | n | Edad | Técnica Diagnóstica | Sitio | |
| Lindsay (1986) | 38 | posmenopáusicas | DPA | CL | No asociación |
| Hreshchshyn (1988) | 588 | 24 - 79 | DPA | CL CF | No relación significativa |
| Stevenson (1989) | 284 | 21 - 68 | DPA | CL | No asociación entre mujeres jóvenes |
| Lloyd (1989) | 25 | edad reproductiva | TC | CL | Con uso mayor de cinco años |
| Rodin (1991) | 102 | edad reproductiva | DPA SPA | CF, CL RD | Parámetros bioquímicos |
| Mazess (1991) | 300 | 20 - 39 | DPA SPA | CL, CF RD | No relación con AOC ni ingesta de Calcio |
| Mais (1993) | 19 | 20 - 30 | DPA | RD | Incremento no significativo |

CL=columna lumbar CF=cuello femoral RD=radio distal
 SPA=absorciometría simple de fotones DPA=absorciometría doble TC=tomografía computada
 Modificada de Mehta S, et al.⁹³

doble de fotones que las no usuarias.⁷¹ Estos hallazgos fueron confirmados por Lindsay y sus colegas, quienes observaron una correlación lineal entre la duración del uso de AOC y el contenido mineral del hueso con un aumento de 0.011 g/cm² (1%) por cada año de uso del método. Sin embargo los autores no pudieron encontrar ninguna asociación entre el uso previo de AOC y el valor actual de la medición de la masa ósea (en el grupo de sujetos en la posmenopausia).⁷⁰ Esos resultados, confirmados pocos años después por otro grupo de investigadores,¹¹² fueron refutados por Hershelyshyn y cols. en un estudio realizado con una muestra de 588 mujeres en el rango de edad de 24-79 años; de acuerdo a estos investigadores, el uso previo de píldoras tiene un efecto positivo en la densidad ósea en las mujeres posmenopáusicas, pero no en las mujeres en la premenopausia.⁸⁵ La técnica y el sitio de medición de la densidad ósea fueron similares en estos estudios.

El análisis de la asociación entre el uso de AOC y la densidad ósea también ha sido dirigido con respecto al uso actual y el uso prolongado del método. Rodin y cols. no observaron diferencias en ninguno de los parámetros de metabolismo óseo ni en la densidad ósea medida en tres sitios del organismo, entre usuarias actuales, del pasado y que nunca usaron AOC.¹¹³ Mientras que algunos investigadores han propuesto que el uso prolongado de AOC confiere un efecto benéfico en la densidad ósea,^{114, 115} otros no pudieron establecer dicha asociación aún después de 10 años de ingerir preparaciones de AOC de altas dosis.^{4, 72, 73, 85} Mientras que tanto la actividad física y la ingestión dietaria de calcio aumentan la ganancia en la masa ósea, el uso de AOC ejerce un mayor efecto positivo independiente según estos autores.⁴ Otro estudio mucho más reciente evaluó prospectivamente por 24 meses la densidad ósea en mujeres perimenopáusicas eumenorreicas, oligomenorreicas y oligomenorreicas con AOC. Los resultados mostraron un incremento significativo en la densidad ósea en las mujeres que recibieron AOC en comparación con las mujeres oligomenorreicas no tratadas.¹¹⁶ La diferencia en los hallazgos se puede deber a varias razones; la mayoría de estos estudios basaron sus observaciones en un número pequeño de sujetos y varían ampliamente respecto al rango de edad de los sujetos de estudio y en la elección del grupo de comparación. Los estudios proveen poca o nula información acerca del tipo de pastillas anticonceptivas utilizadas y muchos estudios no controlaron adecuadamente la naturaleza multifactorial del proceso de la pérdida de hueso. Además, la medición de la densidad ósea en diferentes sitios, el uso de diferentes técnicas y la reducción en la dosis de esteroides en los anticonceptivos orales limita su interpretación y la generalización de los hallazgos. Por esto no es sorprendente que mientras algunos estudios encuentran una fuerte relación, otros no la detectan.⁹³ En el estudio que examinó la relación entre la densidad ósea y el uso de DMPA, se encontró una ligera reducción de aquella en la columna lumbar y el cuello femoral, en 30 usuarias por largo tiempo.¹¹¹ La falla en el control del tabaquismo, el uso pasado o presente de AOC entre los sujetos control y la metodología

transversal son algunas de las limitaciones de dicho estudio. En el estudio clínico prospectivo y aleatorizado que comparó los efectos sobre la densidad ósea medida en el antebrazo del Norplant® y los de DMPA se incluyeron 22 mujeres premenopáusicas con una edad promedio de 32,6 años (rango de 20-45). Ellas fueron asignadas al azar en uno de los dos grupos y se sometieron a 6 meses de tratamiento, al cabo de los cuales se encontró incremento significativo en la densidad ósea proximal de 2,94% (P=0,006) en las mujeres tratadas con levonorgestrel, en comparación con los valores estables en el grupo que recibió DMPA -0,41% (p=0,68). Los cambios en la densidad ósea fueron consistentes con los cambios en los marcadores bioquímicos de metabolismo óseo, es decir, en las mujeres usuarias de DMPA se observó un incremento de los marcadores de recambio óseo, mientras que en las usuarias de Norplant® se incrementó la formación ósea con elevación de las concentraciones séricas de fosfatasa alcalina (p=0,004) y de osteocalcina (p=0,007).¹⁰⁸

JUSTIFICACIÓN

Debido a la tendencia secular en el aumento de la esperanza de vida que conlleva a un incremento en el número de personas ancianas en la población mundial, es de esperarse que la prevalencia de osteoporosis y sus complicaciones aumente, tanto en países desarrollados como en los que se encuentran en vías de desarrollo.

La masa ósea en las personas de edad avanzada refleja la acumulación y mantenimiento de hueso durante el crecimiento y madurez y el grado y duración de la pérdida ósea subsecuente. Es decir la masa ósea máxima alcanzada y la velocidad de pérdida de hueso posterior son los principales factores que determinan la susceptibilidad de la mujer a la osteoporosis posmenopáusica.^{4, 117} El hueso trabecular, en comparación al hueso cortical, tiende a ser más sensible a las influencias metabólicas como los cambios en los niveles circulantes de estrógenos; así, las condiciones que producen una rápida pérdida de hueso tienden a ser más pronunciadas y afectan primero el hueso trabecular que el cortical.^{10, 118}

Los factores que influyen en la formación y resorción del hueso han sido mencionados ampliamente. Ya que el valor absoluto del pico de masa ósea afecta el riesgo a futuro de fracturas, es importante profundizar en el conocimiento de cada uno de ellos y esclarecer las controversias. Así podrán identificarse medidas preventivas de osteoporosis en la población mexicana. Debido a que la prevalencia de uso de los AH es considerable, está ampliamente justificado determinar en forma más definitiva cuál es su impacto en la constitución de la masa ósea máxima.

OBJETIVO

General. Conocer el efecto del uso prolongado de anticonceptivos hormonales (anticonceptivos orales combinados e implante subdérmico de levonorgestrel) sobre la masa ósea en mujeres premenopáusicas.

Específico. Comparar la densidad mineral ósea distal y ultradistal del antebrazo de mujeres con administración prolongada (mayor de 2 años) de la combinación estro/progestina por vía oral o el implante subdérmico de progestina, en mujeres de 30-34 años, con la de no usuarias de métodos hormonales. Correlacionar los hallazgos con factores que pudieran afectarlos.

HIPÓTESIS

Verdadera. El uso de anticonceptivos hormonales (anticonceptivos orales combinados o implante subdérmico de levonorgestrel) por más de dos años tiene un efecto benéfico sobre la masa ósea en mujeres de 30 a 34 años comparado con el uso de métodos no hormonales.

Nula. El efecto de los anticonceptivos hormonales (AOC y Norplant®) sobre la masa ósea es similar al de los anticonceptivos no hormonales.

DISEÑO

Se realizó un estudio prospectivo, transversal, comparativo y observacional en mujeres con edad comprendida entre 30 y 34 años. La selección del grupo de edad de 30-34 para el estudio, se basó en los conceptos ya revisados de que la masa ósea aumenta rápidamente durante la infancia y la adolescencia, alcanzando su pico en la cuarta década de la vida, para posteriormente disminuir. Por lo tanto, fué importante que el estudio se concentrara en el grupo de edad de 30-34, para asegurar que la consolidación de la masa ósea se hubiera completado, y la edad relacionada con la pérdida de hueso no hubiera empezado.

Idealmente las mujeres del grupo de comparación no deberían haber usado anticonceptivos hormonales, sin embargo, anticipando que dichas mujeres no serían fáciles de identificar en la clínica de planificación familiar, se aceptó incluir en el grupo control también a aquellas mujeres que hubieran utilizado AOC por periodos menores a 6 meses. Para poder ser elegibles para inclusión en los grupos de tratamiento, el uso del método anticonceptivo debería de haber teni-

do una duración mínima de 24 meses. Las mujeres que habían utilizado varios anticonceptivos hormonales entraron al estudio; la decisión de asignarlas a uno u otro grupo se basó en el tipo de anticonceptivo al cual hubieran estado expuestas más recientemente. Reconociendo estos problemas, la muestra requerida para cada uno de los dos componentes fué estimada determinando el número de mujeres necesarias en cada grupo (usuarias de AOC y Norplant[®] y no usuarias de anticonceptivos hormonales), si el estudio fuera una comparación simple de dos vías en cada grupo de anticonceptivos hormonales con el grupo no hormonal.

El estudio buscó detectar una diferencia de la mitad de la desviación estándar en la masa ósea entre usuarias y no usuarias de AH, lo cual es de significancia biológica, debido a que ésta podría tener impacto en el riesgo de fracturas en la edad avanzada. Para estimar el tamaño de muestra se utilizó la información del promedio y la desviación estándar de las mediciones transversales de la masa ósea, por absorciometría simple de fotones (SPA) en mujeres blancas europeas, premenopáusicas, que fueron reportadas por Nordin,¹¹⁹ ya que no hay datos de la masa ósea en mujeres de 30-34 años que residan en México o en países en desarrollo. La tabla muestra el número de mujeres necesarias en cada grupo para la comparación de dos vías:

| Valor estimado de la masa ósea (antebrazo) | Desviación estándar de la masa ósea | Diferencia detectada | N |
|--|-------------------------------------|----------------------|----|
| 469 mg/cm ² | 518 mg/cm ² | 1/2 DE | 63 |

Debido a que existen pocos datos sobre la asociación de la masa ósea con el uso de anticonceptivos hormonales y debido a que los datos que existen no son consistentes para mostrar una asociación en una dirección, los cálculos del tamaño de la muestra se realizaron asumiendo una prueba estadística de dos colas con un valor de probabilidad (alfa) de 0.05 y con una potencia (beta) de 0.80.

