

**Efectos del hábito tabáquico sobre la
masa ósea, remodelado óseo,
hormonas sexuales y otras hormonas
y eje parathormona-vitamina D y
análisis de los efectos de la suspensión
del tabaquismo**

TESIS DOCTORAL

Memoria presentada por August Supervía i Caparrós para optar al título de
Doctor en Medicina

Barcelona, Noviembre de 2002

A l'Anna, a l'Aida i a la meva mare.

Jaume Aubía Marimón, Professor Titular del Departament de Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona, i Adolfo Díez Pérez, Professor Titular del Departament de Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona

CERTIFIQUEN:

Que la memòria presentada per en August Supervía Caparrós, titulada "Efectos del hábito tabáquico sobre la masa ósea, remodelado óseo, hormonas sexuales y otras hormonas y eje parathormona-vitamina D y análisis de los efectos de la suspensión del tabaquismo", ha estat realitzada sota la seva direcció, i reuneix les condicions per ser presentada per optar al grau de Doctor en Medicina.

I per que consti i produexi els efectes corresponents, signem aquest certificat a Barcelona, 30 de Juliol de 2002

Jaume Aubía Marimón

Adolfo Díez Pérez

ÍNDICE

	Pag.
AGRADECIMIENTOS	1
JUSTIFICACIÓN DE LA TESIS	3
INTRODUCCIÓN	6
1. LA OSTEOPOROSIS	7
1.1. Definición.....	7
1.2. Epidemiología.....	7
1.3. Costes socioeconómicos.....	11
1.4. Fisiopatología.....	13
1.5. Regulación del remodelado óseo.....	15
1.6. Marcadores bioquímicos de remodelado óseo.....	17
1.6.1. Marcadores bioquímicos de formación ósea.....	18
1.6.2. Marcadores bioquímicos de resorción ósea.....	19
2. EL TABAQUISMO	22
2.1. Introducción.....	22
2.2. Físicoquímica.....	23
2.3. Patología asociada al tabaco.....	23
3. OSTEOPOROSIS Y TABACO	27
3.1. Introducción.....	27
3.2. Efectos del tabaco sobre la densidad mineral ósea y la osteogénesis....	27
3.3. Efecto antiestrogénico del tabaco.....	29
3.4. Otras alteraciones hormonales. Afectación androgénica.....	31
3.5. Estudios clínicos.....	32
3.5.1. Estudios de riesgo de fractura.....	33
3.5.2. Estudios de densidad mineral ósea.....	37
3.5.3. Estudios hormonales.....	45
3.5.4. Estudios con marcadores de remodelado.....	49

SUJETOS Y MÉTODOS	52
1. Sujetos	53
2. Criterios de inclusión y criterios de exclusión	54
2.1. Criterios de inclusión.....	54
2.2. Criterios de exclusión.....	54
3. Densitometría ósea	55
4. Análisis de laboratorio	56
4.1. Obtención de muestras.....	56
4.2. Técnicas de laboratorio.....	56
4.2.1. Bioquímica.....	56
4.2.2. Hormonas sexuales.....	57
4.2.3. Otras hormonas.....	58
4.2.4. Eje PTH-vitamina D.....	59
4.2.5. Marcadores bioquímicos de remodelado óseo.....	61
5. Dificultades y limitaciones del estudio	64
6. Estudio estadístico	65
7. Aspectos éticos	66
RESULTADOS	67
1. Comparaciones basales	68
2. Densidad mineral ósea	69
3. Metabolismo fosfocálcico	70
4. Hormonas sexuales	71
5. Otras hormonas	73
5.1. Hormonas tiroideas y cortisol.....	73
5.2. Leptina.....	74
6. Eje PTH-vitamina D	78
7. Marcadores bioquímicos de remodelado óseo	82
7.1. Osteocalcina y FATR.....	82
7.2. N-telopéptido.....	83
8. Correlaciones con la masa ósea	88
8.1. Estudio en el total de voluntarios.....	88
8.2. Subgrupo en el que se realizaron las determinaciones de NTx.....	90
9. Correlaciones entre tabaco y los distintos parámetros evaluados	92

DISCUSIÓN	93
1. Densidad mineral ósea	95
2. Metabolismo fosfocálcico	98
3. Hormonas sexuales	100
4. Otras hormonas	105
4.1. Hormonas tiroideas.....	105
4.2. Cortisol.....	106
4.3. Leptina.....	107
5. Eje PTH-vitamina D	110
6. Marcadores bioquímicos de remodelado óseo	117
CONCLUSIONES	121
BIBLIOGRAFÍA	123
ANEXOS	154
ANEXO I. Hoja de recogida de datos	155
ANEXO II. Cuestionario de ingesta de calcio en la dieta	156
ANEXO III. Información a los participantes	157

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido posible gracias a la inestimable colaboración de muchas personas.

