

Risk factors and biochemical markers in metabolic bone disease of premature newborns

Factores de riesgo y marcadores bioquímicos de la enfermedad metabólica ósea del recién nacido prematuro

Alicia Montaner Ramón^a, Cristina Fernández Espuelas^a, Pilar Calmarza Calmarza^b, Segundo Rite Gracia^a, María Jesús Oliván del Cacho^a

^aUnit of Neonatology, Pediatrics Service, Miguel Servet Children's Hospital, Zaragoza, Spain

^bDepartment of Clinical Biochemistry, Miguel Servet University Hospital, Zaragoza, Spain

Received: 17-9-2016; Accepted: 23-1-2017

Abstract

Background: Metabolic bone disease (MBD) of prematurity is a complication of multifactorial aetiology, which has been increasing, due to progressive decrease in mortality of preterm newborns. The aim of the study was to analyze risk factors of severe MBD and its analytical markers. **Patients and Method:** Retrospective study involving preterm infants less than 32 weeks gestational age and/or weight less than 1,500 g born between January 2012 and December 2014. Comparison was made according to the presence of severe MBD. **Results:** 139 patients were recruited. Mean value of 25(OH)D3 was 70.68 ± 25.20 nmol/L, being higher in patients born in spring-summer than in autumn-winter (80.94 ± 25.33 vs 61.13 ± 21.07 ; $p = 0.000$). Levels of 25(OH)D3 were similar in patients with severe MBD compared with the rest of patients (65.61 ± 26.49 vs 72.07 ± 24.89 , $P = 0.283$). Higher levels of alkaline phosphatase (AP, IU/L) (1314.19 ± 506.67 vs 476.56 ± 188.85 ; $p = 0.000$) were found in these patients. Cutoff point of AP 796.5 IU/L (S 95.2%, specificity 92.4%) was calculated by ROC curve. The risk factors most associated to severe EMO were restricted fetal growth, birth weight, duration of ventilation therapy and parenteral nutrition. **Conclusions:** AP levels were the best marker of severe MBD development. EMO risk increases with the number of risk factors and lower levels of 25(OH)D3. Levels of 25(OH)D3 higher than 70nmol/L appear to protect from the development of severe MBD, even in patients with multiple risk factors.

Keywords:

Prematurity, Metabolic bone disease, alkaline phosphatase, sensitivity, specificity

Introduction

Metabolic bone disease (MBD) is the new designation for osteopenia of prematurity, a complication in premature children, characterized by a reduction of osteoid tissue and bone mineral component (BMC) and by biochemical alterations of phospho-calcium metabolism. This condition may be favored by several nutritional and biomechanical factors, such as prolonged nutrient deficiency, immobilization and parenteral nutrition, as well as the intake of antagonistic medications with bone metabolism¹⁻³. Although in the past the incidence of this pathology was similar or even greater than the current one, the progressive reduction of mortality in the last years and the growing clinical experience, allowed for a systematic search of osteopenia and MBD (affecting the premature ones) as a usual clinical practice in centers with experience in neonatology. All this is allowing the pathology to be more and more frequently diagnosed and to be treated early, even in mild forms that were previously not detected⁴.

The period of greatest development of the skeleton is during fetal life, mainly at the end of the third trimester^{5,6}. The newborn is prematurely deprived of these inputs necessary for proper mineralization. Also, chronic placental involvement alters the transport of phosphate, which could condition osteopenia in children with intrauterine growth restriction^{7,8}.

The current incidence of MBD is unknown. In recent studies, we could find this pathology in slightly more than half of the newborns (NB) with less than 28 weeks of gestational age (GA) or newborn's weight (NBW) less than 1000 grams, and 1 of every 4-5 children under 1500 grams^{9,10}. It is closely associated with GA, NBW, and the type of feeding with delayed enteral inputs and with the severity of the total process. Thus, the risk of bone involvement is greater in premature infants under a serious clinical situation, taking into account that an extreme prematurity is linked with a very low weight^{2,3}.

The pathology usually starts its developing process from 4 weeks of age, with a wide clinical variability, from mild asymptomatic forms to classic rickets. If demineralization is severe, it could favor multiple fractures and alterations of phospho-calcium in the patient's metabolism¹¹.

The diagnosis is basically analytical, so it is necessary to make a number of determinations in preterm infants (PTNB) with suspected risk factors for the disease. Any parameter can be considered isolated as MBD marker, although the most commonly used is the serum alkaline phosphatase. The figures that determine the diagnosis are not clearly defined in the literature, but in some series it is accepted that above 500

IU/L as a high sensitivity and specificity, and in others, above 700 IU/L^{1,12,13}.

The diagnosis of MBD will be confirmed by a densitometry, however its availability is scarce in neonatal units. Despite the advances in the knowledge of this disease, the analytical cutoffs markers which determine a high suspicion of MBD are not clear yet, and although the risk factors are well defined, it is not clear if there are other protective factors that may prevent the MBD development, despite it could be presented along with multiple risk factors¹⁴⁻¹⁶.

Although MBD is a self-limiting disease over time, recovery could last up to 2 years¹⁷. Some studies give us evidence of postnatal growth delays at 8-12 years of age^{17,18}. Therefore, if its prevention fails, the presence of fractures, dolichocephaly and delays in growth rate, as well as other long-term effects, such as osteopenia in adulthood, would be favored^{16,19}.

Hence, the present study is focused in analyzing the risk factors associated with the development of severe MBD and the analytical markers of the disease, aiming to find cutoffs in the different biochemical parameters that allow to identify the development of this bone disease.

Patients and Methods

A retrospective observational, descriptive and analytical study was performed, including all PTNB infants less than 1,500 g of NBW and/or less than 32 GAW (Gestational Age Weeks), who were born between January 2012 and December 2014 and who were admitted to the Neonatal Unit of Miguel Servet Children's Hospital, Zaragoza, Spain (center that registers 4000-4500 deliveries and 80-100 PTNB less than 1500 g or 32 GAW per year).

Patients who died or were transferred from this center before discharge and those who did not undergo an analytical extraction due to a serious clinical situation at that time or failure to apply the protocol, were excluded. The process of inclusion of patients is detailed in figure 1.

The diagnostic-therapeutic protocol of this center includes the performance of blood analysis with calcium, phosphorus, 25 (OH) vitamin D3 and alkaline phosphatase (AP) at 3-4 weeks of life, or earlier (if there is clinical suspicion of osteopenia or fractures), due to the presence of bone deformities, bone palpation pain, a chance finding on X-ray for another reason or analytical alterations, such as hypophosphatemia, hyperphosphaturia, hypocalcemia or hypercalciuria, detected in another control. The samples are processed immediately after their extraction in the biochemistry laboratory, of the hospital itself. Subsequently, serial

checks are performed every 2-3 weeks until hospital discharge. If the AP is greater than 800 IU/l, or if there are ionic alterations or images suggesting MBD or fractures in the X-rays, the parathormone (PTH) is added to assess the stimulation of the bone remodeling. The wrist x-ray is performed with AP above 500 IU/l and on clinical suspicion of MBD or fractures cases, in order to assess if there are radiological signs of osteopenia (in our sample we defined patients with severe MBD due to the radiological presence of metaphyseal changes with rarefaction, fraying and cup formation of the growth plate or periosteal detachment of the shaft). Those with radiological signs of MBD or with elevated AP above 800 IU/L are treated with oral solutions of calcium carbonate (30-50 mg/kg/day) and phosphorus (starting at 10-20 mg/kg/day and increasing up to 100 mg/kg/day).

In our center, parenteral nutrition (PN) is started on the first day of life in all patients with less than 32

GAW and/or NBW less than 1500 g, with initial calcium inputs of 50-60 mg/kg and phosphorus of 40-50 mg/kg, adjusted according to analytical controls. In order to start with enteral nutrition (EN) as soon as possible, an attempt of feeding patients with breast milk or donated breast milk from a bank is made, and PN is suspended from 120 ml/kg EN.