La medición del contenido y densidad óseas se efectuó en el antebrazo, ya que un buen número de estudios han demostrado que la medición de la masa ósea en esta región es un buen indicador de la situación de la masa ósea de otros sitios de la economía¹²⁰⁻¹²² y es un predictor tan bueno como la densidad vertebral para fracturas futuras de todos tipos.¹²³⁻¹²⁷ La densidad ósea en el antebrazo se midió por absorciometría simple de rayos X (SEXA), cuyo precursor es la absorciometría simple de fotones (SPA). Ambas técnicas se basan en el mismo principio, la única diferencia es que en lugar de una emisión del isótopo radioactivo (en SPA), en el SEXA una emisión delgada de rayos X atraviesa el hueso. La técnica involucra una exposición a rayos X mínima.

MATERIAL Y MÉTODOS

El protocolo fué aprobado por el Comité de Investigación Biomédica en Humanos del Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán (INNSZ), y por el Comité de Ética de la Organización Mundial de la Salud. Se incluyeron en el estudio mujeres usuarias de la Clínica de Salud Reproductiva del INNSZ, que acudieron a consulta durante el periodo comprendido entre los meses de noviembre de 1994 y diciembre de 1995, quienes estuvieron debidamente informadas acerca de los objetivos y procedimientos del estudio y reunieron los criterios de selección establecidos.

Criterios de selección

Se incluyeron en el estudio mujeres:

- Con edad comprendida entre los 30 y 34 años (cumplidos).
- Que no hubieran estado embarazadas en los 6 meses previos.
- Con uso actual o previo de anticonceptivos orales combinados o de implantes subdérmicos Norplant®, por un periodo de por lo menos 24 meses (continuos o acumulados en varios periodos); usuarias de métodos anticonceptivos hormonales por un periodo menor de 6 meses, o bien no usuarias actuales o pasadas de métodos hormonales para regular la fertilidad.
- No histerectomizadas u ooforectomizadas.
- Sin enfermedades crónicas o que afecten el metabolismo óseo, tales como: diabetes mellitus, hepatopatías, insuficiencia renal crónica, hiperparatiroidismo, hipoparatiroidismo, hipertiroidismo, hipotiroidismo, cáncer, raquitismo y enfermedades de la hipófisis.
- Sin antecedentes o indicación actual de tratamientos, por más de tres meses, que afecten el metabolismo del calcio, tales como: anticonvulsivantes, corticosteroides, hormonas tiroideas, fármacos anti-tiroideos, suplementos de calcio, vitamina D o diuréticos tiazídicos.

Procedimientos clínicos

Las mujeres elegibles y que aceptaron participar voluntariamente en el estudio, otorgando por escrito su consentimiento, fueron entrevistadas y sometidas a examen físico completo. En la entrevista se recopiló información detallada acerca de escolaridad, ocupación, estado marital, edad de la menarquia, regularidad de los ciclos menstruales, número de embarazos y periodos de lactancia, edad al primer embarazo, consumo de alcohol, tabaco y café. Se registró la fecha y duración de uso de los diferentes métodos anticonceptivos (incluyendo la identificación de la

marca de cada uno de ellos). El examen físico incluyó las siguientes medidas antropométricas: estatura, peso, perímetro del brazo dominante, circunferencia de la cintura y de la cadera.

De acuerdo con el tipo de anticonceptivo utilizado y el tiempo acumulado de uso de cada uno de ellos, se asignaron a los grupos de tratamiento. Las mujeres que no habían utilizado anticonceptivos hormonales, o los habían recibido por periodos menores a 6 meses constituyeron el grupo control.

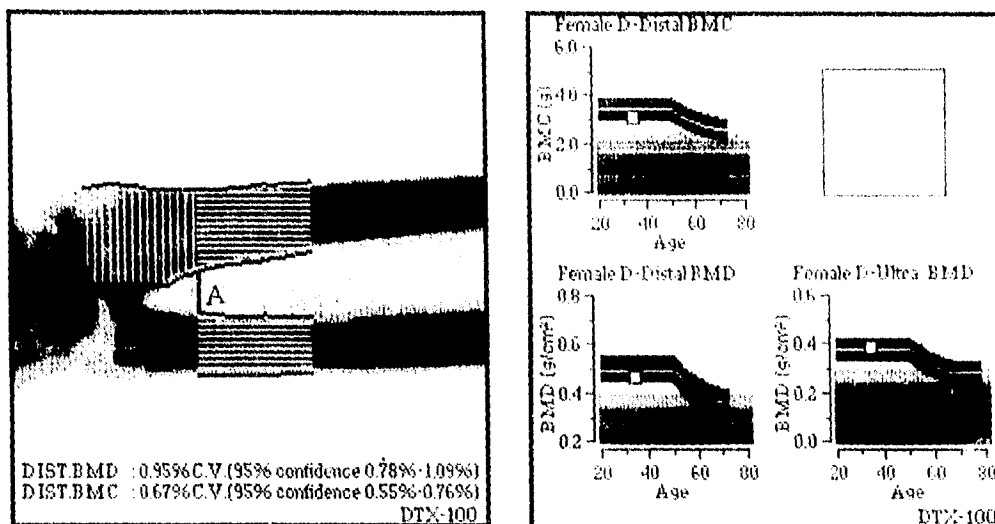
Densitometría

Para la medición del contenido y la densidad mineral óseas se utilizó la técnica de absorción simple de rayos X, mediante un equipo Osteometer DTX-100, fabricado por Osteometer A/S (Rodovre, Dinamarca) y operado con la versión 1.3 del programa desarrollado por el fabricante, según ha sido descrito por Kelly y colaboradores.¹²⁶ El DTX-100 es una versión modificada del Sistema Molsgaard/Nuclear Data/Osteometer SPA, ampliamente utilizado y evaluado por varios autores, el cual funciona de la siguiente manera:

La fuente de rayos X, localizada en un lado del antebrazo, opera a un potencial constante de 40 kV. El haz producido es filtrado con estaño (0.5mm), con objeto de eliminar fotones de baja (< 20 KeV) y de alta energía (> 29 KeV), dando por resultado una estrecha banda de onda de rayos X con un nivel efectivo de 27 KeV, que es ideal para separar hueso de tejido blando como músculo, grasa, etc. La señal de rayos X emitida es detectada en el lado opuesto del antebrazo por un cristal de sodio yodado, con una intensidad inversamente proporcional al contenido mineral del hueso, y procesada automáticamente, apareciendo los resultados en la pantalla de la microcomputadora adaptada al densitómetro. La fuente de fotones y el detector, ensamblados en un dispositivo mecánico, se mueven sincrónicamente en forma vertical para efectuar las cuantificaciones a lo largo de las regiones programadas. El densitómetro corrige automáticamente para las diferentes cantidades de grasa en el antebrazo.

Sus principales ventajas son:

- 1.-Estima de manera exacta y precisa el contenido mineral (CMO, g) y la densidad mineral óseas (DMO, g/cm²), en la porción distal y ultradistal del antebrazo.
- 2.-Las mediciones de la masa ósea son altamente reproducibles (coeficiente de variación in vitro de 0.53% para CMO; coeficiente de variación in vivo de 0.66% para CMO y 1.05% en DMO).
- 3.-Las mediciones se efectúan en corto tiempo (tiempo máximo de exposición a la radiación de 270 segundos), y son fáciles de realizar.
- 4.-Tiene una muy buena correlación con el aparato de absorción de rayos X de doble energía (DEXA), en la medición del contenido y la densidad ósea del antebrazo.¹²⁶



Resultado del Cálculo de Masa Ósea.

| | <u>Radio</u> | <u>Cúbito</u> | <u>Distal</u> | <u>Ultra</u> |
|-------|--------------|---------------|---------------|------------------------------|
| CMO: | 1.788 | 1.299 | 3.087 | 1.812g |
| DMO: | 0.480 | 0.450 | 0.467 | 0.388g/cm² |
| Area: | 3.72 | 2.88 | 6.61 | 4.67cm² |

| | | |
|---|--------------|-----------------------|
| CMO Distal porcentaje de similar edad : | 91 % | Z-score : -0.7 |
| DMO Distal porcentaje de similar edad : | 94 % | Z-score : -0.5 |
| DMO Ultra porcentaje de similar edad : | 103 % | Z-score : +0.2 |

| | | |
|--|--------------|-----------------------|
| CMO Distal porcentaje de edad de referencia: | 91 % | T-score : -0.7 |
| DMO Distal porcentaje de edad de referencia: | 94 % | T-score : -0.5 |
| DMO Ultra porcentaje de edad de referencia: | 103 % | T-score : +0.2 |

| | | |
|----------------------------------|-------------------|-----------|
| Número de paciente: x | Base de datos # | 1 |
| Registro: 279-H | Entrada # | 631 |
| Fecha de nacimiento: 12.Ene.1962 | Estudio # | 1 |
| Edad actual: 34 años | Fecha de estudio: | 16.Nov.95 |
| Estatura: 157.0 cm | Medición # | 1 |
| Peso: 60.0 kg | Sitio: | D-TOT |
| Sexo: Femenino | | |
| Grupo de referencia: Blanco | Unidad # | 1 |
| Años de menopausia: 0 años | S/N # | 236 |

Figura 2. Estudio de la masa ósea. En el recuadro superior izquierdo el área sombreada señala la porción del antebrazo (radio y cúbito) donde se efectuó la medición del contenido mineral (CMO) y la densidad ósea (DMO), tanto de hueso cortical (líneas horizontales) como de hueso trabecular (líneas verticales). A partir del punto (A), donde existen 8 mm de separación entre cúbito y radio se iniciaron las mediciones en forma proximal (cortical) y distal (trabecular). Las gráficas del recuadro superior derecho muestran los resultados de CMO (cortical) y DMO (cortical y trabecular) de la población de referencia (media ± DE). El □ representa el valor de la voluntaria estudiada. Los valores individuales de CMO, DMO y área, así como el t-score, z-score y datos de identificación se señalan en la parte media e inferior del informe.