Quiero expresar mi agradecimiento a:

Al Dr. Adolfo Díez Pérez, Jefe de Servicio de Medicina Interna y Enfermedades Infecciosas del Hospital del Mar y director de la tesis, sin cuya orientación, consejos y paciencia no hubiera sido posible llevar a cabo este proyecto.

A todos los voluntarios que han participado en el estudio, fumadores y no fumadores, médicos, enfermeros, técnicos del hospital y amigos por su desinteresada colaboración, y en especial a los fumadores, por haber abandonado su hábito durante el periodo de estudio.

A los miembros del Servicio de Medicina Interna y Enfermedades Infecciosas y del Servicio de Urgencias del Hospital del Mar por su apoyo dado en todo momento.

Al Dr. Jaume Bosch, del Laboratorio de Referencia de Catalunya, así como al personal médico y técnico encargado de las determinaciones analíticas.

Al personal del Laboratorio de Urgencias del Hospital del Mar por la extracción de muestras, y en especial a la Sra. Pepi Vicente por el procesamiento de las mismas.

A Elisabeth Engel, bióloga del Institut Municipal d'Investigació Mèdica por realizar la determinación de N-telopéptido.

A Isabel Aymar y a María Jesús Peña por la realización de las densitometrías.

A Joan Vila, del Departamento de estadística del Institut Municipal d'Investigació Mèdica, por la realización del análisis estadístico.

Por fin, y muy especialmente, a Anna Enjuanes, mi mujer y bióloga del Institut Municipal d'Investigació Mèdica, por sus consejos en la redacción del manuscrito, apoyo constante y, además, por la realización de la determinación de Leptina, y a mi madre por su interés y apoyo en la consecución de un proyecto importante en mi carrera.

JUSTIFICACIÓN DE LA TESIS

Esta tesis doctoral trata de la patología que el hábito de fumar produce sobre distintos aspectos del metabolismo óseo. El porque he tenido interés en este tema tiene dos razones principales.

El tabaquismo es la primera causa de enfermedades pulmonares, patologías por las que siempre me he sentido atraído. La influencia ejercida por mi padre, neumólogo y fisiólogo, fue fundamental. Mi padre ejercía su profesión en el despacho del domicilio familiar, con lo que desde mi infancia siempre he oído hablar de este tipo de enfermedades, y de la mala influencia que el tabaco ejercía sobre ellas.

Al terminar la licenciatura de Medicina intenté trabajar en algún Servicio de Neumología. Finalmente, gracias a la recomendación de una buena amiga, por aquel entonces residente de Neumología en el Hospital de Sant Pau, la Dra. Cristina Santatala, entré como asistente en la sala Sant Andreu de dicho centro. Allí tuve la oportunidad de formar parte del equipo del Dr. Julio Rubio, excelente profesional y mejor persona, que me inició en la clínica y manejo de los pacientes respiratorios. Allí pase un año mientras preparaba la convocatoria MIR.

Tras el examen MIR escogí plaza de Medicina Interna en el Hospital de la Esperança. Y fue, justo a la llegada a este hospital, cuando a través del Dr. Adolfo Díez inicié mi andanza por la osteoporosis. El Servicio de Medicina Interna del Hospital de la Esperança disponía de una Unidad de Metabolismo Óseo, dotada de un densitómetro, y una de sus principales líneas de investigación era la osteoporosis. Poco a poco me fui introduciendo en este tema, y, de la mano del Dr. Díez y del Dr. Xavier Nogués empecé a realizar los primeros estudios que motivaron mi interés por la osteoporosis. Con ellos acudí a varios congresos de la Sociedad Española, e incluso tuve la oportunidad de asistir a un congreso mundial de osteoporosis celebrado en Amsterdam en 1996. Durante los años de residente y hasta la actualidad he dedicado una buena parte de mi actividad

profesional al estudio de la osteoporosis, habiendo realizado un cierto número de publicaciones sobre el tema.

Hacia el final de la residencia, el Dr. Díez me planteó la posibilidad de realizar una tesis doctoral en el ámbito de la osteoporosis. Juntos barajamos varias posibilidades, y finalmente decidí estudiar los efectos del tabaquismo, reminiscencia de mi vocación neumológica, sobre el metabolismo óseo.