From the ingestion of 100 ml/kg of milk, the fortification of the milk begins. The usual vitamin D intake for neonates is 400 IU per day. To obtain all the needing data, a review of the patients' medical records was carried out. Antenatal variables and the immediate neonatal period (single or multiple pregnancy, gender, birth reason, prenatal corticoid administration, gestational age, anthropometry at birth, Apgar test, resuscitation in the delivery room, neonatal evolution variables, respiratory and hemodynamic support and their duration, use of diuretics and other medications, time of onset of EN and PN withdrawal), analytical markers

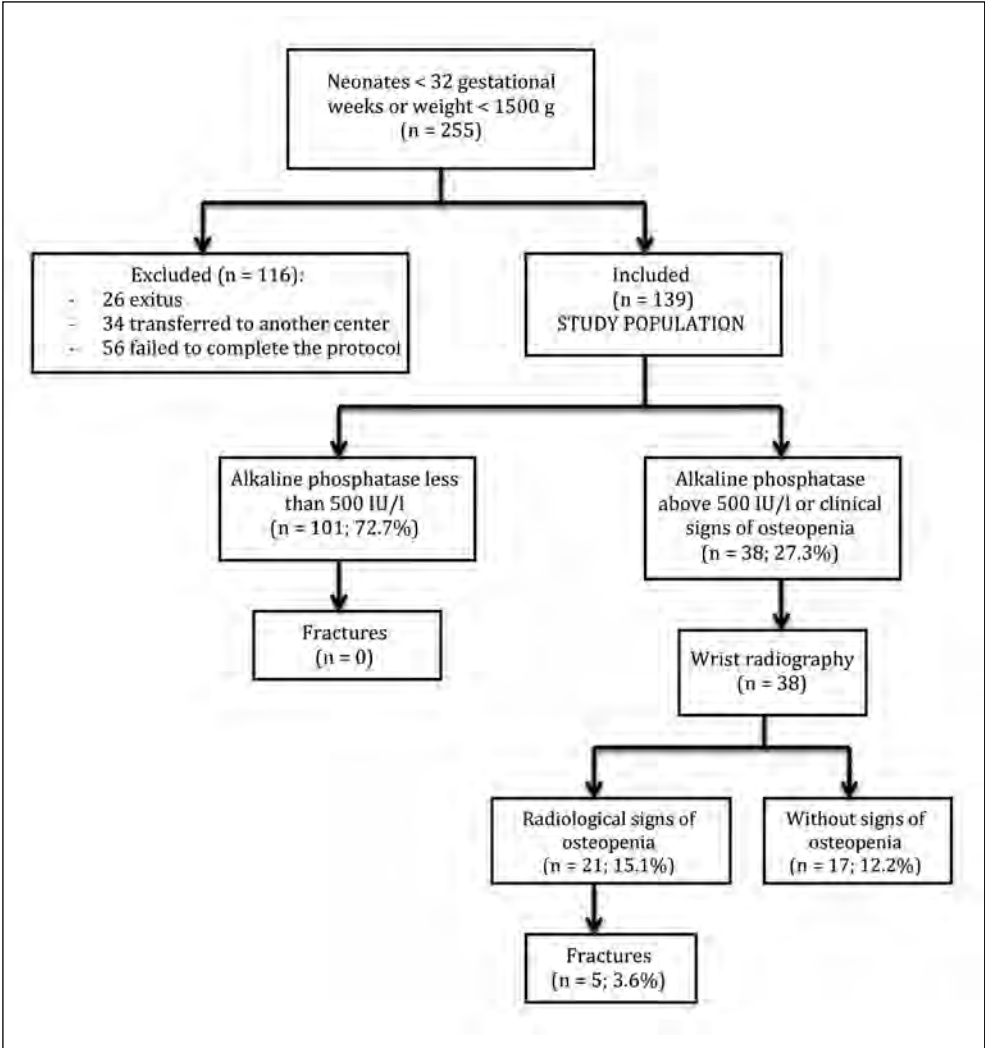


Figure 1. Flow diagram of patient inclusion.

of phospho-calcium metabolism (ions, 25 (OH) vitamin D, AP and PTH) and radiological presence of severe MBD or fractures.

Statistical analysis

All data were recorded and analyzed using the statistical package SPSS statistics 21.0.

An initial descriptive study was carried out to know frequencies, measures of central tendency and measures of dispersion.

The analytical study was performed by Kolmogorov-Smirnov and Saphiro-Wilk tests for normality analysis of the quantitative variables, and U Mann-Whitney, Kruskal-Wallis and Wilcoxon tests were used for the quantitative variables, because they were nonparametric samples, while the qualitative variables were compared by Chi-square test or Fisher's exact test.

A multivariate analysis of logistic regression was performed with significant variables in the univariate analysis. The study was approved by the Ethics Committee of Scientific Research of Aragon (CEICA).

Results

A sample of 139 patients was obtained, whose inclusion process is shown in figure 1.

Table 1 describes the demographic data of the overall sample. A 15.1% of patients (n = 21) had radiological signs of osteopenia, of which 13 (61.9%) were male and 8 (38.1%) were female, with no statistical differences between genders. 5 neonates (3.6%), all of them male, and born with NBW less than 1000 g or before 28 GAW, presented one or more fractures during their stay in the Neonatal Unit, finding a statistical association between male gender and the development of fractures (9.2% vs 0%, p = 0.024).

The variables studied and their association with the development of osteopenia or fractures are shown in Table 2. Considering the set of variables associated with severe MBD, we found a statistical association between the sum of the number of related factors (RF) and the development of severe MBD (without severe MBD 4.71 ± 1.54 AP, severe MBD $6, 81 \pm 1.63$ RF, p = 0.000). However, we observed that, with an exception of one patient, the remaining infants who had 6 or more RF, but had 25 (OH) vitamin D3 values above 70 nmol/l, they did not develop severe MBD.

A multivariate logistic regression analysis was performed with the statistically significant variables in the univariate analysis, finding that the only factor that was independently associated with the development of severe BMD was intrauterine growth retardation (OR 9.65, 95% CI 3.48 -26.76, p < 0.001), this fact totally detached with the rest of variables, including birth weight, mechanical ventilation duration (MV) or PN.

The mean value of 25 (OH) vitamin D3 in the global sample was 70.86 ± 25.20 nmol/L. Patients born during spring and summer (n = 71) had values significantly higher than those born in autumn-winter (n = 68) (80.94 ± 25.33 nmol/l vs 61.13 ± 21.07 nmol/l; P = 0.000). No differences were found in the PTH and AP values between the different stations.

The values of 25 (OH) vitamin D, AP and PTH as a function of the presence or absence of osteopenia or fractures are shown in Table 3. No alteration was found in the calcium values (normal values (NV) considered in this center: 8.5-10.5 mg/dL) and phosphorus (NV 4.5-7.5 mg/dL) in any patient during the time period studied.

The ROC (Receiver Operating Characteristic) curve calculated the optimal AP cutoff point for the diagnosis of MBD with radiological alteration, which in our sample was 796.5 IU/l, rating a sensitivity of 95.2% and a specificity of 92.4% (figure 2). It was not possible to estimate the diagnosis of fractures, due to the small number of patients in this group.

Table 1. Demographic characteristics of the global sample

Characteristics	Muestra global
Male. n (%)	67 (48.2%)
Birth weight in grams. median (range)	1250 (480-1495)
Gestational age weeks. median (range)	29.28 (24-36.86)
Newborns from multiple gestation. n (%)	49 (35.3%)
Neonates < 28 gestational weeks or weight < 1000 grams. n (%)	74 (53.2%)
Intrauterine growth restriction. n (%)	30 (21.6%)
<i>Neonates. n (%)</i>	
Small for gestational age	15 (10.8%)
Appropriate for gestational age	122 (87.8%)
Large for gestational age	2 (1.4%)
Antenatal steroids ≥ 2 doses. n (%)	96 (69.1%)
<i>Gestational maternal pathology. n (%)</i>	66 (47.4%)
Preeclampsia or eclampsia	30 (21.6%)
Chorioamnionitis	22 (15.8%)
Thyroid pathology	8 (5.7%)
Pregestational or gestational diabetes	6 (4.3%)
25(OH)vitamine D3 in nmol/l. median (range)	69.21 (25.5-145)
Alkaline phosphatase in IU/l. median (range)	480 (189-2911)
Parathormone in pg/ml. median (range)	80.05 (37.2-123.4)
Total days in Neonatal Intensive Care Unit. median (range)	38 (0-160)
Radiological signs of osteopenia. n (%)	21 (15.1%)
Fractures. n (%)	5 (3.6%)

Qualitative variables expressed in: n (percentage); Quantitative variables Expressed in: median (rank).

and a restrictive use of antagonistic medications with bone mineralization^{3,9,16,22}.