Todos los estudios de masa ósea fueron efectuados por dos investigadores, previamente capacitados. Para ello se solicitó a la voluntaria sumergir el antebrazo dominante en el contenedor del equipo previamente llenado con agua a temperatura ambiente, y apoyarlo en el fondo, asiendo con la mano el cilindro de metal destinado para tal fin con objeto de asegurar una posición reproducible del brazo. El agua proporciona una capa homogénea de tejido blando alrededor del hueso y absorbe los rayos X en la misma forma que el tejido magro. De acuerdo con lo recomendado por el fabricante, el agua se cambió una vez al día y fue evacuada por la tarde.

Las mediciones de CMO y DMO se determinaron en dos sitios del antebrazo: distal y ultradistal, a partir de un punto de referencia ubicado en el sitio donde el cúbito y el radio están separados por una distancia de 8 mm, según se muestra en la figura 2. La medición del área distal se efectuó en sentido proximal abarcando una región de 2.4 cm de ancho, a través de ambos huesos del antebrazo, en la cual se estima un contenido de aproximadamente 85% de hueso cortical y 15% de hueso trabecular. La medición ultradistal que comprendió hasta la porción más distal del radio está constituida principalmente por hueso trabecular: 65%.

Los valores obtenidos de CMO y DMO en cada paciente se compararon con los de una población de referencia, calculándose el porcentaje que representan con respecto a ésta. Asimismo, se calculó el t-score que ubica el valor de la paciente en la desviación estándar correspondiente en relación con el promedio de la población de referencia (Figura 2).

Control de calidad de las mediciones

Para valorar la correcta operación del densitómetro y la estabilidad del sistema se establecieron procedimientos de control de calidad a lo largo del estudio. La precisión in vitro se estimó utilizando como referencia un *fantasma* de aluminio con grosor de 2.5mm, que tiene dos «huesos» cilíndricos con cantidades conocidas de fosfato de calcio tribásico, mezclado con resina epóxica, equivalente a una DMO de: 0.392 g/cm². La medición del CMO y DMO del «fantasma» se efectuó diariamente durante 386 días (493 mediciones), almacenándose automáticamente los resultados en una base de datos incluida en el programa. A partir de ésta se obtuvieron los coeficientes de variación de: Área: 0.16%; CMO: 1.37% y DMO:1.38% (figura 3). Las mediciones del estudio se efectuaron una vez que se obtuvo la calibración del equipo, de tal forma que la medición del CMO del *fantasma* se ubicara dentro del valor de referencia, 3.518 ±1.5%, según se muestra en la figura 4.

Para valorar la precisión in vivo las mediciones óseas se repitieron con intervalo de una semana en el 10% de las voluntarias, seleccionadas sistemáticamente (n= 26). Se calcularon los coeficientes de variación para DMO distal y ultradistal, que resultaron de 0.8% y de 2.0%, respectivamente. Ambas mediciones tuvieron una muy buena correlación (r=0.964 y r=0.890).

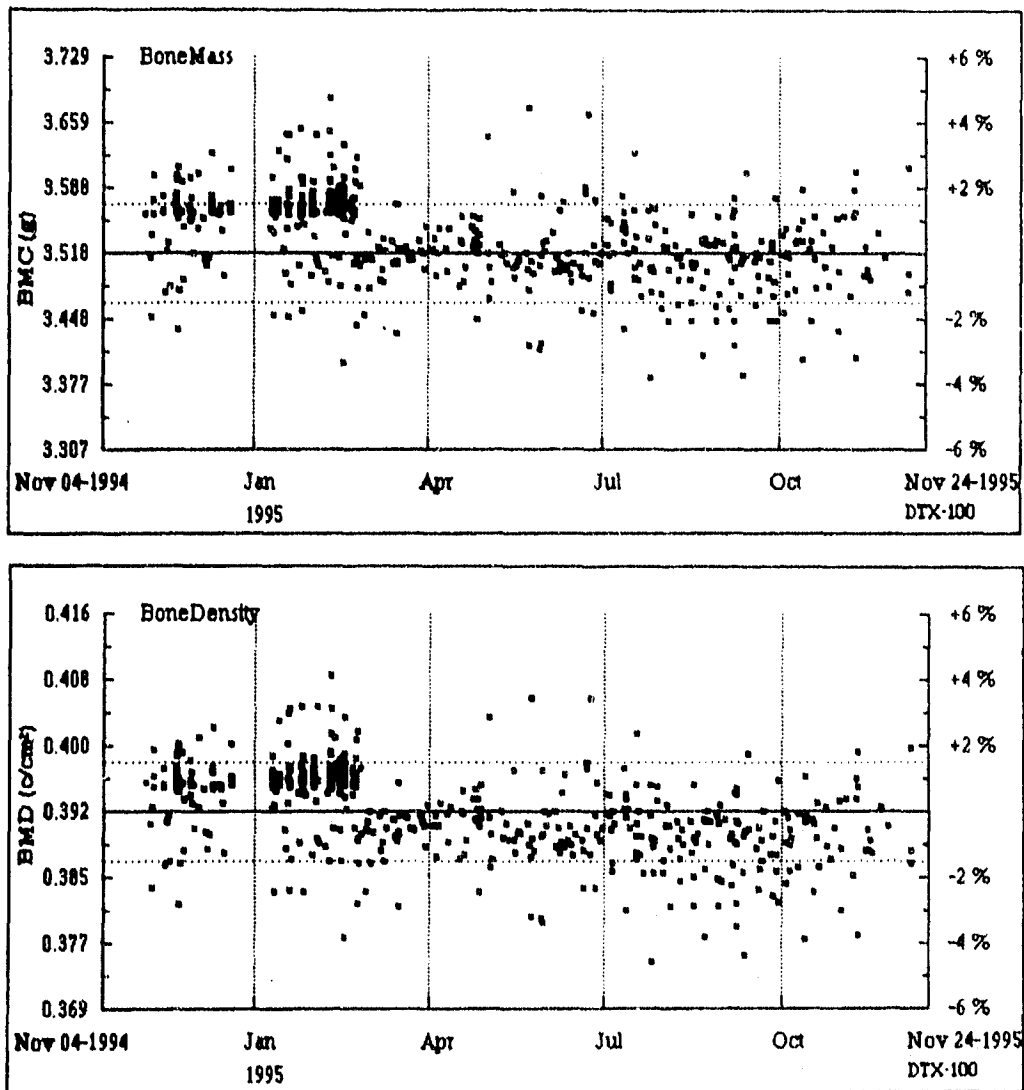


Figura 3. Precisión *in vitro*. El recuadro superior muestra las lecturas de 493 mediciones de CMO, realizadas durante el estudio (386 días), en relación con el valor de referencia del fantasma: 3.518 gr. Las líneas punteadas corresponden a $\pm 1.5\%$ del promedio y el coeficiente de variación (CV) obtenido fué de 1.37%. El recuadro inferior muestra los valores correspondientes a la DMO, cuyo CV fué de 1.38%.

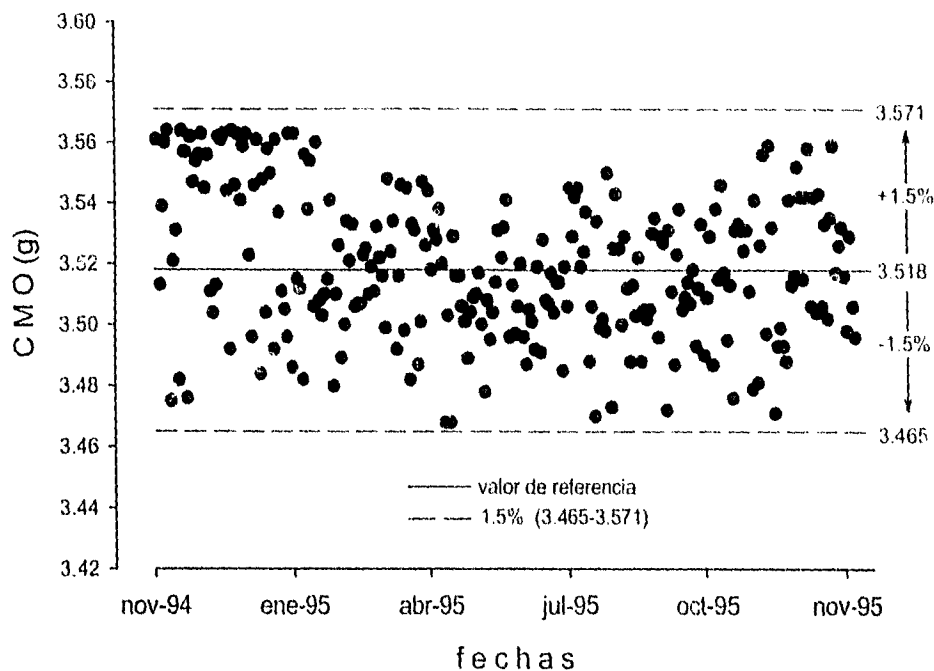


Figura 4. Calibración diaria para realización de los estudios de masa ósea. Se demuestra que la medición de CMO del fantasma correspondió al valor de referencia $\pm 1.5\%$.

La figura 5 muestra la gráfica de regresión correspondiente. Los resultados se enviaron mensualmente a Osteometer A/S (Dinamarca), sede del programa de control de calidad externa.

Análisis estadístico

Se calculó promedio y desviación estándar de las variables clínicas y de la densidad mineral ósea distal y ultradistal en cada uno de los grupos. Los resultados de los grupos I y II (orales e implantes) se compararon con los del grupo control, utilizando análisis de varianza (ANOVA) para determinar la significancia estadística de las diferencias observadas.

Para valorar las diferencias entre los grupos de estudio en la frecuencia de las variables como regularidad de los ciclos menstruales, antecedente de embarazo, número de embarazos, lactancia, número de hijos que lactaron, alcoholismo, tabaquismo, consumo de café, se usaron métodos de estadística no paramétrica (chi-cuadrada).

Se efectuó análisis de correlación y regresión lineal, en cada grupo siendo la DMO la variable dependiente y el peso, índice de masa corporal (IMC: peso/talla²) y la relación cintura/cadera, las variables independientes.