En resumen, el tema de esta tesis doctoral me permite, por un lado, estudiar uno de los efectos nocivos del tabaco, aunque no respiratorios, y por otro, profundizar en una de las patologías más apasionantes y prevalentes en la sociedad actual.

INTRODUCCIÓN

1. LA OSTEOPOROSIS

1.1. Definición

La osteoporosis es la enfermedad metabólica ósea más frecuente. El hueso es un tejido dinámico que se encuentra en constante formación y resorción, fenómeno denominado remodelado óseo. En condiciones normales existe un equilibrio entre ambos procesos, pero existen situaciones como determinadas enfermedades, efectos de algunos fármacos o la postmenopáusia, en las que la resorción es mayor que la formación. En estas circunstancias se pierde masa ósea, originándose un hueso frágil y poroso, con una mayor susceptibilidad a las fracturas (Cummings et al, 1993).

La Organización Mundial de la Salud ha definido la osteoporosis según criterios densitométricos, denominando osteopenia a aquellos valores de masa ósea que se encuentran entre 1 y 2,5 desviaciones estándar por debajo de la media del valor normal en mujeres premenopáusicas, y osteoporosis a los que se encuentran por debajo de las 2,5 desviaciones estándar (WHO, 1994). No obstante, encontrar una definición que abarque la naturaleza multifactorial de la osteoporosis ha sido una ardua tarea. A lo largo de los años se han elaborado múltiples definiciones en las que se hace mención a la cantidad de hueso presente, a los factores que influyen en la fragilidad ósea y a la facilidad con que se pueden producir las fracturas. En la actualidad, los expertos definen la osteoporosis como una enfermedad esquelética sistémica caracterizada por una baja masa ósea y deterioro microarquitectónico del tejido óseo, con el consecuente incremento de la fragilidad ósea y del riesgo de fractura (Anónimo, 1997).

1.2. Epidemiología

La osteoporosis representa un importante problema de salud debido a su alta prevalencia (Riggs y Melton, 1986) y al alto coste del tratamiento de las fracturas, que incluye hospitalización, ausencias laborales, cuidados crónicos en domicilio, medicación, etc. (Barret-Connor, 1995; Kanis y Pitt, 1992; Melton, 1993; Lindsay, 1995). Las fracturas aumentan con la edad, tanto en hombres como en mujeres (Barret-Connor, 1995), y aunque no se sabe con exactitud que porcentaje es atribuible exclusivamente a la osteoporosis, se asume que en mujeres de más de 45 años la gran mayoría se deben a su existencia (Kanis y Pitt, 1992; Melton, 1993). Se ha estimado que la probabilidad de que una mujer de más de 50 años sufra alguna fractura osteoporótica

durante el resto de su vida es de un 40%, y dicha probabilidad es de una tercera parte en el varón (Kanis, 1994b).

El estudio de la epidemiología es fundamental como primer paso para el conocimiento de una enfermedad. La prevalencia nos da la cifra de personas que en un momento dado padecen un proceso, expresándose en casos por 100.000 habitantes. La incidencia nos dice los casos de una enfermedad que se producen “ex novo” en un período determinado de tiempo, soliendo expresarse en casos por 100.000 habitantes y año. Como veremos, ambos pueden ser válidos para estudiar la osteoporosis. Para determinar cuántos casos hay de una enfermedad debemos identificarlos, y para ello, deben ser diagnosticados, lo cual puede ser un problema añadido en el caso de la osteoporosis, ya que ésta es una enfermedad de instauración y desarrollo asintomáticos (se le ha llamado la epidemia silente del Siglo XXI). La mayoría de casos pasan desapercibidos y no pueden, por lo tanto, ser identificados. Por otro lado, la definición actual propuesta por un comité de expertos de la OMS para el diagnóstico de osteoporosis (WHO, 1994) se basa en la realización de una densitometría ósea. Esta definición tiene sus limitaciones, y aunque ya se han realizado amplios estudios densitométricos en población normal, no siempre se puede realizar a una muestra importante de población una medición de este tipo. Por tanto, la mayoría de los estudios de la enfermedad se han basado clásicamente en su fenómeno de mayor relevancia clínica, las fracturas.