Regarding our patients, we have seen that those with a torpid neonatal evolution, are those with a more severe osteopenia, presenting an increased risk of developing fractures, which demonstrates the importance of avoiding these associations as far as possible, through non-respiratory management or through an invasive or early onset of trophic enteral nutrition. According to our results, we have observed that these patients could be considered 'safe' around their first month of life. Thus, patients who achieve exclusive enteral nutrition, along with parenteral nutrition withdrawal and respiratory symptoms support before 30 days of life, are clearly less likely to develop severe MBD.

The analytical figures from which there is osteopenia are not well defined at the moment in data already published, although the alkaline phosphatase is the most accepted biomarker for its diagnosis^{1,13}. Along with this determination, we had not seen a relationship between the numbers of 25 (OH) vitamin D and PTH and the osteopenia development in our study, but we had seen it with those of alkaline phosphatase.

In addition, we have seen that in our patients a number of AP above 800 IU/L would be acceptable, being of an adequate clinical utility to identify newborns affected by severe MBD, presenting a good sensitivity and specificity. This is in contrast to other studies, in which it is considered as lower values around 500 IU/L^{1,12,13,23}.

In regard with our results, along with the fact that we do not find statistical association between osteopenia and vitamin D3 deficit, we consider that it is not a risk factor, but it could produce this pathology in an unfavorable context, especially if it is associated with other factors, such as IUGR (intrauterine growth restriction), prolonged ventilation and immobilization, among others, which is supported by Robinson and Barrera, who already mentioned this in previous publications^{7,8}.

At birth, if patient is presented with vitamin D3 deficiency, we are facing 2 situations. On the one hand, it may happen that the infant does not present major problems and in this case the deficit is compensated by the early introduction of feeding with breast milk fortifiers. But, on the other hand, there is the opposite situation, in which the newborn has an important pathology. The expenditure is greater with a lower contribution, starting a series of calcium-saving mechanisms, among which the most important is the secondary hyperparathyroidism with calcium and renal phosphorus renal loss. If this situation is prolonged, bone disease is favored in prematurity^{21,24}. Supporting this hypothesis, we have observed that at equal amou-

nts of vitamin D, patients with multiple associated factors are those who develop the most severe disease.

In contrast, there are other types of patients that, despite accumulating numerous aggravating factors, have high vitamin D3 levels, which appears to be the hormone capable of blocking the release of PTH and subsequently a bone disease. This fact has already been described previously in several studies^{2,6,25}. In line with these findings, the difference in vitamin D figures between spring-summer and fall-winter-born patients is striking. It should be verified that these results are maintained in other series and with larger sample sizes, which would imply that, if the birth occurs in the colder months of the year. It could be an additional factor to have a more severe form of MBD.

We also found lower values of 25 (OH) vitamin D in patients with fractures, but any statistical differences, probably due to the limited sample of children with fractures in our study.

In our sample we did not find patients with severe hypophosphoremiias nor significant alterations in calcium despite radiological alterations, which was not expected. It could be due to the optimization of the exogenous contributions through the parenteral nutrition, that is carried out at an early stage during the last years, but it would be necessary to consider a more detailed study in the future regarding this topic.

The only variable that we found to be independently associated with the rest of the variables in the severe MBD development is IUGR, which confers a relative 10-fold higher risk of presenting severe MBD than preterm infants without IUGR. We would have to repeat this analysis with larger sample sizes in order to see more closely if these results are consistent. It is hypothesized that vitamin D3 deficiency conditions poor placenta implantation and that alteration in the trophoblast induces preeclampsia in mothers and IUGR^{7,8,26}. Probably, the association between IUGR and maternal vitamin D3 deficiency leads to a decrease in intrauterine bone calcification, which, together with the postnatal complications that do not allow the compensation of this deficit by decreasing extra uterine contributions, makes these patients the most likely to have MBD^{1,2,7,8,26}.

All results obtained in this study allow us to confirm previous reports according to the risk factors that are most associated with the osteopenia of prematurity development. The main limitations that we found are the retrospective character, which makes some patients do not have all the variables under study, the small sample size especially in the subgroup of infants with fractures and the impossibility of performing densitometry to confirm the diagnostic suspicion by radiography.

It would be interesting to extend this research with a more complete prospective study in the future, in

which these findings could be related to values of bone densitometry during their admission and later during the follow-up in Neonatology.

Conclusions

Alkaline phosphatase levels are the ones that most reliably inform us about the metabolic bone state of the newborn, because we do not have densitometry, considered the gold standard test for BMC (bone mineral content) measurement.

The risk of bone metabolic disease increases to a greater number of risk factors and lower numbers of vitamin D3. Levels of 25 (OH) D3 above 70 nmol/l appear to protect against the development of this pathology, even in patients with multiple risk factors.

Ethical Responsibilities

Human Beings and animals protection: Disclosure the authors state that the procedures were followed according to the Declaration of Helsinki and the World

Medical Association regarding human experimentation developed for the medical community.

Data confidentiality: The authors state that they have followed the protocols of their Center and Local regulations on the publication of patient data.

Rights to privacy and informed consent: The authors have obtained the informed consent of the patients and/or subjects referred to in the article. This document is in the possession of the correspondence author.

Financial Disclosure

The study has not received any funding for its implementation nor is it sponsored by any commercial enterprise.

Conflicts of Interest

Authors declare no conflict of interest regarding the present study.

References

- Harrison CM, Johnson K, McKechnie E. Osteopenia of prematurity: A national survey and review of practice. *Acta Paediatr Int J Paediatr*. 2008;97:407-13.
- Vachharajani AJ, Mathur AM, Rao R. Metabolic bone disease of prematurity. *Neoreviews*. 2009;10:e402-11.
- Llanos MA, Mena NP, Uauy DR. Tendencias actuales en la nutrición del recién nacido prematuro. *Rev Chil Pediatr*. 2004;107-21.
- Mannan M, Jahan I, Rahman M, Hasan Z, Dey A, Shahidullah M. Osteopenia of Prematurity: Are We at Risk? *Mymensingh Med J*. 2015;24:613-7.
- Rigo J, Pieltain C, Salle B, Senterre J. Enteral calcium, phosphate and vitamin D requirements and bone mineralization in preterm infants. *Acta Paediatr Int J Paediatr*. 2007;96:969-74.
- Viswanathan S, Khasawneh W, McNelis K, Dykstra C, Amstadt R, Super DM, et al. Metabolic bone disease: a continued challenge in extremely low birth weight infants. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2014;38:982-90.
- Robinson CJ, Wagner CL, Hollis BW, Baatz JE, Johnson DD. Maternal vitamin D and fetal growth in early-onset severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2011;204:556.e1-4.
- Barrera D, Díaz L, Noyola-Martínez N, Halhali A. Vitamin D and Inflammatory Cytokines in Healthy and Preeclamptic Pregnancies. *Nutrients*. 2015;7:6465-90.
- Bozzetti V, Tagliabue P. Metabolic Bone Disease in preterm newborn: an update on nutritional issues. *Ital J Pediatr*. 2009;35:20.
- Lothe A, Sinn J, Stone M. Metabolic bone disease of prematurity and secondary hyperparathyroidism. *J Paediatr Child Heal*. 2011;47:550-3.
- Lucas-Herald A, Butler S, Mactier H, McDevitt H, Young D, Ahmed SF. Prevalence and characteristics of rib fractures in ex-preterm infants. *Pediatrics*. 2012;130:1116-9.
- Hung Y-L, Chen P-C, Jeng S-F, Hsieh C-J, Peng SS-F, Yen R-F, et al. Serial measurements of serum alkaline phosphatase for early prediction of osteopaenia in preterm infants. *J Paediatr Child Health*. 2011;47:134-9.
- Figueras-Aloy J, Álvarez-Domínguez E, Pérez-Fernández JM, Moretones-Suñol G, Vidal-Sicart S, Botet-Mussons F. Metabolic bone disease and bone mineral density in very preterm infants. *J Pediatr*. 2014;164:499-504.
- Abrams SA. Calcium and vitamin d requirements of enterally fed preterm infants. *Pediatrics*. 2013;131:e1676-83.
- Alizadeh Taheri P, Sajjadi N, Beyrami B, Shariat M. Prophylactic Effect of Low Dose Vitamin D in Osteopenia of Prematurity: a Clinical Trial Study. *Acta Med Iran*. 2014; 52:671-4.
- So KW, Ng PC. Treatment and prevention of neonatal osteopenia. *Curr Paediatr*. 2005;15:106-13.
- Pieltain C, de Halleux V, Senterre T, Rigo J. Prematurity and bone health. *World Rev Nutr Diet*. 2013;106:181-8.
- Fewtrell MS. Does early nutrition program later bone health in preterm infants? *Am J Clin Nutr*. 2011;94:1870S-1873S.
- Milinarsky A, Fischer S, Giadrosich V, Torres MT, Arriagada M, Arinovic R, et al. Normalización de la densidad mineral ósea en niños nacidos prematuros en Viña del Mar, Chile. *Rev Med Chile*. 2007;135:1546-50.
- Chan GM, Armstrong C, Moyer-Mileur L, Hoff C. Growth and bone mineralization in children born prematurely. *J Perinatol*. 2008;28:619-23.
- Kelly A, Kovatch KJ, Garber SJ. Metabolic bone disease screening practices among U.S. neonatologists. *Clin Pediatr (Phila)*. 2014;53:1077-83.
- Wood CL, Wood AM, Harker C, Embleton ND. Bone mineral density and osteoporosis after preterm birth: the role of early life factors and nutrition. *Int J Endocrinol*. 2013;2013:1-7.
- Tinnion RJ, Embleton ND. How to use... alkaline phosphatase in neonatology. *Arch Dis Child Educ Pract Ed*. 2012;97:157-63.