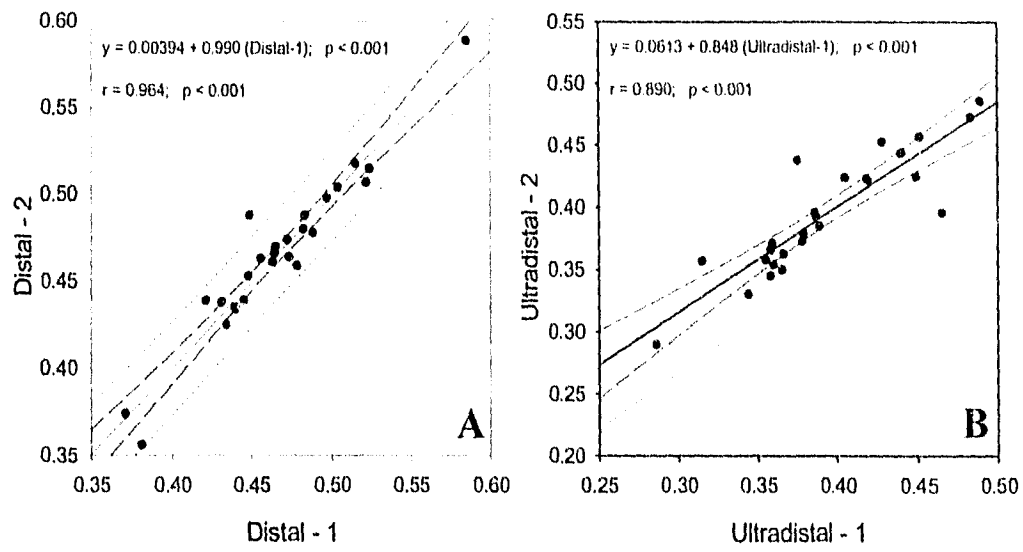


Figura 5. Precisión *in vivo*. Resultados de dos determinaciones de la DMO distal efectuadas en 26 mujeres, con una semana de intervalo. (A = DMO distal, B = DMO ultradistal).

RESULTADOS

El grupo total de sujetos incluyó 276 mujeres cuya edad promedio \pm DE fué de 31.9 ± 1.5 años (30-34), las cuales fueron asignadas a los tres grupos de estudio de acuerdo al uso de anticonceptivos hormonales:

Grupo I: 68 mujeres usuarias de AOC

Grupo II: 76 mujeres usuarias de Norplant® y

Grupo III: 132 mujeres no usuarias de anticonceptivos hormonales (control)

En el grupo I (AOC), 1 (1.5%) de las 68 mujeres incluidas había utilizado Norplant® además del hormonal oral, mientras que 36 mujeres habían utilizado DIU (52.9%). En el grupo II (Norplant®) 31 mujeres habían usado AOC (40.8%) y 39 DIU (51.3%) antes del implante. En el grupo III, antes del implante, 72 mujeres usaban o habían usado DIU (54.54%), 27 mujeres habían usado AOC (20.49%) y 1 (0.7%) Norplant® por menos de seis meses.

Tabla 4

| Variables | Grupo I (n = 68) | Grupo II (n = 76) | Grupo III (n = 132) | p |
|--------------------------|---------------------|----------------------|------------------------|---------|
| Edad (años) | 32.32 | 31.36 | 31.88 | < 0.006 |
| Edad menarca (años) | 12.4 | 12.7 | 12.5 | NS |
| Ciclo menstrual (días)* | 28.9 | 29.2 | 28.6 | NS |
| Edad 1er embarazo (años) | 21.3 | 21.2 | 22.2 | NS |
| Talla (cm) | 154.3 | 154.9 | 153.7 | NS |
| Peso (Kg) | 61.9 | 61.2 | 60.7 | NS |
| IMC (Kg/m ²) | 26.1 | 25.5 | 25.7 | NS |
| Cintura (cm) | 76.3 | 75.0 | 75.7 | NS |
| Cadera (cm) | 95.4 | 94.1 | 95.1 | NS |
| Cintura/cadera | 0.799 | 0.796 | 0.794 | NS |
| TA sistólica. (mm Hg) | 112.2 | 110.3 | 111.4 | NS |
| TA diastólica. (mm Hg) | 72.6 | 70.7 | 71.6 | NS |

todas ANOVA de una vía

*incluye mujeres con ciclos regulares

IMC=índice de masa corporal (peso/talla²)

Los resultados por grupo de las características clínicas analizadas se detallan en la tabla 4. En ella se muestra que no hubo diferencias significativas en la mayoría de las variables que influyen en forma más importante, en la constitución de la masa ósea máxima. En efecto, al compa-

Tabla 5

| Variables | Grupo I | Grupo II | Grupo III | p |
|--------------------------|-----------|-----------|------------|---------|
| | (n = 68) | (n = 76) | (n = 132) | |
| Menstruación regular | 62 (91.2) | 53 (69.7) | 121 (91.7) | < 0.002 |
| Antecedente de embarazo | 58 (85.3) | 75 (98.7) | 97 (73.5) | < 0.001 |
| Antecedente de lactancia | 44 (75.9) | 64 (85.3) | 74 (74.7) | NS |
| Tabaquismo | 24 (35.3) | 27 (35.5) | 34 (25.8) | NS |
| Consumo de café | 54 (79.4) | 59 (77.6) | 102 (77.3) | NS |
| Consumo de alcohol | 6 (8.8) | 4 (5.3) | 1 (0.8) | < 0.01 |

todas Chi-cuadrada

rar los dos grupos tratados y el grupo control, sólo se encontró diferencia estadísticamente significativa en la edad ($p < 0.05$), sin relevancia clínica. El IMC, similar en los tres grupos, fue superior a 25 kg/m^2 , evidenciando la presencia de sobrepeso en la población estudiada. La relación cintura/cadera y la tensión arterial se encontraron dentro de límites normales de referencia.

En la tabla 5 se muestra la frecuencia de tabaquismo, consumo de café y alcohol, así como de regularidad de los ciclos menstruales, antecedente positivo para embarazo y lactancia. Se encontró diferencia significativa en la ingesta de alcohol ($p < 0.01$), regularidad de los ciclos menstruales ($p < 0.002$) y antecedente de embarazo ($p < 0.01$), según resultados del análisis de las diferencias con chi cuadrada. No se encontraron diferencias significativas en las otras variables mencionadas. En el análisis actual no se consideró el tiempo de exposición, la cantidad ni la actualidad de los factores mencionados, porque la muestra es insuficiente para dicho propósito.

Tabla 6

| | DMO Distal | | DMO Ultradistal | |
|-----------|----------------------|--------|----------------------|--------|
| | (g/cm ²) | | (g/cm ²) | |
| | media | DE | media | DE |
| Grupo I | 0.4762 | 0.0421 | 0.3981 | 0.0507 |
| Grupo II | 0.4807 | 0.0400 | 0.4050 | 0.0445 |
| Grupo III | 0.4836 | 0.0422 | 0.4090 | 0.0482 |

ANOVA $p > 0.05$

La tabla 6 contiene los resultados promedio \pm DE de la DMO distal y ultradistal del antebrazo. El promedio de DMO distal y ultradistal ($0.4836 \pm 0.0422 \text{ g/cm}^2$ y $0.4090 \pm 0.0482 \text{ g/cm}^2$ respectivamente), del grupo control se encontró dentro de valores de referencia internacionales y no difirió significativamente del de los grupos I y II, expuestos a los anticonceptivos hormonales. En la figura 6 se señala el t-score distal y ultradistal de la DMO de cada sujeto. En ella puede observarse que la DMO distal de la mayoría de las mujeres mexicanas estudiadas se encontró por debajo del promedio, aunque sólo 2 quedaron por debajo de la segunda desviación

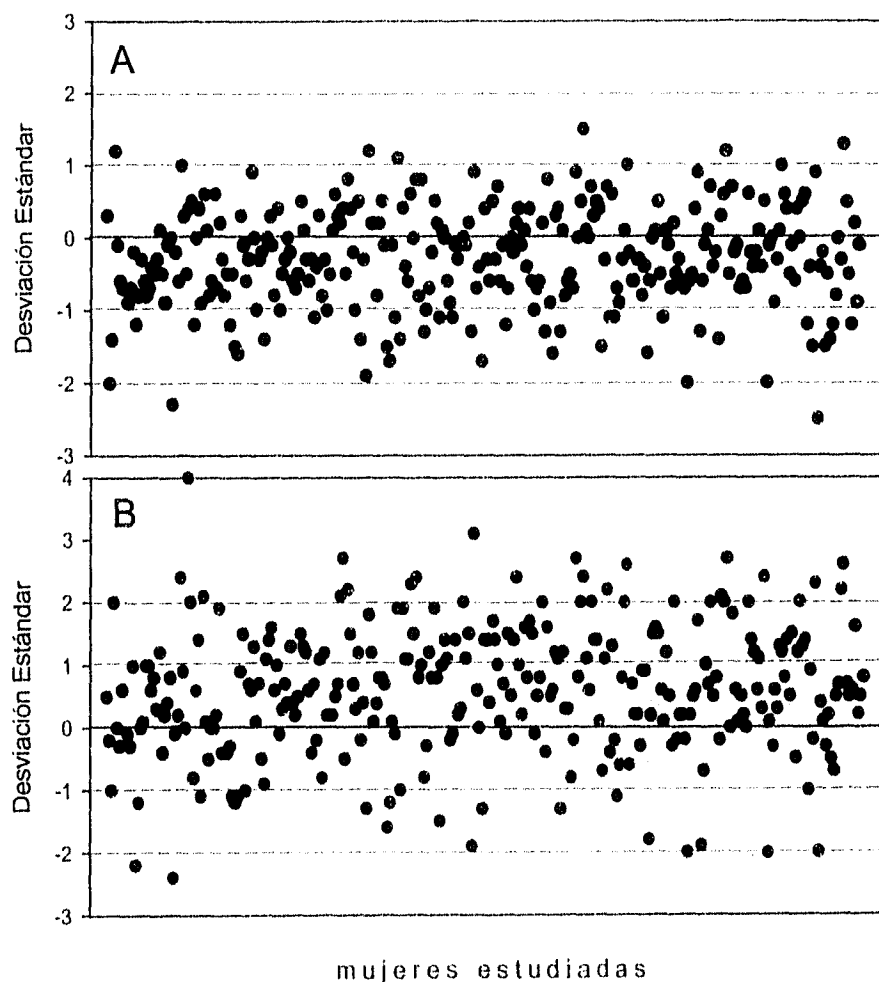


Figura 6. T-score de la densidad mineral ósea distal (A) y ultradistal (B) de las mujeres estudiadas. Cada punto corresponde a una mujer y la línea continua es el promedio de la población de referencia.

estándar. En cuanto a la DMO ultradistal se refiere la mayoría de los sujetos se encontraron por arriba del promedio de referencia e incluso dos sujetos se ubicaron por arriba de la tercera desviación estándar, sólo dos mujeres se encontraron por debajo de 2 DE. La tabla 7 muestra algunos resultados de la matriz de correlación (Pearson), especialmente aquellos de la DMO distal y ultradistal contra algunas de las variables somatométricas.