Para conocer la prevalencia de osteoporosis, primero hay que conocer cuales son los valores normales de densidad mineral ósea (DMO). En nuestro país disponemos de los datos aportados por el Grupo de Trabajo en Osteoporosis (GTO, 1992), en el que se determinaron los valores basales de DMO distribuidos por edad y sexo en la población española adulta sana de entre 20 y 80 años. Aplicando los criterios densitométricos de osteoporosis-osteopenia establecidos por la OMS (WHO, 1994), se encontró una prevalencia global de osteoporosis del 12,73% en mujeres y del 4,15% en varones (Díaz Curiel, 1996). Al no existir unos criterios estandarizados para establecer el grado de osteopenia-osteoporosis en el varón, se usaron los mismos que para las mujeres, tomando como referencia los valores normales de la población masculina adulta sana. Este estudio se completó con una segunda fase en la que se realizó un seguimiento de la población para establecer el grado de descenso de la DMO que acontece con la edad (Díez Pérez, 1996), y en el que se demostró el declive de la DMO paralelo a la edad tanto en columna vertebral como en fémur. Los datos obtenidos en estos trabajos son

comparables a los obtenidos en otras áreas geográficas (Norimatsu et al., 1989; Parrini et al., 1990; Mazess et al., 1990; Recker et al., 1992; Falch y Sandvik, 1990; Krolner y Nielsen, 1982; Greenspan et al., 1994; Black, 1995), si bien existen pequeñas diferencias que podrían explicarse por la existencia de procesos degenerativos calcificantes o condensantes que interfieran en la medición densitométrica.

Si tenemos en cuenta que la osteoporosis es una enfermedad crónica, ligada al envejecimiento, y que el número de personas de edad avanzada aumenta rápidamente, es fácil deducir que la enfermedad aumentará de forma paralela al envejecimiento de la población.

Las fracturas son la complicación clínica de la osteoporosis. Los mecanismos por los que un determinado individuo pueda sufrir fracturas osteoporóticas en la edad adulta son complejos e intervienen múltiples factores. Se deben tener en cuenta distintos factores de riesgo (Ribot et al., 1995), la velocidad de pérdida de hueso (Hui et al., 1990), las frecuentes caídas que sufren los ancianos, los mecanismos reflejos de defensa ante la caída, la cantidad de tejido blando que recubre el hueso que se golpea, la masa ósea pico que se alcance en la juventud (Johnston y Slemenda, 1993; Eisman et al., 1993) y los factores genéticos o hereditarios que influyen en la masa ósea.

1- Factores de riesgo. Existen diversos factores de riesgo que pueden influir en el desarrollo de osteoporosis y en la presencia de fracturas, entre los que se incluyen diferentes aspectos del estilo de vida como el sedentarismo, el consumo de alcohol o el tabaquismo.

2- La pérdida ósea. Es el primer elemento de riesgo de fractura que nosotros conocemos y podemos medir con precisión. Hoy se sabe que descensos en la densidad ósea de una desviación estándar se acompañan de un riesgo de fractura de aproximadamente el doble, y al tener la posibilidad de medición directa de un hueso determinado, se puede estimar el riesgo de fractura para este hueso en concreto.

3- Las caídas. Son el segundo factor que necesita concurrir para que se produzca una fractura. Si una persona se cae muy frecuentemente, aumentará su riesgo de fractura. De hecho, tan sólo una de cada 100 caídas aproximadamente, en personas de edad avanzada, acaba en una fractura importante como la de fémur. Todos los factores que propenden a las caídas, como trastornos visuales, déficits de equilibrio, psicofármacos, hipotensores enérgicos u obstáculos naturales, por poner algunos ejemplos, incrementan el riesgo de fractura. El mecanismo de caída también es

importante. Las personas más jóvenes tienden a caer hacia adelante y defenderse instintivamente apoyando una mano, lo que facilita la producción de fracturas de muñeca (Colles). Las más ancianas, por el contrario, caen de manera más inerte, sin reacción refleja a la caída, y se golpean la protuberancia pertrocanterea, produciéndose fractura de fémur. Los mecanismos de amortiguación también son trascendentes. La cantidad de tejido blando que recubre un área ósea hace que, en caso de impacto, éste se amortigue y se difunda el efecto mecánico del golpe, no actuando de manera tan agresiva sobre el hueso. Las personas obesas, con abundante panículo recubriendo las caderas, tienen más protección que las muy delgadas. La simple adición de unos almohadillados a ambos lados de las regiones trocantéreas consigue reducir de forma sustancial las fracturas de fémur en población anciana de alto riesgo (Lauritzen et al., 1993).