24. Moreira a, Swischuk L, Malloy M, Mudd D, Blanco C, Geary C. Parathyroid hormone as a marker for metabolic bone disease of prematurity. *J Perinatol.* 2014;34:787-91.
25. Rehman MU, Narchi H. Metabolic bone disease in the preterm infant: Current state and future directions. *World J Methodol.* 2015;5:115-21.
26. Olmos-Ortiz A, Avila E, Durand-Carbajal M, Díaz L. Regulation of calcitriol biosynthesis and activity: Focus on gestational vitamin D deficiency and adverse pregnancy outcomes. *Nutrients.* 2015;7:443-80.

Factores de riesgo y marcadores bioquímicos de la enfermedad metabólica ósea del recién nacido prematuro

Risk factors and biochemical markers in metabolic bone disease of premature newborns

Alicia Montaner Ramón^a, Cristina Fernández Espuelas^b, Pilar Calmarza Calmarza^c, Segundo Rite Gracia^d, María Jesús Oliván del Cacho^d

^aLicenciada en Medicina. Especialista en Pediatría y áreas específicas. Unidad de Neonatología. Servicio de Pediatría, Hospital Infantil Miguel Servet, Zaragoza, España

^bLicenciada en Medicina. Especialista en Pediatría y áreas específicas. Médico adjunto de la Unidad de Neonatología. Servicio de Pediatría, Hospital Infantil Miguel Servet, Zaragoza, España

^cEspecialista en Bioquímica y análisis clínicos. Facultativo especialista adjunto del Servicio de Bioquímica Clínica, Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza, España

^dLicenciado (a) en Medicina. Especialista en Pediatría y áreas específicas. Doctor en Medicina por la Universidad de Zaragoza. Médico adjunto de la Unidad de Neonatología. Servicio de Pediatría, Hospital Infantil Miguel Servet, Zaragoza, España

Recibido el 17 de septiembre de 2016; aceptado el 23 de enero de 2017

Resumen

Introducción: La enfermedad metabólica ósea (EMO) del recién nacido prematuro (RNPT) es una complicación de origen multifactorial, que ha ido en aumento, consecuencia de la disminución progresiva de la mortalidad. El objetivo del estudio fue analizar los factores de riesgo (FR) pre y postnatales relacionados con la EMO severa y sus marcadores analíticos. **Pacientes y Métodos:** Estudio retrospectivo observacional, descriptivo y analítico, que incluyó RNPT nacidos con menos de 32 semanas y/o peso menor de 1.500 g entre enero de 2012 y diciembre de 2014. Se analizó la muestra en función del desarrollo de EMO severa. **Resultados:** 139 pacientes, con 25(OH)D3 media de $70,68 \pm 25,20$ nmol/l, mayor en los nacidos en primavera-verano que en otoño-invierno ($80,94 \pm 25,33$ vs $61,13 \pm 21,07$; $p = 0,000$). Los pacientes con EMO severa presentaron valores de 25(OH)D3 similares al resto de pacientes ($65,61 \pm 26,49$ vs $72,07 \pm 24,89$; $p = 0,283$), y superiores de fosfatasa alcalina (FA) ($1314,19 \pm 506,67$ vs $476,56 \pm 188,85$; $p = 0,000$). Mediante curva ROC se calculó un punto de corte de FA de 796,5 IU/l (S 95,2%, E 92,4%). Los FR más asociados al desarrollo de EMO severa fueron el crecimiento intrauterino restringido, el peso al nacimiento y la duración de ventiloterapia y nutrición parenteral. **Conclusiones:** Las cifras de FA son las que mejor se relacionan con el desarrollo de EMO severa. El riesgo de ésta aumenta a mayor número de factores de riesgo y menores cifras de vitamina D3. Niveles de 25(OH)D3 por encima de 70 nmol/l parecen proteger del desarrollo de EMO, incluso en pacientes con múltiples factores de riesgo.

Palabras clave:

Prematuridad, enfermedad metabólica ósea, fosfatasa alcalina, sensibilidad, especificidad

Abstract

Background: Metabolic bone disease (MBD) of prematurity is a complication of multifactorial aetiology, which has been increasing, due to progressive decrease in mortality of preterm newborns. The aim of the study was to analyze risk factors of severe MBD and its analytical markers. **Patients and Method:** Retrospective study involving preterm infants less than 32 weeks gestational age and/or weight less than 1,500 g born between January 2012 and December 2014. Comparison was made according to the presence of severe MBD. **Results:** 139 patients were recruited. Mean value of 25(OH)D3 was 70.68 ± 25.20 nmol/L, being higher in patients born in spring-summer than in autumn-winter (80.94 ± 25.33 vs 61.13 ± 21.07 ; $p = 0.000$). Levels of 25(OH)D3 were similar in patients with severe MBD compared with the rest of patients (65.61 ± 26.49 vs 72.07 ± 24.89 , $P = 0.283$). Higher levels of alkaline phosphatase (AP, IU/L) (1314.19 ± 506.67 vs 476.56 ± 188.85 ; $p = 0.000$) were found in these patients. Cutoff point of AP 796.5 IU/L (S 95.2%, specificity 92.4%) was calculated by ROC curve. The risk factors most associated to severe EMO were restricted fetal growth, birth weight, duration of ventilation therapy and parenteral nutrition. **Conclusions:** AP levels were the best marker of severe MBD development. EMO risk increases with the number of risk factors and lower levels of 25(OH)D3. Levels of 25(OH)D3 higher than 70nmol/L appear to protect from the development of severe MBD, even in patients with multiple risk factors.

Keywords:

Prematurity,
Metabolic bone disease,
alkaline phosphatase,
sensitivity,
specificity

Introducción

La enfermedad metabólica ósea (EMO) es la nueva designación para la osteopenia del prematuro, complicación propia de la prematuridad, que se caracteriza por una reducción del tejido osteoide y del componente mineral óseo (CMO) y por alteraciones bioquímicas del metabolismo fosfo-cálcico, que puede ser propiciada por varios factores nutricionales y biomecánicos como el déficit de nutrientes, la inmovilización y la nutrición parenteral prolongadas y el empleo de medicaciones antagónicas con el metabolismo óseo¹⁻³. Aunque previamente la incidencia de esta patología era similar o incluso mayor a la actual, la disminución progresiva de la mortalidad en los últimos años y la mayor experiencia clínica, han hecho que hoy en día la búsqueda sistemática de la osteopenia o EMO del prematuro sea una práctica clínica habitual en los centros con experiencia en neonatología. Este hecho está permitiendo que cada vez con mayor frecuencia se esté diagnosticando y tratando precozmente la patología, incluso en formas leves que previamente no se detectaban⁴.