Tabla 7

| Variables/Grupos | DMO distal | p | DMO ultradistal | p |
|---------------------------------|-------------------|----------|------------------------|----------|
| Peso | | | | |
| AOC (I) | 0.506 | < 0.01 | -0.298 | < 0.01 |
| Norplant® (II) | 0.590 | < 0.01 | 0.777 | < 0.01 |
| Control (III) | 0.539 | < 0.01 | -0.508 | < 0.01 |
| IMC | | | | |
| AOC (I) | -0.711 | < 0.01 | -0.242 | < 0.01 |
| Norplant® (II) | 0.111 | < 0.01 | 0.011 | < 0.01 |
| Control (III) | -0.358 | < 0.01 | -0.132 | < 0.01 |
| Cintura/Cadera | | | | |
| AOC (I) | 0.610 | < 0.01 | -0.261 | < 0.01 |
| Norplant® (II) | 0.570 | < 0.01 | 0.758 | < 0.01 |
| Control (III) | 0.526 | < 0.01 | -0.494 | < 0.01 |
| Circunferencia del Brazo | | | | |
| AOC (I) | -0.615 | < 0.01 | 0.168 | < 0.01 |
| Norplant® (II) | -0.538 | < 0.01 | -0.766 | < 0.01 |
| Control (III) | -0.529 | < 0.01 | 0.498 | < 0.01 |

Correlación de Pearson

DISCUSIÓN

La osteoporosis posmenopáusicas constituye un problema de salud pública de grandes proporciones y es la causa subyacente de la mayor parte de las fracturas en la mujer en etapas avanzadas de la vida. La Organización Mundial de la Salud ha estimado que hasta un 30% de las mujeres en etapa posmenopáusicas desarrollarán en algún momento osteoporosis significativa, aunque no descartan diferencias en las regiones del mundo. El pico de masa ósea alcanzado y la pérdida de hueso subsecuente son los factores principales que determinan la susceptibilidad de la mujer a la osteoporosis posmenopáusicas.^{4,117}

Existe gran variación en la masa ósea máxima que puede adquirir la mujer debido a factores genéticos y culturales; valores disminuidos de masa ósea máxima colocan a la mujer en un riesgo incrementado de fractura y con poca o nula reserva contra la pérdida ósea inevitable con el envejecimiento y la menopausia. Por lo tanto, un mecanismo de prevención primaria contra la osteoporosis lo constituye el obtener la mayor masa ósea posible, dentro de las características y limitaciones constitucionales y genéticas.

La acumulación de tejido óseo de calidad adecuada durante el crecimiento depende principalmente de una ingesta de calcio adecuada, producción normal de estrógenos y mantenimiento adecuado del peso corporal, además de la realización de actividad física en forma rutinaria y moderada. Otros factores como la utilización de AH sobre el pico de masa ósea no han sido estudiados en forma definitiva.

Este estudio tuvo como objetivo determinar si el uso prolongado de anticonceptivos hormonales (AOC y Norplant®), está asociado a un aumento, disminución o ninguna modificación de la masa ósea en mujeres de 30-34 años en comparación con usuarias de métodos anticonceptivos no hormonales de la misma edad. En nuestro estudio el número de los sujetos estudiados fue bastante similar, principalmente los grupos de AH (AOC=68 y Norplant®=76) y fueron mayores al mínimo del tamaño de muestra calculado que fue de 63 por grupo. Además el estudio se realizó con un buen control de calidad tanto *in vitro*, con un coeficiente de variación para DMO de 1.38%, como *in vivo* con un coeficiente de variación para DMO distal y ultradistal de de 0.8% y 2.0% respectivamente, valores similares a los de referencia internacional, para esta técnica de medición de la masa ósea. Los grupos de estudio fueron muy homogéneos y comparables en todas las variables generales, estudiadas mediante el análisis de varianzas. La edad fue la única excepción, ya que en ella, el ANOVA resultó significativo. Como se mencionó antes, esa significancia matemática, tal vez no tenga significado biológico, ya que el rango de edad, así como, las medias y DE de los tres grupos fueron similares. Todas las pacientes estuvieron entre 30-34 años de edad y en este periodo, la masa ósea se encuentra estable por

que ya se alcanzó su máxima consolidación, y aún no se ha iniciado el proceso de pérdida mineral del hueso.

En los resultados que se obtuvieron hasta el momento no encontramos diferencias significativas en la densidad ósea tanto distal como ultradistal al comparar cada grupo de usuarias de AH con el grupo control. Esto es consistente con estudios previos (tabla 3) donde no encuentran diferencias significativas entre el uso de AOC y la densidad ósea^{1, 70-73, 85} en mujeres premenopáusicas. Así Mazzes, en un estudio longitudinal evaluó a 2 años a 300 mujeres sanas entre 20 a 39 años y no encuentra efecto de los AOC sobre la DMO en radio y columna lumbar (SPA y DPA). Hreshchysyn de la misma forma no encuentra relación significativa entre el uso de AOC y la DMO medidos por DPA en cuello femoral y columna lumbar en 588 mujeres entre 21 a 95 años, en este último estudio el rango de edad fue muy amplio y diferente del nuestro. Lindsay en dos estudios realizados simultáneamente informa que en el primero de ellos en 57 mujeres sanas entre 25 a 35 años que utilizaron AOC hay incremento significativo en la DMO de radio y columna lumbar medidos con SPA y DPA, en el segundo trabajo en 37 mujeres premenopáusicas (media=42.1) y 38 posmenopáusicas (media=51.4 años) no encuentra incrementos significativos en la DMO en los mismos sitios y con la misma técnica de medición. El estudio de Recker, prospectivo y longitudinal a 5 años en 156 mujeres entre 19.5 a 29.1 años de edad, informó un efecto positivo independiente del uso de los AOC, que fue significativo, sólo en el hueso mineral total pero no lo fue en el CMO ni la DMO, las mediciones se realizaron utilizando SPA Y DPA (antebrazo y columna lumbar respectivamente) y se controlaron las variables de estilo de vida como ingesta de calcio y actividad física. Conviene recalcar que casi la totalidad de las mediciones realizadas en estos estudios se practicaron con absorciometría simple de fotones, que es una técnica predecesora de la absorciometría simple con rayos X, la cual utilizamos para nuestro estudio. Otra probable explicación para no encontrar diferencias significativas entre los AH y la masa ósea máxima es que nuestro estudio fue de corte transversal en el cual no es posible hacer un muy buen control de todas las variables que intervienen en la consolidación de la masa ósea y muchas veces se recurre al método del recordatorio para obtener los datos. Un estudio longitudinal en el cual se pudiera realizar un mejor control de las variables que influyen en la obtención de la masa ósea pico, sería el diseño ideal para afirmar que los AH son benéficos o no para el logro de una mayor masa ósea.

Con respecto al uso de Norplant®, no hay datos que comparen la DMO entre el implante y un grupo control, sólo encontramos un estudio prospectivo y aleatorizado donde comparan el efecto de este implante contra la DMPA en 22 mujeres premenopáusicas (20-45 años).¹⁰⁸ En él se encuentra incremento significativo en la DMO del antebrazo tanto distal como ultradistal en el grupo de usuarias del Norplant® en contraste con el de usuarias de DMPA en el cual la DMO permanece estable. En relación a esto se sabe que las mujeres usuarias del implante presentan

ovulación en el transcurso de su uso excepto los primeros 6 meses del mismo, cuando las concentraciones en sangre de levonorgestrel se encuentran alrededor de 400 pg/ml, pero posteriormente éstas bajan y se estabilizan aproximadamente en unos 300 pg/ml recobrando las usuarias sus ciclos ovulatorios, en contraste con las usuarias de DMPA, que permanecen anovulatorias. Nuestros resultados no evidencian un mayor efecto positivo del NorplantR en la masa ósea con respecto al grupo control. Una explicación podría ser el hecho de que las concentraciones de levonorgestrel en suero son bajas (< 300 pg/ml) después del sexto mes de tratamiento y por ende, no ejerzan un efecto en hueso como a mayor acción androgénica. En las mujeres que presentan sobrepeso como es el caso de nuestra población de estudio estas concentraciones de levonorgestrel podrían ser menores dada la distribución de esta hormona por la mayor masa corporal que presentan estas mujeres. El sobrepeso además puede minimizar el efecto adicional de los esteroides exógenos sobre la masa ósea puesto que estas mujeres tienen mayor capacidad de aromatización de andrógenos a estrógenos (principalmente a estrona) y por ende mayores concentraciones circulantes de estrógenos endógenos en comparación con mujeres con peso ideal.¹⁹ Esto último sustentado por la correlación positiva ($r=0.5$, $p < 0.01$) que encontramos entre el peso y la DMO distal del grupo total. La correlación entre la DMO ultradistal y el peso en el grupo de Norplant® ($r=0.7$, $p < 0.01$) refleja el mismo fenómeno en hueso trabecular, que es más sensible a efectos hormonales. En el grupo de usuarias de Norplant® cabe señalar que el uso previo de AOC ($n=31$) puede ser un factor confusor, ya que este grupo obtuvo una mayor DMO y podría traducir un efecto aditivo tanto de la progestina como de los AOC. Similar efecto aunque de menor magnitud podría ocurrir en el grupo control puesto que 27 mujeres de este grupo fueron usuarias de AOC por un periodo menor a 6 meses.

Por último la falta de un análisis multivariado en esta etapa del estudio podría ser la razón de no encontrarse por el momento diferencias pequeñas entre los grupos de estudio, que posteriormente se podrá corroborar o refutar una vez concluido el estudio y haber realizado la estratificación y el análisis de todas las variables consideradas.