4- Pico de masa ósea. Su importancia estriba en que cuanto mayor sea, mayor será la masa ósea de reserva en la edad adulta. La masa ósea pico viene determinada por factores genéticos (Slemenda et al., 1989; Chesnut, 1991; Bell et al., 1991; Gilsanz et al., 1991; Sowers et al., 1992), nutricionales (Matkovic et al., 1979; Sandler et al., 1985; Halioua et al., 1989; Matkovic et al., 1990), hormonales (Gilsanz et al., 1991) y ambientales (Eisman et al., 1991; Slemenda et al., 1991).

5- Factores genéticos. Estudios realizados en gemelas (Smith et al., 1973; Pocock et al., 1987) y estudios familiares (Dequeker et al., 1987; Slemenda et al., 1991b; Seeman et al., 1989; Evans et al., 1988; Tylavsky et al., 1989; Hansen et al., 1992; Fox et al., 1994) confirman la importancia de los factores genéticos en la masa ósea de un individuo determinado. No obstante, su influencia en el riesgo de fractura aún no ha sido establecida con certeza. Los estudios actuales sobre polimorfismos de distintos genes, como el receptor de la vitamina D, colágeno tipo I, factor de crecimiento similar a la insulina, antagonista del receptor de la interleucina 1 o receptor de estrógenos entre otros, no han mostrado una asociación determinante sobre la masa ósea ni en los índices de pérdida ósea (McCloskey, 1999).

6- Otros factores que se han mostrado epidemiológicamente revelantes son la longitud del eje del cuello femoral y la estatura elevada. La estatura corta se asocia con una longitud del eje de la cadera más corta, lo que puede explicar las diferencias en el riesgo de fractura observada en diferentes razas (Cummings et al., 1994).

En nuestro país tenemos datos sobre prevalencia de fractura vertebral (Cannata et al., 1993), y sobre incidencia de fractura de fémur, que clínica y socialmente son las fracturas más importantes. La incidencia de las fracturas de fémur en España (Díez et al., 1989) es inferior a la de otros países europeos más septentrionales (Falch et al., 1985; Frandsen y Kruse, 1983; Hedlund et al., 1985; Boyce y Vessey, 1985; Matkovic et al., 1979) y a las de Israel (Levine et al., 1970) y Rochester (Gallagher et al., 1980). Sin embargo, representan un proceso de gravedad creciente y de un alto impacto entre nosotros. La incidencia de la fractura de fémur se estima a partir de los ingresos hospitalarios que produce en mayores de 50 años, edad a partir de la cual se asume que la fractura está relacionada con osteoporosis, excluyéndose las fracturas patológicas asociadas a localización neoplásica. En España existe una cierta tendencia a que en regiones más septentrionales hayan tasas de fracturas más elevadas (Díez et al., 1989; Olmos et al., 1992; Fernández et al., 1992; Sosa et al., 1993; González Domínguez et al., 1993). Este fenómeno, que ya se observó a nivel europeo (Elffors et al., 1994), no tiene una explicación clara. Se podría pensar que la mayor exposición solar ofrece unas tasas de vitamina D más favorables a la salud ósea. Lo cierto, sin embargo, es que la población de edad avanzada de nuestro país, en todas las regiones en que se ha estudiado, tiene niveles plasmáticos bajos de esta hormona (Martínez et al., 1996). Debe haber, por lo tanto, una multiplicidad de factores que influyen en esta disparidad, de tipo alimenticio, genético, de actividad física, etc. que no conocemos bien. El estudio de Barcelona (Díez et al., 1989) fue seguido de un segundo trabajo (Nogués et al., 1997) 5 años después para objetivar cambios en la incidencia de la fractura de fémur. Siguiendo la misma metodología que en el primer estudio se encontró que si bien la incidencia en mujeres permanecía estable, en varones de más de 45 años existía un pequeño pero estadísticamente significativo descenso, al variar la incidencia de 115/100.000 varones en 1984 a 95/100.000 varones en 1989. A nivel mundial, la fractura osteoporótica de fémur representa una auténtica pandemia, con una gran incidencia en Europa, Asia y Norteamérica (Cooper et al., 1992).

1.3. Costes socioeconómicos

Ya hemos visto que la osteoporosis representa un importante problema de salud debido a su alta prevalencia y al alto coste del tratamiento de las fracturas, que incluye hospitalización, ausencias laborales, cuidados crónicos en domicilio, medicación, etc.