El período de mayor desarrollo del esqueleto es durante la vida fetal, fundamentalmente al final del tercer trimestre^{5,6}. El neonato que nace prematuramente se ve privado de estas aportaciones necesarias para la mineralización adecuada. Además, la afectación de la placenta de forma crónica, altera el transporte de fosfato, que puede condicionar la osteopenia en los niños con restricción del crecimiento^{7,8}.

La incidencia actual de la EMO se desconoce. En los últimos estudios, se cifra en algo más de la mitad de los recién nacidos (RN) con menos de 28 semanas de edad gestacional (SEG) o peso de recién nacido (PRN)

menor a 1.000 g; y en uno de cada 4-5 de los menores de 1.500 g^{9,10}. Está estrechamente asociada con la EG, el PRN, el tipo de alimentación con retraso de los aportes enterales y con la gravedad del proceso total. Así, el riesgo de afectación ósea es mayor en los prematuros en situación clínica grave; siendo común la historia de prematuridad extrema con muy bajo peso^{2,3}.

La patología se desarrolla generalmente a partir de las 4 semanas de vida, con amplia variabilidad clínica, desde formas leves asintomáticas, hasta el clásico raquitismo, favorecedor de múltiples fracturas y alteraciones del metabolismo fosfo-cálcico, si la desmineralización es grave¹¹.

El diagnóstico es fundamentalmente analítico, por lo que es necesario realizar determinaciones seriadas en los recién nacidos prematuros (RNPT) con factores de riesgo de la enfermedad. Ninguno de los parámetros puede considerarse de forma aislada como marcador de EMO, aunque el más empleado es la fosfatasa alcalina sérica. La cifras que determinan el diagnóstico no están claramente definidas en la literatura, pero en algunas series se acepta que por encima de 500 IU/l, y en otras por encima de 700 IU/l, tiene alta sensibilidad y especificidad^{1,12,13}.

El diagnóstico definitivo de EMO lo dará la densitometría, sin embargo, su disponibilidad en las unidades neonatales es escasa. A pesar de los avances en el conocimiento de la enfermedad, aun no están claras las cifras de corte de los marcadores analíticos que nos determinan una alta sospecha de EMO, y a pesar de que los factores de riesgo están bien definidos, no está claro si pueden existir otros factores protectores que puedan evitar el desarrollo de EMO a pesar de combinarse con múltiples factores de riesgo¹⁴⁻¹⁶.

Aunque la EMO es una enfermedad autolimitada en el tiempo, la recuperación puede durar hasta 2 años¹⁷. Algunos estudios evidencian incluso retrasos de crecimiento postnatal a los 8-12 años de edad^{18,19}. Por tanto, si fracasa la prevención, se estará favoreciendo la presencia de fracturas, dolicocefalia y retrasos en la velocidad de crecimiento, además de otros efectos a largo plazo, como la osteopenia en edad adulta^{16,19}.

Por ello, en el presente estudio se pretenden analizar los factores de riesgo asociados al desarrollo de EMO severa y los marcadores analíticos de la enfermedad, con el objetivo de buscar puntos de corte en los diferentes parámetros bioquímicos que permitan identificar el desarrollo de enfermedad ósea.

Pacientes y Métodos

Se realizó un estudio retrospectivo observacional, descriptivo y analítico, que incluyó a todos los RNPT de menos de 1.500 g de PRN y/o menos de 32 SEG,

nacidos entre enero de 2012 y diciembre de 2014 e ingresados en la Unidad de Neonatología del Hospital Infantil Miguel Servet, Zaragoza, España (centro con 4.000-4.500 partos y 80-100 RNPT menores de 1.500 g o 32 SEG al año).

Fueron excluidos los pacientes que fallecieron o fueron trasladados de centro antes del alta y aquellos a los que no se realizó extracción analítica por situación clínica de gravedad en ese momento o fallo en la aplicación del protocolo. El proceso de inclusión de pacientes se detalla en la figura 1.

El protocolo diagnóstico-terapéutico de nuestro centro incluye la realización de analítica sanguínea con calcio, fósforo, 25(OH)vitamina D3 y fosfatasa alcalina (FA) a las 3-4 semanas de vida, o antes si existe sospecha clínica de osteopenia o fracturas (por presencia de deformidades óseas, dolor a la palpación ósea, hallazgo casual en radiografía por otro motivo o alteraciones analíticas como hipofosfatemia, hiperfosfatemia, hipocalcemia o hipercalcemia detectadas en control realizado por otra causa). Las muestras se procesan

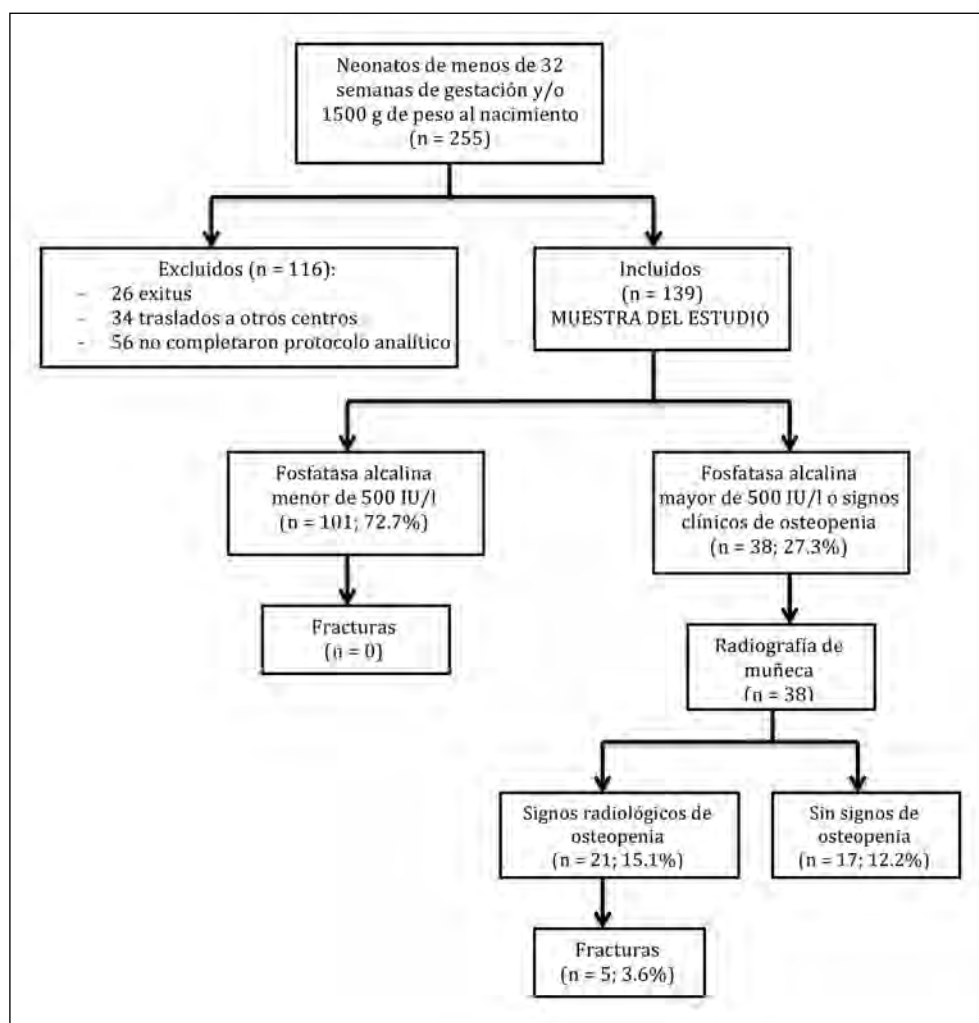


Figura 1. Diagrama de flujo de la inclusión de pacientes.