En lo que respecta a las variables de orden reproductivo también en la literatura hay reportes contradictorios en relación al efecto del embarazo y/o la lactancia sobre la masa ósea, parece que esto está supeditado al aporte dietario de calcio durante estos periodos. En nuestro estudio no encontramos diferencias significativas en lo que respecta a estas variables comparando los grupos de AH y el control, sin embargo como ya mencionamos anteriormente será necesario estratificar por subgrupos para precisar si la lactancia fue exclusiva o no y el tiempo de duración de la misma. La ingesta de calcio en la población mexicana tradicionalmente se pensaba que era alta en contenido de calcio esto principalmente por el consumo de la tortilla, sin embargo hoy en día se sabe que ésta contiene fundamentalmente hidróxido de calcio que no es bien absorbido por el intestino delgado y que se necesita la ingesta de alrededor de un Kg de

tortillas para absorberse unos 100 mg de calcio elemental, no obstante se tienen otros alimentos que contienen mucho calcio como son la leche, yogourt, quesos, cremas, vegetales verdes, etcétera. En nuestro estudio no se consideró explorar este aspecto.

Finalmente, en las variables como ingesta de café y tabaco no existieron diferencias significativas; en el consumo de café llamó la atención el inicio de su ingesta a muy temprana edad, sin embargo, habrá que aclarar de que no se trató de café negro, sino más bien diluido. En esta situación hubiera sido de utilidad precisar los mg de cafeína ingeridos que es la que produce el efecto hipercalcémico y por ende adverso para la masa ósea. En cuanto al tabaquismo será necesario estratificar por subgrupos precisando el número de cigarrillos consumidos y los años de consumo, pues se conoce que el tabaco aumenta el metabolismo hepático de estrógenos tanto endógenos como exógenos.^{76, 129} En cuanto al antecedente de consumo de alcohol si se encontró diferencia significativa ($p < 0.01$) en los 3 grupos de estudio, no obstante la frecuencia de antecedente positivo fue bajo en general. Al respecto se conoce que el abuso crónico de alcohol se asocia con reducción de la masa ósea y fracturas. El consumo moderado (una o dos copas por día), no parece ser deletéreo.¹³⁰

Aunque no contamos con los valores de DMO del grupo de referencia de mujeres nórdicas (danesas) con los cuales se comparó los resultados obtenidos, podemos señalar en forma global que estos fueron similares, sugiriendo que el factor genético y cultural no tiene efecto importante por lo menos en mujeres premenopáusicas. Sin embargo vale la pena señalar que la DMO distal de la mayoría de los sujetos se encontró ligeramente por debajo del promedio de los valores del grupo de referencia (1 DE), en cambio en la DMO ultradistal se observó que los valores de las mujeres mexicanas se encontraron en promedio por arriba de los de las mujeres danesas, estos datos podrían traducir que las mujeres nórdicas tienen una mejor DMO cortical que está influida principalmente por el aporte dietario de calcio y por el ejercicio respecto a las mujeres mexicanas en las cuales se encontró una mejor DMO trabecular que es metabólicamente más activo y que pudiera traducir el sobrepeso encontrado en nuestra población, además de que en sujetos de países desarrollados como es el caso de la población de referencia el consumo de tabaco es más importante. Estos dos aspectos podrán analizarse con mayor detalle una vez que se cuente con los valores de referencia requeridos.

En lo que respecta a las otras características antropométricas, en nuestro estudio se encontró un IMC promedio de 26 en los 3 grupos, el cual al igual que la relación cintura/cadera (media=0.8) no mostró correlación significativa con la DMO tanto distal como ultradistal. Este fenómeno también se ha reportado en la literatura internacional, donde se ha encontrado mejor correlación entre la DMO y el peso y no así con el IMC. La relación cintura/cadera (media=0.8), correlacionó positivamente con la DMO distal y fue significativamente diferente ($p < 0.01$) en el grupo total, siendo la correlación con el grupo de implante de 0.7 ($p < 0.01$). Finalmente, la

correlación entre la circunferencia del brazo y la DMO distal fue de -0.5 ($p < 0.01$) para el grupo total; este hecho es coherente, puesto que a menor perímetro del brazo hay menor acumulación de masa grasa y un mayor desarrollo muscular (masa magra), lo que condiciona una mayor fuerza de tracción en las palancas musculoesqueléticas, lo que resulta en un mejor logro de DMO distal, que está principalmente relacionada con el ejercicio y la ingesta de calcio.

Los resultados de la densidad ósea a la vez guardan relación con los valores obtenidos de las variables que afectan el logro de la masa ósea máxima, lo que implica que éstas tampoco fueron estadísticamente diferentes en cada uno de los grupos, de manera que pudieran influir en la obtención de una mayor o menor densidad ósea. Únicamente, se encontró diferencia estadísticamente significativa en la edad ($p < 0.05$), aunque biológicamente ésta no revista importancia. Indudablemente que estos hallazgos deben ser evaluados con mesura ya que se requiere de una casuística mayor para el análisis estratificando de cada una de estas variables (embarazo, paridad, lactancia, uso de AI, etcétera), principalmente en lo que se refiere a los AOC; el tiempo de uso y las dosis de cada uno de los componentes del esteroide. Esto debido principalmente a que las diferencias que se piensan encontrar son pequeñas y por tanto es necesario concluir el estudio completando la muestra requerida para poder realizar un análisis multifactorial y poder detectar de esta manera diferencias más finas que podrían tener relevancia biológica.

CONCLUSION

Las mujeres mexicanas de 30-34 años de edad, usuarias de métodos anticonceptivos orales o de implantes subdérmicos (Norplant® por periodos mayores de dos años, presentaron una densidad mineral ósea cortical y trabecular, similares a las de mujeres de la misma edad, no usuarias de métodos hormonales.

REFERENCIAS

1. Garn SM, Rohmann CG, Bloomenthal P. Ossification sequence polymorphism and sexual dimorphism in skeletal development. *Am J Phys Anthropol* 1966;24:101-115.
2. Riggs BL, Wahner HW, Dunn WL, Mazess RB, Offord KP, Melton III LJ. Differential changes in bone mineral density of the appendicular skeleton with aging: relationship to spinal osteoporosis. *J Clin Invest* 1981;67:328-335.
3. Bonjour JP, Theintz G, Buchs B, Slosman D, Rizzoli R. Critical years and states of puberty for spinal and femoral bone mass accumulation during adolescence. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;73:555-563.
4. Recker RR, Davies KM, Hinders SM, Heaney RP, Stegman MR, Kimmel DB. Bone gain in young adult women. *JAMA* 1992;268:2403-2408.
5. Ratzman DK, Bachrach LK, Carter DR, Marcus R. Clinical and anthropometric correlates of bone mineral acquisition in healthy adolescent girls. *J Clin Endocrinol Metab* 1991;73:1332-1339.
6. Riggs BL, Melton LJ. Involutional osteoporosis. *N Engl J Med* 1986; 314:1676-1686.
7. Gilsanz V, Gibbens DT, Roe TF, Carlson M, Sanec MO, Bocchot MI, Huang HK, Schulz EE, Libeneti CR, Conn CC. Vertebral bone density in children: effect of puberty. *Radiology* 1988; 166:847-850.
8. Glastre C, Braillon P, David L, Cochat P, Meunier PJ, Delmas PD. Measurement of bone mineral content of the lumbar spine by dual energy x-ray absorciometry in normal children: correlations with growth parameters. *J Clin Endocrinol Metab* 1990; 70:1330-1333.
9. Theintz G. Longitudinal monitoring of bone mass accumulation in healthy adolescents; evidence for a marked reduction after 16 years of age at the levels of lumbar spine and femoral neck in female subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75:1060-1065.
10. Mazess RB. On aging bone loss. *Clin Orthop* 1982;165:239-252.
11. Cummings SR, Kelsey JL, Nevitt MC, O'Dowd KJ. Epidemiology of osteoporosis and osteoporotic fractures. *Epidemiol Reviews* 1985;7:178-208.
12. Smith DM, Nance WE, Kang KW, Christian JC, Johnston CC Jr. Genetic factors in determining bone mass. *J Clin Invest* 1973;52:2800-2808.
13. Pocock NA, Eisman JA, Hopper JL, Yeates MG, Sambrook PN, Elberl S. Genetic determinants of bone mass in adults: a twin study. *J Clin Invest* 1987;80:706-710.
14. Morrison NA, Qi JC, Tokita A, Kelly PJ, Crofts L, Nguyen TV, Sambrook PN, Eisman JA. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature* 1994;367:284-287.

15. Christian JC, Yu PL, Slemenda CW, Johnson CC Jr. Heritability of bone mass: a longitudinal study in aging male twins. *Am J Hum Genet* 1989;44:429/433.
16. Yamagata Z, Miyamura T, Iijima S, Sasaki M, Kato J, Koizumi K. Vitamin D receptor gene polymorphism and bone mineral density in healthy Japanese women. *Lancet* 1994;344:1027.
17. Melhus H, Kindmark A, Amer S, Wilen B, Lindh E, Ljunghall S. Vitamin D receptor genotypes in osteoporosis. *Lancet* 1994;344:949-950.
18. Liel Y, Edwards J, Shary J, Spicer KM, Gordon L, Bell NH. The effects of race and body habitus on bone mineral density of the radius, hip, and spine in premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1988;66:1247-1250.
19. Reid IR, Plank LD, Evans MC. Fat mass is an important determinant of whole body bone density in premenopausal women but not in men. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;75:779-782.
20. Jones HH, Priest JD, Hayes WC. Humeral hypertrophy to response to exercise. *J Bone Joint Surg [Am]* 1977;59A: 204-208.
21. Drinkwater BL, Bruemner B, Chesnut CH III. Menstrual history as a determinant of current bone density in young athletes. *JAMA* 1990;263:545-548.
22. Parfitt AM. Quantum concept of bone remodeling and turnover: implications for the pathogenesis of osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 1979;28: 1-5.
23. Steiniche T, Hasling C, Charles P, Eriksen EF, Mosekilde L, Melsen F. A randomized study on the effects of estrogen/progestagen or high dose oral calcium on trabecular bone remodeling in postmenopausal osteoporosis. *Bone* 1989;10:313-320.
24. DiAugustine RP, Petrusz P, Bell GI, Brown CF, Korach KS, McLachlan JA, Teng CT. Influence of estrogens on mouse uterine epidermal growth factor precursor protein and messenger ribonucleic acid. *Endocrinology* 1988;122:2355-2363.
25. Eriksen EF, Colvard DS, Berg NJ, Graham M, Mann KG, Spelsberg TC, Riggs BL. Evidence of estrogen receptors in normal human osteoblast-like cells. *Science* 1988;241:84-87.
26. Komm BS, Terpening C, Benz D, Graeme K, Gallegos A, Korc M, Greene GL, O'Malley BW, Haussler MR. Estrogen binding, receptor mRNA, and biologic response in osteoblast-like osteosarcoma cells. *Science* 1988;241:81-84.
27. Oursler MJ, Landers JP, Riggs BL, Spelsberg TC. Oestrogen effects on osteoblasts and osteoclasts. *Ann Med* 1993;25:361-371.
28. Etienne M, Fischel JL, Milano G, Formento P, Formento JL, Fraucoual M, Frenoy M, Namer M. Steroid receptors in human osteoblast-like cells. *Eur J Cancer* 1990;26:807-810.