Todo ello acarrea graves consecuencias tanto para los pacientes como para el sistema sanitario y, por lo tanto, para la sociedad en general. Sólo en la ciudad de Barcelona se ha calculado que se producen 3.573 fracturas anuales, con la importante carga sociosanitaria que conllevan.

La fractura de Colles suele tener pocas consecuencias, si bien puede ocasionar una limitación funcional más o menos severa. Sirve, sin embargo, como señal de alerta de futuras fracturas mucho más graves, sobre todo la de fémur. La fractura vertebral puede ser asintomática, pero también puede producir un intenso dolor agudo incapacitante que obligue a guardar reposo estricto y a realizar tratamiento enérgico. Además, deja secuelas en forma de anomalías en la estática y dinámica del raquis con dolor y limitación funcional crónicos.

La fractura de fémur es la que peores consecuencias acarrea. En un estudio realizado en nuestro entorno, la mortalidad aguda durante el primer mes fue del 8,3%, siendo del 30% y del 38% al año y a los dos años respectivamente (Knobel et al., 1992). Estas cifras son claramente superiores a las esperables para la población general de igual edad y sexo, habiéndose estimado que la fractura de fémur reduce en un 12 % la esperanza de vida. En este estudio, los factores que acarrearán mayor riesgo de mortalidad e incapacidad post-fractura fueron la edad superior a 80 años, el mal estado post-fractura y la existencia de un cuadro de demencia de base. No se encontró influencia del estado pre-fractura, sexo y hábitat, lo cual coincide con otro estudio europeo (Miller, 1978), aunque el sexo masculino se había asociado a mayor mortalidad en otros trabajos (Fisher et al., 1991; Kenzora et al., 1984). La fractura puede romper el frágil equilibrio en que se mantiene el anciano, desencadenando una serie de complicaciones para las que no tiene capacidad de reacción, con lo que se produce un grave deterioro en su calidad de vida (Knobel et al., 1992). Además, sólo un tercio de los pacientes vuelven a su situación clínica basal.

Las cifras de mortalidad tras la fractura de fémur obtenidas en Barcelona son comparables a las observadas en otros lugares de España (Sosa Henríquez, 1993). La ocupación permanente de camas de agudos por fractura de fémur en España es de unas 2.100. Ello representa más de 33.000 ingresos anuales y unas 31.000 intervenciones quirúrgicas, con implantación de unas 10.000 prótesis (Díez et al., 1989b). Dado que la fractura de fémur incide predominantemente sobre pacientes de edad avanzada y con patología concomitante, las necesidades de atención hospitalaria aguda son grandes, lo

que se traduce en estancias hospitalarias largas (Olmos et al., 1992; Sosa et al., 1993; Sosa Henríquez, 1993; Díez et al., 1989b; Candau et al., 1993; Altadill, 1993). Todo esto se refiere sólo a la fase aguda post-fractura. Las necesidades asistenciales globales son mucho mayores, aumentándose el porcentaje de incapacitados, los ingresos en centros de enfermos crónicos o el establecimiento de un sistema de ayuda domiciliaria (Knobel et al., 1992). Además, evaluar cuanto cuesta que un familiar del paciente tenga que dejar su trabajo o cuanto le costará alquilar los servicios de alguna persona para cuidar al anciano fracturado son gastos difíciles de cuantificar. Los costes de rehabilitación, centros de estancia prolongada, medicación crónica y un largo etcétera son inacabables. Sólo los gastos en la fase aguda de la fractura ascendieron a 16.000 millones de pesetas en 1984 en España (Díez et al., 1989b), o, por ejemplo, a 250 millones en 1990 en Gran Canaria (Sosa et al., 1993). En Estados Unidos, se ha calculado que el coste total de todas las fracturas osteoporóticas incluyendo la fase aguda y los costes indirectos ascienden a 2 billones de dólares anuales y a 870.000 millones en el caso de la fractura de cadera (Praemer et al., 1992).

Es de esperar que en un futuro próximo estas estimaciones se multipliquen, puesto que la tendencia al envejecimiento de la población en los países occidentales hará que se produzcan un mayor número de fracturas con el consiguiente aumento del gasto. A modo de ejemplo, se estima que en España se producirán unas 45.000 fracturas de fémur anuales en el año 2010, y alrededor de 117.000 en Inglaterra y Gales en el año 2016. Ello se deberá no sólo al envejecimiento poblacional, sino también a factores inherentes a los cambios en el nivel de vida del mundo occidental (Kanis, 1991).