inmediatamente tras su extracción en el laboratorio de bioquímica del propio hospital. Posteriormente se realizan controles seriados cada 2-3 semanas hasta el alta hospitalaria. Si en cualquier determinación la FA es mayor de 800 IU/l, hay alteraciones iónicas o imágenes sugestivas de EMO o fracturas en la radiografía, se añade la paratohormona (PTH) para valorar la estimulación del remodelado óseo. La radiografía de muñeca se realiza con FA por encima de 500 IU/l y ante sospecha clínica de EMO o fracturas, para valorar si existen signos radiológicos de osteopenia (en nuestra muestra definimos a los pacientes con EMO severa por la presencia radiológica de cambios metafisarios con rarefacción, deshilachamiento y formación de copa de la placa de crecimiento o despegamiento perióstico de la diáfisis). Aquellos con signos radiológicos de EMO o con FA elevadas por encima de 800 UI/L reciben tratamiento con suspensiones orales de carbonato cálcico (30-50 mg/kg/día) y fósforo (inicio en 10-20 mg/kg/día y aumento hasta máximo 100 mg/kg/día)

En nuestro centro se inicia nutrición parenteral (NP) el primer día de vida en todos los pacientes de

menos de 32 SEG y/o PRN menor a 1.500 g, con aportes iniciales de calcio de 50-60 mg/kg y de fósforo de 40-50 mg/kg que se ajustan en función de controles analíticos. Se intenta iniciar lo más precozmente posible la nutrición enteral (NE) con leche materna o donada de banco y se suspende la NP a partir de los 120 ml/kg de NE. A partir de la ingesta de 100 ml/kg de leche se inicia la fortificación de ésta. El aporte habitual de vitamina D que se pauta a los neonatos es de 400 IU al día.

Para la obtención de los datos se realizó una revisión de las historias clínicas de los pacientes. Se recogieron variables antenatales y del período neonatal inmediato (embarazo único o múltiple, sexo, motivo del parto, administración de corticoides prenatales, edad gestacional, antropometría al nacimiento, test de Apgar, reanimación en la sala de partos), variables de evolución neonatal (soporte respiratorio y hemodinámico y su duración, empleo de diuréticos y otras medicaciones, momento del inicio de NE y retirada de NP), marcadores analíticos del metabolismo fosfo-cálcico (iones, 25(OH)vitamina D, FA y PTH) y presencia radiológica de EMO severa o fracturas.

Tabla 1. Características demográficas de la muestra global

Características	Muestra global
Sexo masculino	67 (48,2%)
Peso al nacimiento (g)	1.250 (480-1.495)
Edad gestacional (semanas)	29,28 (24-36,86)
Recién nacidos fruto de gestación múltiple	49 (35,3%)
Gestación menor de 28 semanas o con peso al nacimiento menor de 1.000 g	74 (53,2%)
Restricción del crecimiento intrauterino	30 (21,6%)
<i>Recién nacidos</i>	
Pequeños para la edad gestacional	15 (10,8%)
Adecuados para la edad gestacional	122 (87,8%)
Grandes para la edad gestacional	2 (1,4%)
Corticoides antenatales (2 o más dosis)	96 (69,1%)
<i>Enfermedad materna durante el embarazo</i>	
Preclampsia o eclampsia	30 (21,6%)
Corioamnionitis	22 (15,8%)
Enfermedad tiroidea	8 (5,7%)
Diabetes pregestacional o gestacional	6 (4,3%)
25(OH)vitamina D en nmol/l	69,21 (25,5-145)
Fosfatasa alcalina en IU/l	480 (189-2.911)
Paratohormona en pg/ml	80,05 (37,2-123,4)
Estancia en Unidad de Cuidados Intensivos neonatales en días	38 (0-160)
Signos radiológicos de osteopenia	21 (15,1%)
Fracturas	5 (3,6%)

Variables cualitativas expresadas en: n, (porcentaje); variables cuantitativas expresadas en: mediana (rango).

Análisis estadístico

Todos los datos se registraron y fueron analizados con el paquete estadístico SPSS statistics 21.0.

Se realizó un estudio descriptivo inicial para conocer frecuencias, medidas de tendencia central y medidas de dispersión.

El estudio analítico se realizó mediante test de Kolmogorov-Smirnov y Saphiro-Wilk para análisis de normalidad de las variables cuantitativas, y para la comparación se empleó U Mann-Whitney, Kruskal-Wallis y Wilcoxon para las variables cuantitativas por tratarse de muestras no paramétricas, mientras que las variables cualitativas se compararon mediante test de χ^2 o test exacto de Fisher.

Se llevó a cabo un análisis multivariante de regresión logística con la variables significativas en el análisis univariante.

La realización del estudio fue aprobada por el Comité ético de investigación científica de Aragón (CEI-CA).

Resultados

Se obtuvo una muestra de 139 pacientes, cuyo proceso de inclusión se muestra en la figura 1.

En la tabla 1 se describen los datos demográficos de la muestra global.

El 15,1% de los pacientes (n = 21) presentó signos radiológicos de osteopenia, de los cuales 13 (61,9%) fueron varones y 8 (38,1%) mujeres, sin encontrar

Tabla 2. Factores de riesgo asociados a la presencia de osteopenia y fracturas

	Osteopenia (n = 21)	No osteopenia (n = 118)	p	Fracturas (n = 5)	No fracturas (n = 134)	p
Peso de recién nacido en gramos, mediana (rango)	780 (480-1.430)	1.275 (530-1.495)	< 0,001	650 (550-820)	1.100 (480-1495)	0,001
Crecimiento intrauterino restringido, n (%)	13 (61,9%)	17 (14,4%)	< 0,001	4 (80%)	26 (19,4%)	0,008
Corticoides prenatales 2 o más dosis, n (%)	20 (95,2%)	76 (66,1%)	0,007	5 (100%)	91 (69,5%)	0,321
Necesidad de ventilación mecánica invasiva, n (%)	13 (61,9%)	54 (45,8%)	0,173	5 (100%)	62 (46,3%)	0,024
Duración de la ventilación mecánica en días, mediana (rango)	17 (1-92)	5 (0-67)	0,072	17 (1-92)	5,5 (0-67)	0,183
Duración del soporte respiratorio* en días, mediana (rango)	39 (1-160)	12,5 (0-120)	0,001	59 (50-160)	13 (0-120)	< 0,001
Duración de la nutrición parenteral en días, mediana (rango)	30 (11-122)	14,5 (2-89)	< 0,001	47 (32-122)	16,5 (2-89)	0,002
Tiempo hasta alcanzar nutrición enteral completa en días, mediana (rango)	19 (2-106)	3 (1-79)	< 0,001	30 (19-106)	4 (1-79)	0,002
Necesidad de diuréticos, n (%)	10 (47,6%)	10 (8,5%)	< 0,001	4 (80%)	16 (11,9%)	0,001
Necesidad de soporte vasoactivo, n (%)	9 (42,9%)	20 (16,9%)	0,016	3 (60%)	26 (19,4%)	0,061

*Duración del soporte respiratorio: total de días de ventilación mecánica + presión positiva continua en la vía aérea (CPAP) + oxigenoterapia.

diferencias estadísticas entre ambos sexos. Cinco neonatos (3,6%), todos ellos varones y nacidos con PRN menor de 1.000 g o antes de las 28 SEG, presentó una o varias fracturas durante su estancia en la Unidad Neonatal, encontrando asociación estadística entre el sexo masculino y el desarrollo de fracturas (9,2% vs 0%; $p = 0,024$).

Los variables estudiadas y su asociación con el desarrollo de osteopenia o fracturas se muestran en la tabla 2.

Teniendo en cuenta el conjunto de las variables asociadas a EMO severa, encontramos asociación estadística entre el sumatorio del número de factores relacionados (FR) y el desarrollo de EMO severa (sin EMO severa $4,71 \pm 1,54$ FA; EMO severa $6,81 \pm 1,63$ FR; $p = 0,000$). Sin embargo, observamos que salvo un paciente, el resto de neonatos que sumaron 6 o más FR pero que presentaban cifras de 25(OH)vitamina D3 por encima de 70 nmol/l no desarrollaron EMO severa.

Se llevó a cabo un análisis multivariante de regre-

sión logística con las variables estadísticamente significativas en el análisis univariante, encontrando que el único factor que se asociaba de forma independiente al desarrollo de EMO severa era el retraso del crecimiento intrauterino (OR 9,65; IC 95% 3,48-26,76; $p < 0,001$), independientemente del resto de variables incluyendo el peso al nacimiento, la duración de la ventilación mecánica (VM) o la NP.