29. Ernest M, Parker MG, Rodan GA. Functional estrogen receptors in osteoblastic cells demonstrated by transfection with a reporter gene containing an estrogen response element. *Mol Endocrinol* 1991;5:1597-1606.
30. Iregami A, Inoue S, Hosoi T, Mizuno Y, Nakamura T, Ouchi Y, Orima H. Immunohistochemical detection and Northern blot analysis of estrogen receptor in osteoblastic cells. *J Bone Miner Res* 1993;8:1103-1109.
31. Lorenzo JA, Sousa SL, Fonseca JM, Hock JM, Medlock ES. Colony stimulating factors regulate the development of multinucleated osteoclasts from recently replicated cells in vitro. *J Clin Invest* 1987;80:160-164.
32. Corboz VA, Cecchini MG, Felix R, Fleisch H, Van der Pluijm G, Lowik CW. Effect of macrophage colony-stimulating factor on in vitro osteoclast generation and bone resorption. *Endocrinology* 1992;130:437-442.
33. Pacifici R, Brown C, Puseck E, Friedrich E, Slatopolsky E, Maggio D, McCracken R, Avoli LV. Effects of surgical menopause and estrogen replacement on cytokine release from human blood mononuclear cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:5134-5138.
34. Gowen M, Wood DD, Ilrie EJ, McGuire MKB, Russell RGG. An interleukin 1 like factor stimulates bone resorption in vitro. *Nature* 1983;306:378-380.
35. Manolagas SC, Dilka RL. Bone marrow cytokines and bone remodeling: Emerging insights into the pathophysiology of osteoporosis. *N Eng J Med* 1995; 332:305-311.
36. Pfeilschiffer J, Sedeyin SM, Mundy GR. Transforming growth factor beta inhibits bone resorption in fetal rat long bone cultures. *J Clin Invest* 1988;82:680-685.
37. Shioi A, Teitelbaum SL, Ross FP, Welgus HG, Suzuki H, O'hara J, Lacey DL. Interleukin-4 Inhibits murine osteoclast-like cells by inhibing fusion of their precursors. *J Immunol* 1991;137:3544-3449.
38. McSheehy PMJ, Chambers TJ. Osteoblastic cells mediate osteoclastic responsiveness to PTH. *Endocrinology* 1986;118:825-828.
39. McSheehy PMJ, Chambers TJ. 1,25 Dihydroxyvitamin D3 stimulates rat osteoblastic cells to release a soluble factor that increases osteoclastic bone resorption. *J Clin Invest* 1987;80:425-429.
40. Jilka RL, Hangoc G, Girasole G, Passeri G, Williams DC, Abrams JS, Boyce B, Broxmeyer H, Manolagas SC. Increased osteoclast development after estrogen loss: mediation by interleukin-6. *Science* 1992;257:88-91.
41. Girasole G, Jilka RL, Passeri G, Boswell S, Boder G, Williams DC, Manolagas SC. Marrow-derived stromal cells and osteoblasts in vitro: a potential mechanism for the antiosteoporotic effects of estrogen. *J Clin Invest* 1992;89:883-891.

42. Girasole G, Jilka RL, Passeri G, Boswell S, Boder G, Williams DC, Manolagas SC. 17 β -estradiol inhibits interleukin-6 production by bone marrow-derived stromal cells and osteoblasts in vitro: a potential mechanism for the antiosteoporotic effects of estrogens. *J Clin Invest* 1992;89:883-891.
43. Lewis DB, Liggitt HD, Effmann EL, Motley ST, Teitelbaum SL, Jepsen KL, Goldstein SA, Bonadio J, Carpenter J, Perlmutter RM. Osteoporosis induced in mice by overproduction of interleukin 4. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993;90:11618-11622.
44. McCarthy TL, Centrella M, Canalis E. Regulatory effects of insulin like growth factors I y II on bone collagen synthesis in rat calvarial cultures. *Endocrinology* 1989;124:301-309.
45. Prior JC, Vigna YM, Schechter MT, Burgess AE. Spinal bone loss and ovulatory disturbances. *N Engl J Med* 1990;323:1221-1227.
46. Longcope C, Hunter R, Franz C. Steroid secretion by the postmenopausal ovary. *Am J Obstet Gynecol* 1980;138:564-568.
47. Nielsen HK, Brixen K, Bouillon R, Mosekilde L. Changes in biochemical markers of osteoblastic activity during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1990;70:1431-1437.
48. Kasperk CH, Wergedal JE, Farley JR, Linkhart TA, Turner RT, Baylink D. Androgens directly stimulate proliferation of bone cells in vitro. *Endocrinology* 1989;124:1576-1578.
49. Slemenda C, Hui SL, Longcope C, Johnston CC. Sex steroids and bone mass: a study of changes about the time of the menopause. *J Clin Invest* 1987;80:1261-1269.
50. Klein DC, Raisz LG. Prostaglandins: stimulation of bone resorption in tissue cultures. *Endocrinology* 1970;86:1436-1438.
51. Raisz LG, Dietrich JW, Simmons HA. Effect of prostaglandin endoperoxides and metabolites on bone resorption in vitro. *Nature* 1977;267:532-533.
52. Okuda A, Taylor LM, Heersche JNM. Prostaglandin E2 initially inhibits and then stimulates bone resorption in isolated rabbit osteoclast cultures. *Bone Miner* 1989;7:255-258.
53. Chambers TJ, McSheehy PMJ, Thomson BM. The effect of calcium-regulating hormones and prostaglandins on bone resorption by osteoclasts aggregated from neonatal rabbit bones. *Endocrinology* 1985;60:234-238.
54. Sakamoto S, Sakamoto M, Gollihabert P. Collagenase activity and morphological and chemical bone resorption induced by prostaglandin E2 in tissue culture. *Proc Soc Exp Biol Med* 1979;161:99-101.
55. Mori S, Jee WSS, Li XJ. Effects of prostaglandin E2 on production of new cancellous bone in the axial skeleton of ovariectomized rats. *Bone* 1990;11:103-105.
56. Yang RS, Liu TK, Lin-Shiau SY. Increased bone growth by local prostaglandin E2 in rats. *Calcium Tissue Int* 1993;52:57-61.

57. Stevenson JC, Abeyasekera G, Hillyard CJ. Calcitonin and the calcium regulating hormones in postmenopausal women: Effect of oestrogens. *Lancet* 1981;1:693-695.
58. Warshawsky H, Goltzman D, Rouleau MF. Direct in vivo demonstration by autoradiography of specific binding sites for calcitonin in skeletal and renal tissues of the rat. *J Cell Biol* 1988;85:682-685.
59. Greenberg C, Kukreja SC, and Bowser EN. Effects of oestradiol and progesterone on calcitonin secretion. *Endocrinology* 1986;118:2594-2598.
60. Duursma SA, Bijlma JWJ, Van Paassen HC. Oestrogens and bone metabolism: A hypothesis. *Maturitas* 1986;8:1-7.
61. Hurley DL, Tiegs RD, Wahner HW. Axial and appendicular bone mineral density in patients with long-term deficiency or excess of calcitonin. *N Engl J Med* 1987;317:537-541.
62. Reginster TY, Deroisy R, Albert A. Relationship between whole plasma calcitonin levels, calcitonin secretion capacity, and plasma levels of estrone in healthy women and postmenopausal osteoporotics. *J Clin Invest* 1989;83:1073-1075.
63. Miller SC. Rapid activation of the medullary bone osteoclast cell surface by parathyroid hormone. *J Cell Biol* 1978;76:615-618.
64. Raisz LG. Stimulation of bone resorption by parathyroid hormone in tissue culture. *Nature* 1963;197:1015-1016.
65. Bigham PJ, Brazell IA, Owen M. The effect of parathyroid extract on cellular activity and plasma calcium levels in vivo. *J Endocrinol* 1969;45:387-400.
66. Akatsu T, Takahashi N, Udagawa N. Parathyroid hormone (PTH)-related protein is a potent stimulator of osteoclast-like multinucleated cell formation to the same extent as PTH in mouse marrow cultures. *Endocrinology* 1989;125:20-35.
67. Silve SH, Hradek GT, Jones AL. Parathyroid hormone receptor in intact embryonic chicken bone: characterization and cellular localization. *J Cell Biol* 1982;94:379-386.
68. Henry HL. 25(OH)d3 metabolism in kidney cell cultures: lack of a direct effect of estradiol. *Am J Physiol* 1981;240:E119-E124.
69. Trechsel U, Eisman JA, Fischer JA, Bonjour JP, Fleisch H. Calcium-dependent, parathyroid hormone-independent regulation of 1,25-dihydroxyvitamin D. *Am J Physiol* 1980;239:E119-E124.
70. Lindsay R, Tohme J, Kanders B. The effect of oral contraceptive use on vertebral bone mass in pre-and post-menopausal women. *Contraception* 1986;34:333-340.
71. Kanders B, Lindsay R, Dempster D. Determinants of bone mass in young healthy women. In: Christiansen C, Arnaud CD, Nordin BEC, Parfitt AM, Peck WA and Riggs BL, eds. *Osteoporosis: Proceedings of the Copenhagen International Symposium on Osteoporosis, Copenhagen, 1984;337-339.*