1.4. Fisiopatología

En el hueso adulto existen dos tipos de tejido, el cortical o compacto y el esponjoso o trabecular. La mayoría de los huesos se forman por una cubierta cortical externa, cuya superficie exterior se denomina periostio y la interna endostio, que encierra el hueso esponjoso y el espacio medular. En el individuo adulto el 80% de la masa esquelética es hueso cortical. El hueso esponjoso comprende las trabéculas y las barras tisulares que se conectan entre ellas, y que se orientan de acuerdo con las líneas de tensión. El

ordenamiento de las trabéculas óseas confiere la resistencia del hueso a las fuerzas de compresión y torsión.

Para entender los mecanismos por los que se pierde masa ósea debemos conocer la dinámica normal del hueso. El hueso es un tejido vivo, en constante formación y resorción, con una actividad formativa igual a la resorptiva. El proceso de remodelación ósea se inicia con la resorción, seguido de la formación, con lo que al mismo tiempo se proporciona un mecanismo para la autocorrección y para la adaptación a la tensión. Este proceso se realiza en una serie de etapas: activación, resorción, inversión, acoplamiento, formación y mineralización, y se encuentra sometido a influencias hormonales que actúan activando o inhibiendo las distintas etapas. La activación consiste en la atracción de un grupo de osteoclastos a un lugar de la superficie ósea, lo cual sucede cada 10 segundos en el hueso sano. Una vez los osteoclastos se han activado se inicia la resorción, profundizando a una velocidad de unos 20 $\mu\text{m}/\text{día}$ en el hueso trabecular, de forma que en 4 a 14 días se han excavado unos 40-60 μm . En este punto, las células multinucleadas son sustituidas por células mononucleadas que suavizan la cavidad de resorción. En los 7-10 días siguientes acontece la fase de inversión, en la que se deposita en la cavidad formada una sustancia rica en proteoglicanos, glicoproteínas y fosfatasa ácida y pobre en colágeno. Al finalizar la inversión se produce la fase de acoplamiento en la que los osteoblastos son atraídos a la cavidad de resorción, iniciándose la formación de hueso nuevo. Los osteoblastos forman una capa de células dentro de la cavidad de resorción y sintetizan capas de osteoide. Unos días después, el osteoide se mineraliza, con lo que se completa el ciclo. Este fenómeno es similar en el hueso esponjoso y en el cortical. La secuencia de remodelación en los huesos esponjoso y cortical en una serie organizada y focalizada forma las unidades de remodelación ósea (Kanis, 1994).

En la osteoporosis post-menopáusica existe un aumento del remodelado que se inicia con un incremento en la activación, y por tanto, en el número de osteoclastos. La consecuencia de ello es un aumento en la extensión y en la profundidad de la cavidad de resorción. La posterior formación de hueso nuevo por los osteoblastos no es suficiente para rellenar por completo la cavidad y se produce una disminución de grosor. Este proceso es similar al producido en las osteoporosis secundarias a inmovilización o por corticoesteroides. Cuando existe una remodelación acelerada, el aumento de la frecuencia de este proceso produce una mayor pérdida de hueso (Kanis, 1994).

En base a lo expuesto, se ha dividido la osteoporosis en dos tipos: de remodelado alto o bajo (Meunier et al., 1981; Whyte et al., 1982), aunque los hallazgos histológicos parecen mostrar una situación continua en vez de dos trastornos. Otras clasificaciones la agrupan según los volúmenes óseos cortical o trabecular, puesto que el volumen de hueso esponjoso es menor en las fracturas trocantiéreas que en las cervicales (Lips et al., 1982), o desde un punto de vista clínico en tipo I y tipo II, en la que la tipo I se refiere a las fracturas de hueso esponjoso y la tipo II a las de hueso cortical (Johnston et al., 1985).

1.5. Regulación del remodelado óseo

Existen múltiples factores que regulan la activación de las unidades de remodelado. Los mejor conocidos son los de carácter humoral, bien sean hormonales y actúen de forma sistémica, o los factores auto y paracrinos con actuación local. Estos factores actúan sobre los osteoblastos y los osteoclastos, influyendo en los procesos de diferenciación, proliferación y reclutamiento celular (Canalis, 1996), con acciones activadoras de la resorción o de la formación según los casos, y con complejos mecanismos de interrelación entre ellos. El producto final del proceso de remodelado estriba en el mantenimiento de una matriz ósea mineralizada.