El valor medio de 25(OH)vitamina D3 de la muestra global se situó en $70,86 \pm 25,20$ nmol/L. La pacientes nacidos en primavera-verano ($n = 71$) tuvieron valores significativamente superiores a aquellos nacidos en otoño-invierno ($n = 68$) ($80,94 \pm 25,33$ nmol/l vs $61,13 \pm 21,07$ nmol/l; $p = 0,000$). No se encontraron diferencias en los valores de PTH y FA entre las diferentes estaciones.

Los valores de 25(OH)vitamina D, FA y PTH en función de la presencia o ausencia de osteopenia o fracturas, se reflejan en la tabla 3. No se encontró alteración en los valores de calcio (valores de normalidad

Tabla 3. Valores de marcadores bioquímicos según desarrollo o no de osteopenia o fracturas

	Osteopenia (n = 21)	No osteopenia (n = 118)	p	Fracturas (n = 5)	No fracturas (n = 134)	p
25(OH)D3 en nmol/l, mediana (rango)	61,8 (25,5-79,9)	72 (29,5-145)	0,283	47,5 (37,2-79,9)	71,7 (25,5-145)	0,034
Fosfatasa alcalina en IU/l, mediana (rango)	1.300 (763-2.911)	437 (189-1.173)	< 0,001	1.485 (1.383-2.315)	465,5 (189-2.911)	< 0,001
Paratohormona en pg/ml, mediana (rango)	113,7 (17,7-820)	64,5 (4,1-101,6) *n = 14	0,134	517,5 (176,5-820)	41,1 (4,1-115,2) *n = 30	0,001

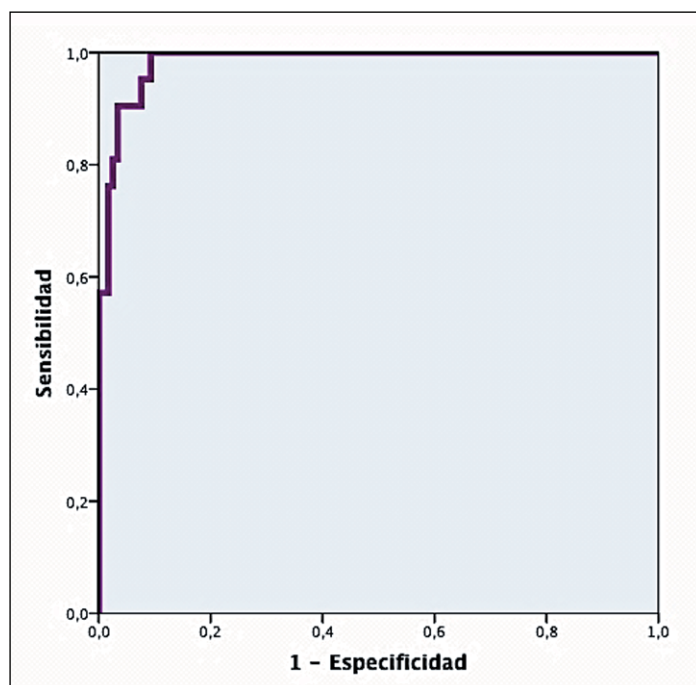


Figura 2. Curva ROC para la sensibilidad y especificidad diagnóstica de la fosfatasa alcalina en la osteopenia del prematuro.

(VN) considerados en nuestro centro 8,5-10,5 mg/dL) y fósforo (VN 4,5-7,5 mg/dL) en ningún paciente en el período de tiempo estudiado.

Mediante curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*) se calculó el punto de corte óptimos de FA para el diagnóstico de EMO con alteración radiológica, que en nuestra muestra fue de 796,5 IU/l con una sensibilidad del 95,2% y una especificidad del 92,4% (figura 2). No se pudo calcular para el diagnóstico de fracturas por el número reducido de pacientes en este grupo.

Discusión

Los continuos avances en los cuidados intensivos del RNPT, han conducido a una disminución progresiva de la mortalidad, que como consecuencia está produciendo que se observe con más frecuencia la morbilidad propia de estos pacientes, como la displasia broncopulmonar, el retraso de crecimiento, la retinopatía, etc. Una de estas complicaciones es la osteopenia del prematuro^{10,20,21}.

Coincidiendo con otros estudios, hemos encontrado que la nutrición parenteral prolongada, el retraso en la alimentación oral o el uso de determinados fármacos, suman factores condicionantes a la propia prematuridad, al bajo peso y/o a la restricción del crecimiento intrauterino para el desarrollo de la enfermedad ósea en estos pacientes^{6,22}. Para evitarla, lo fundamental es

su prevención mediante la alimentación enteral precoz, la movilización pasiva mediante fisioterapia y el uso restrictivo de medicaciones antagonicas con la mineralización ósea^{3,9,16,22}.

En nuestros pacientes, hemos visto que aquellos con evolución neonatal más tórpida, son los que presentan una osteopenia más grave y mayor riesgo de desarrollar fracturas, lo que demuestra la importancia de evitar en la medida de lo posible estas asociaciones, mediante un manejo respiratorio no invasivo o un inicio precoz de la nutrición enteral trófica. Según nuestros resultados, hemos observado que la barrera de seguridad de estos paciente se situaría en torno al mes de vida, de forma que los pacientes en los que se logra conseguir una nutrición enteral exclusiva, junto con la retirada de la nutrición parenteral y del soporte respiratorio antes de los 30 días de vida son claramente menos propensos al desarrollo de EMO severa.

Las cifras analíticas a partir de las cuales existe osteopenia no están bien definidas por el momento en la literatura, aunque el biomarcador más aceptado para su diagnóstico es la fosfatasa alcalina^{1,13}. Apoyando el uso de esta determinación, en nuestro trabajo no hemos visto relación entre las cifras de 25 (OH) vitamina D y PTH y el desarrollo de osteopenia, y sí con las de fosfatasa alcalina.

A diferencia de otros trabajos donde se habla de valores más bajos, en torno a 500 UI/L^{1,12,13,23}, hemos visto que en nuestros pacientes una cifra de FA por encima de 800 UI/L sería aceptable y de adecuada utilidad clínica para identificar a los recién nacidos afectados de EMO severa, presentando una buena sensibilidad y especificidad.

A la vista de los resultados encontrados, el hecho de que no encontremos asociación estadística entre la osteopenia y el déficit de vitamina D3, consideramos que no implica que no sea un factor de riesgo, sino que sólo produce patología en un contexto desfavorable en que se asocia a otros factores como el CIR, la ventilación e inmovilización prolongadas, etc; como ya refieren Robinson y Barrera en publicaciones previas^{7,8}. Al nacer con déficit de vitamina D3 pueden existir 2 situaciones. Por un lado, puede ocurrir que el recién nacido no presente problemas importantes y en este caso el déficit se compensa con la introducción precoz de la alimentación con fortificantes de la leche materna. Por otro lado, está la situación contraria, en la que el recién nacido presenta patología importante, y en cuyo caso el gasto es mayor con un menor aporte, poniéndose en marcha una serie de mecanismos ahorradores de calcio, entre los cuales el más importante es el hiperparatiroidismo secundario con pérdida ósea de calcio y renal de fósforo. Si esta situación se prolonga, se favorece la enfermedad ósea en el prematuro^{21,24}. Apoyando esta hipótesis, hemos observado que a igualdad de

cifras de vitamina D, los pacientes con múltiples factores asociados, son los que desarrollan la enfermedad más grave.

Por el contrario, existe otro tipo de pacientes que a pesar de acumular numerosos factores agravantes, cuentan con cifras de vitamina D3 elevadas, que parece ser la hormona capaz de bloquear la liberación de la PTH y consecuentemente la enfermedad ósea. Este hecho ya ha sido descrito previamente en diversos estudios^{2,6,25}.

En línea con estos hallazgos, llama la atención la diferencia en las cifras de vitamina D entre los pacientes nacidos en primavera-verano y otoño-invierno. Habría que comprobar que estos resultados se mantienen en otras series y con tamaños muestrales mayores, lo que implicaría que el nacimiento en los meses más fríos del año es un factor adicional de presentar una forma más severa de EMO.

En los pacientes con fracturas, también encontramos valores más bajos de 25(OH)vitamina D, pero sin diferencias estadísticas, lo que probablemente se deba a la limitada muestra de niños con fracturas en nuestro estudio.