72. Mazess RB, Barden HS. Bone density in premenopausal women: effects of age, dietary intake, physical activity, smoking and birth control pills. *Am J Clin Nutr* 1991;53:312-342.
73. Dequeker J, Rutten V, Verstraeten A. Effect of menarche, parity, lactation and use of OC's on peripheral and axial bone mass. In: Christiansen C, Johansen JS, Riis BJ, eds. *Osteoporosis: Proceedings of International Symposium, Sept 27-oct 2, 1987; Denmark: Dept of Clinical Chemistry, Glostrup Hospital, 1987:432-4.*
74. Raisz LG. Local and systemic fractures in the pathogenesis of osteoporosis. *N Eng J Med* 1988;318:818-827.
75. Aloia JF, Cohn SH, Vaswani A, Yeh JK, Yuen K, and Ellis K. Risk factors for postmenopausal osteoporosis. *Am J Med* 1985;78:95-100.
76. Jensen J, Christiansen C, Rødbro R. Cigarette smoking, serum estrogens and bone loss during hormone replacement therapy early after menopause. *N Eng J Med* 1985;313:973-975.
77. Anonymous. Risk factors in postmenopausal osteoporotic. *Lancet* 1985;1:1370-1372.
78. Seeman E, Hopper JL, Back LA, Cooper ME, Parkinson E, McKay J, Jerums G. Reduced bone mass in daughters of women with osteoporosis. *N Engl J Med* 1989;320:554-558.
79. Nordin BEC, Heaney RP. Calcium supplementation of the diet: justified by present evidence. *BMJ* 1990;300:1056-1060.
80. Stevenson JC, Lees B, Devenport M, Cust MP, Genger KF. Determinants of bone density in normal women: Risk factors for future osteoporosis. *BMJ* 1989;298:924-927.
81. Dalsky GP. Exercise: Its effect on bone mineral content. *Clin Obstet Gynecol* 1987;30:820-832.
82. Chan GM, McMurry, Westover K, Engelbert-Fantou E, Thomas R. Effects of increased dietary calcium and bone mineral status of lactating adolescent and adult women. *Am J Clin Nutr* 1987;319-333.
83. Kritz-Silvertein D, Barrett-Connor E, Hollenbach KA. Pregnancy and lactation as determinants of BMD in postmenopausal women. *Am J of Epidem* 1992;136:1052-1059.
84. Hamed HM, Purdie DW, Steel SA, Howey S. Relationship between BMD and early pregnancy loss. *Br J Obstet/Gynaec* 1992;99:946-949.
85. Hreshchyshyn MM, Hopkins A, Zylstra S, Ambar M. Associations of parity, breast feeding, birth control pills with lumbar spine and femoral neck bone densities. *Am J Obstet Gynecol* 1988;159:318-322.
86. Goldsmith NF, Johnston JO. Bone mineral: Effects of oral contraceptives, pregnancy, and lactation. *J of Bone and Joint Surg* 1975;57A:657-668.
87. Hayslip CC, Klein TA, Wray HL, Duncan WE. The effects of lactation on bone mineral content in healthy postpartum women. *Obstet Gynecol* 1989;73:588-592.

88. Zhang J, Feldblum PJ, Fortney JA. Moderate physical activity and bone density among perimenopausal women. *Am J Pub Health* 1992;82:736-738.
89. Feldblum PJ, Zhang J, Rich LE, Forney JA, Telmage RV. Lactation history and bone mineral density among perimenopausal women. *Am J Epidem* 1992; 3:527-531.
90. Cann CE, Henzl M, Burry K. Reversible bone loss is produced by the GnRH agonist Nafarelin. In: Cohn DV, Martin TJ, Meunier PL, eds *Calcium regulation and bone metabolism: basic and clinical aspects*, New York: Elsevier 1987:123-127.
91. Kreiger N, Kelsey JL, Holford TR, O'Connor T. An epidemiologic study of hip fracture in postmenopausal women. *Am J Epidem* 1982;116:141-148.
92. Alderman BW, Weiss NS, Daling JR. Reproductive history and postmenopausal risk of hip and forearm fracture. *Am J Epidemiol* 1986;124:262-267.
93. Mehta S. Bone loss, contraception and lactation. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1993;72:148-156.
94. Cann CE, Genant HK, Ettiger B, Gordan GS. Spinal mineral loss in oophorectomized women. *JAMA* 1980;244:2056-2059.
95. Lindsay R, Hart DM, Forrest C, Baird C. Prevention of spinal osteoporosis in oophorectomized women. *Lancet* 1980;2:1151-1154.
96. Richelson LS, Wahner HW, Melton LJ III, Riggs BL. Relative contributions of aging and estrogen deficiency to postmenopausal bone loss. *N Engl J Med* 1984;311:1273-1275.
97. Aitken JM, Hart DM, Lindsay R. Oestrogen replacement therapy for prevention of osteoporosis after oophorectomy. *BMJ* 1973;515:518.
98. Rigotti NA, Neer RM, Skates SJ, Herzog DB, Nussbaum JR. The clinical course of osteoporosis in anorexia nervosa: A longitudinal study of cortical bone mass. *JAMA* 1991;265:1133-1138.
99. Cann CE, Martin MC, Genant HK, Jaffe RB. Decreased spinal mineral content in amenorrhoeic women. *JAMA* 1984;251:626-629.
100. Drinkwater BL, Nilson K, Chestnut CH III, Bremner WJ, Schinholz S, Southworth MB. Bone mineral content of amenorrhoeic and eumenorrhoeic athletes. *N Engl J Med* 1984; 311:277-278.
101. Lindsay R. The menopause: sex steroids and osteoporosis. *Clin Obstet Gynecol* 1987;30:847-859.
102. Hammond GB, Maxson WS. Current status of estrogen therapy for the menopause. *Fertil Steril* 1982; 37:5-35.
103. Klibanski A, Greenspan SL. Increase of bone mass after treatment of hyperprolactinemic amenorrhoea. *N Eng J Med* 1986;315:542-546.
104. Duursma SA, Raymakers JA, Boereboom FTJ. Estrogen and bone metabolism. *Obstet Gynecol Survey* 1991;47:38-44.

105. Lindsay R, Hart DM, and Clark DM. The minimum effective dose of estrogen for prevention of menopausal bone loss. *Obstet Gynecol* 1984;63:759-763.
106. Ettinger B, Genant HK, Cann CE. Postmenopausal bone loss is prevented by treatment with low dose estrogen with calcium. *Ann Intern Med* 1987; 106:40-45.
107. Munk-Jensen N, Pors-Nielsen S, Obel EB, Eriksen PB. Reversal of postmenopausal vertebral bone loss by estrogen and progestogen: a double blind placebo controlled study. *BMJ* 1988;296:1150-1152.
108. Naessen T, Olsson S-E, and Gudmundson J. Differential effects on bone density of progestogen-only methods for contraceptive in premenopausal women. *Contraception* 1995;52:35-39.
109. Anonymous. Estrogen receptors in bone. *Nutr Reviews* 1989;47:15-7.
110. Frenay M, Milano G, Formento JL. Estrogen and progesterone receptor status in bone biopsy specimens from patients with breast cancer. *Eur J Cancer* 1991;27:115-118.
111. Cundy T, Evans M, Roberts H, Wattie D, Ames R, Reid IR. Bone density in women receiving depot medroxyprogesterone acetate for contraception. *BMJ* 1991;303:6-13.
112. Fortney A, Feldblum PJ, Talmage RV. Bone mineral density and history of oral contraceptive use. *J Reprod Med* 1994;39:105-109.
113. Rodin A, Chapman M, Fogelman I. Bone density in users of combined oral contraception. *Br J Fam Plann* 1991;16:125-129.
114. Enzelberger H, Metka M, Heytmanek G. Influence of oral contraceptive use on bone density in climacteric women. *Maturitas* 1988;9:375-378.
115. Kleerekoper M, Brienza RA, Schultz LR, Johnson CC. Oral contraceptive use may protect against low bone mass. *Arch Intern Med* 1991; 151:1971-1976.
116. Gambacciani M, Spinetti A, Taponeco F, Cappagli B, Piaggese L, Fioretti P. Longitudinal evaluation of perimenopausal vertebral bone loss. Effects of low-dose oral contraceptive preparation on bone mineral density and metabolism. *Obstet Gynecol* 1994;83:392-396.
117. Hui SL, Wiske PS, Norton JA, Johnston CC Jr. A prospective study of change in bone mass with age in postmenopausal women. *J Chronic Dis* 1982;35:715-725.
118. Riggs L, Wahner HW, Melton LJ III, Richelson LS, Judd HL, Offord KP. Rates of bone loss in the appendicular and axial skeletons of women. *J Clin Invest* 1986; 77:1487-1491.
119. Nordin BEC. The definition and diagnosis of osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 1987;40:57-58.
120. Need AG, Nordin BEC. Which bone to measure. *Osteop Int* 1990;1:3-6.
121. Nilas L, Gotfredsen A, Riis BJ, Christiansen C. The diagnostic validity of local and total bone mineral measurement in postmenopausal osteoporosis and osteoarthritis. *Clin Endocrinol* 1986;25:711-720.

122. Nilas L, Podenphant J, Riis BJ, Gotfredsen A, Christiansen C. Usefulness of regional bone measurement in patients with osteoporotic fractures of the spine and distal forearm. *J Nucl Med* 1987;28:960-965.
123. Hui SL, Slemenda CW, Johnston CC Jr. Baseline measurement of bone mass predicts fracture in white women. *Ann Intern Med* 1989;111:355-361.
124. Johnston CC Jr, Slemenda CW, Melton LS. Clinical use of bone densitometry. *N Engl J Med* 324:1105-1109.
125. Cummings SR, Black DM, Nevitt MC, Browner W, Cauley J, Ensrud K, Genant HK, Palermo L, Scott J, Vogt TM. Bone density at various sites for prediction of hip fractures. *Lancet* 1993;341:72-75.
126. Gärdsell P, Johnell O, Nilsson BE, Gullberg B. Predicting various fragility fractures in women by forearm bone densitometry: A follow-up study. *Calcif Tissue Int* 1993;52:348-353.
127. Melton LJ III, Alkinson EJ, O'Fallon WM, Wahner HW, Riggs BL. Long-term fracture prediction by bone mineral assessed at different skeletal sites. *J Bone Miner Res* 1993;8:1227-1233.
128. Kelly TL, Crane G, Baran DT. Single X-Ray Absorptiometry of the forearm: Precision, correlation, and reference data. *Calcif Tissue Int* 1994;54:212-218.
129. Cassidenti DL, Pike MC, Vijod AG, Stanczyk FZ, Lobo RA. A reevaluation of estrogen status in post-menopausal women who smoke. *Am J Obstet Gynecol.* 1992; 166:1444-1448.
130. Halbrook TL, Barrett-Connor E. A prospective study of alcohol consumption and bone mineral density. *BMJ* 1993; 306:1506-1509.