A diferencia de lo esperable, en nuestra muestra no hemos encontrado pacientes con hipofosforemias severas ni alteraciones importantes en el calcio a pesar de presentar alteraciones radiológicas. Podría deberse a la optimización de los aportes exógenos a través de la nutrición parenteral que en los últimos años se realiza de forma precoz, pero sería preciso estudiar con más detalle en estudios futuros esta posibilidad.

En nuestro estudio la única variable que hemos encontrado que se asocia de forma independiente del resto de variables al desarrollo de EMO severa es el CIR, que confiere un riesgo relativo casi 10 veces superior de presentar EMO severa respecto a los prematuros sin CIR. Habría que repetir este análisis con mayor tamaño muestra para ver si los resultados son consistentes. Existe la hipótesis de que el déficit de vitamina D3 condiciona una mala implantación de la placenta y la alteración en el trofoblasto induce la preeclampsia de las madres y el CIR^{7,8,26}. Probablemente la asociación entre el CIR y el déficit materno de vitamina D3, condicionan una disminución en la calcificación ósea intrauterina, que unido a las complicaciones postnatales que no permiten compensar ese déficit al disminuir los aportes extra-útero, hace que estos pacientes sean los más propensos a presentar EMO^{1,2,7,8,26}.

Los resultados obtenidos en el estudio permiten confirmar comunicaciones previas sobre los factores de riesgo que más se asocian al desarrollo de la osteopenia del prematuro. Las principales limitaciones que hemos encontrado en el estudio son el carácter retrospectivo, que hace que algunos pacientes no cuenten con todas las variables en estudio, el pequeño tamaño de la mues-

tra sobretodo en el subgrupo de neonatos con fracturas y la imposibilidad de realizar densitometría para confirmar la sospecha diagnóstica por radiografía.

Sería interesante en el futuro ampliar esta investigación con un estudio prospectivo más completo, en el que se pudieran relacionar estos hallazgos con valores de densitometría ósea durante el ingreso y posteriormente durante el seguimiento en la consulta de Neonatología.

Conclusiones

Los niveles de fosfatasa alcalina son los que más fiablemente nos informan sobre el estado metabólico óseo del recién nacido, cuando no disponemos de densitometría, considerada la prueba *gold standard* para la medición del CMO.

El riesgo de enfermedad metabólica ósea aumenta a mayor número de factores de riesgo y menores cifras de vitamina D3. Niveles de 25(OH)D3 por encima de 70 nmol/l parecen proteger del desarrollo de esta patología, incluso en pacientes con múltiples factores de riesgo.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales: Los autores declaran que los procedimientos seguidos se conformaron a las normas éticas del comité de experimentación humana responsable y de acuerdo con la Asociación Médica Mundial y la Declaración de Helsinki.

Confidencialidad de los datos: Los autores declaran que han seguido los protocolos de su centro de trabajo sobre la publicación de datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado: Los autores han obtenido el consentimiento informado de los pacientes y/o sujetos referidos en el artículo. Este documento obra en poder del autor de correspondencia.

Financiación

El estudio no ha recibido ningún tipo de financiación para su realización ni está patrocinado por ninguna empresa comercial.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Referencias

- Harrison CM, Johnson K, McKechnie E. Osteopenia of prematurity: A national survey and review of practice. *Acta Paediatr Int J Paediatr*. 2008;97:407-13.
- Vachharajani AJ, Mathur AM, Rao R. Metabolic bone disease of prematurity. *Neoreviews*. 2009;10:e402-11.
- Llanos MA, Mena NP, Uauy DR. Tendencias actuales en la nutrición del recién nacido prematuro. *Rev Chil Paediatr*. 2004;107-21.
- Mannan M, Jahan I, Rahman M, Hasan Z, Dey A, Shahidullah M. Osteopenia of Prematurity: Are We at Risk? *Mymensingh Med J*. 2015;24:613-7.
- Rigo J, Pieltain C, Salle B, Senterre J. Enteral calcium, phosphate and vitamin D requirements and bone mineralization in preterm infants. *Acta Paediatr Int J Paediatr*. 2007;96:969-74.
- Viswanathan S, Khasawneh W, McNelis K, Dykstra C, Amstadt R, Super DM, et al. Metabolic bone disease: a continued challenge in extremely low birth weight infants. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2014;38:982-90.
- Robinson CJ, Wagner CL, Hollis BW, Baatz JE, Johnson DD. Maternal vitamin D and fetal growth in early-onset severe preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*. 2011;204:556.e1-4.
- Barrera D, Díaz L, Noyola-Martínez N, Halhali A. Vitamin D and Inflammatory Cytokines in Healthy and Preeclamptic Pregnancies. *Nutrients*. 2015;7:6465-90.
- Bozzetti V, Tagliabue P. Metabolic Bone Disease in preterm newborn: an update on nutritional issues. *Ital J Pediatr*. 2009;35:20.
- Lothe A, Sinn J, Stone M. Metabolic bone disease of prematurity and secondary hyperparathyroidism. *J Paediatr Child Health*. 2011;47:550-3.
- Lucas-Herald A, Butler S, Mactier H, McDevitt H, Young D, Ahmed SF. Prevalence and characteristics of rib fractures in ex-preterm infants. *Pediatrics*. 2012;130:1116-9.
- Hung Y-L, Chen P-C, Jeng S-F, Hsieh C-J, Peng SS-F, Yen R-F, et al. Serial measurements of serum alkaline phosphatase for early prediction of osteopaenia in preterm infants. *J Paediatr Child Health*. 2011;47:134-9.
- Figueras-Aloy J, Álvarez-Domínguez E, Pérez-Fernández JM, Moretones-Suñol G, Vidal-Sicart S, Botet-Mussons F. Metabolic bone disease and bone mineral density in very preterm infants. *J Pediatr*. 2014;164:499-504.
- Abrams SA. Calcium and vitamin d requirements of enterally fed preterm infants. *Pediatrics*. 2013;131:e1676-83.
- Alizadeh Taheri P, Sajjadian N, Beyrami B, Shariat M. Prophylactic Effect of Low Dose Vitamin D in Osteopenia of Prematurity: a Clinical Trial Study. *Acta Med Iran*. 2014; 52:671-4.
- So KW, Ng PC. Treatment and prevention of neonatal osteopenia. *Curr Paediatr*. 2005;15:106-13.
- Pieltain C, de Halleux V, Senterre T, Rigo J. Prematurity and bone health. *World Rev Nutr Diet*. 2013;106:181-8.
- Fewtrell MS. Does early nutrition program later bone health in preterm infants? *Am J Clin Nutr*. 2011;94:1870S-1873S.
- Milinarsky A, Fischer S, Giadrosich V, Torres MT, Arriagada M, Arinovic R, et al. Normalización de la densidad mineral ósea en niños nacidos prematuros en Viña del Mar, Chile. *Rev Med Chile*. 2007;135:1546-50.
- Chan GM, Armstrong C, Moyer-Mileur L, Hoff C. Growth and bone mineralization in children born prematurely. *J Perinatol*. 2008;28:619-23.
- Kelly A, Kovatch KJ, Garber SJ. Metabolic bone disease screening practices among U.S. neonatologists. *Clin Pediatr (Phila)*. 2014;53:1077-83.
- Wood CL, Wood AM, Harker C, Embleton ND. Bone mineral density and osteoporosis after preterm birth: the role of early life factors and nutrition. *Int J Endocrinol*. 2013;2013:1-7.
- Tinnion RJ, Embleton ND. How to use... alkaline phosphatase in neonatology. *Arch Dis Child Educ Pract Ed*. 2012;97:157-63.
- Moreira a, Swischuk L, Malloy M, Mudd D, Blanco C, Geary C. Parathyroid hormone as a marker for metabolic bone disease of prematurity. *J Perinatol*. 2014;34:787-91.
- Rehman MU, Narchi H. Metabolic bone disease in the preterm infant: Current state and future directions. *World J Methodol*. 2015;5:115-21.
- Olmos-Ortiz A, Avila E, Durand-Carbajal M, Díaz L. Regulation of calcitriol biosynthesis and activity: Focus on gestational vitamin D deficiency and adverse pregnancy outcomes. *Nutrients*. 2015;7:443-80.