Entre los factores hormonales se encuentran las hormonas calciotropas como la hormona paratiroidea (PTH), el calcitriol y la calcitonina, y otro tipo de hormonas, entre las que se encuentran las hormonas sexuales, las hormonas tiroideas, los glucocorticoides y la hormona de crecimiento (GH). Los factores locales se dividen en citocinas y factores de crecimiento. Entre las citocinas destacan la interleucina 1 beta (IL-1 β), la interleucina 6 (IL-6), y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), y entre los factores de crecimiento tenemos los factores de crecimiento similares a la insulina I y II (IGF-I e IGF-II), y el factor transformante beta (TGF- β), entre otros. Muchos de estos factores se agrupan en ejes hormonales, como el eje vitamina D/PTH o el eje GH/IGF-I (González Macías y Amado Señaris, 1999).

La PTH estimula la resorción ósea, aunque su acción no es directa, requiriéndose la presencia de osteoblastos o de factores derivados de los mismos para observar su efecto. Sus acciones son muy complejas, pudiendo estimular o inhibir la síntesis de colágeno, según su efecto se realice de forma intermitente o continuo. El efecto anabólico de la

PTH parece ser consecuencia de un aumento de la síntesis de los factores locales IGF-I y TGF- β (Canalis et al., 1994; Canalis et al., 1989)

La calcitonina inhibe la resorción y no tiene efectos sobre la formación ósea. En cambio, la insulina y la GH favorecen la formación ósea a través de efectos sobre el IGF-I. Además, la presencia de receptores de GH en los osteoblastos apoya la acción directa de la GH sobre el hueso (González Macías y Amado Señaris, 1999).

La vitamina D participa en la modulación de la resorción y tiene efectos complejos sobre la formación. Durante la fase de resorción, el calcitriol favorece la diferenciación de los osteoclastos, a la vez que inhibe las interleucinas 6 y 8, lo cual es un modo indirecto de disminuir la resorción, ya que estas citocinas favorecen la osteoclastogénesis. También limita la actividad resorptiva inducida por la IL-1 β y el TNF α , pero promueve la expresión de integrina- β 3 en los osteoclastos, citocina necesaria para la polarización hacia la superficie de resorción y la formación del borde en cepillo, lugar de la actividad resorptiva de los osteoclastos. Durante la finalización de la fase de resorción, el calcitriol incrementa la producción de osteoprotegerina, molécula que neutraliza el factor diferenciador de los osteoclastos, y favorece la síntesis de TGF- β 3 y de las proteínas morfogénicas óseas, que son inductores de la apoptosis del osteoclasto (Del Pino Montes et al., 2000). Sus efectos sobre la formación ósea se deben a que favorece la diferenciación de los osteoblastos, estimula la producción de TGF- β y de las proteínas morfogénicas óseas. En el osteoblasto maduro, estimula la producción de proteínas de la matriz, enzimas y citocinas (Del Pino Montes et al., 2000). Favorece la síntesis de osteocalcina, péptido sintetizado por los osteoblastos, indicando una acción directa sobre ellos (Lian et al., 1985), y favorece la unión del IGF-I al receptor y la síntesis de proteínas ligadoras de IGF-I, pudiendo así modificar su concentración y acción (Delany et al., 1994).

Los glucocorticoides disminuyen la replicación de las células óseas, produciendo efectos variados sobre el hueso, cuyo resultado final es un descenso en la matriz ósea. Además, tienen efectos indirectos sobre la formación ósea y sobre la síntesis y actividad de los factores de crecimiento (Delany et al., 1994b).

Los estrógenos inhiben la resorción ósea in vivo, aunque también se ha dicho que favorecen la formación y la resorción, sobre todo la formación. Su efecto está relacionado con la supresión de la síntesis de citocinas resorptivas como la IL-1 β , la IL-6 y el TNF α , con un mecanismo de retroalimentación (“feed-back”) positivo en el paso de

25 hidroxivitamina D (25 D) a 1,25 dihidroxivitamina D (1,25 D), con la inhibición de la liberación de calcitonina y con la inhibición de distintos factores de crecimiento. Los estrógenos son necesarios para el mantenimiento de la masa ósea en mujeres y en varones, hecho demostrado en diferentes estudios en mujeres postmenopáusicas, en las que el déficit estrogénico produce una pérdida de masa ósea acelerada (Elders et al., 1988), y en varones con déficit del receptor de estrógenos y con déficit de aromatasa, enzima que cataliza la conversión de testosterona a estradiol. El déficit estrogénico se considera la causa principal de osteoporosis postmenopáusica (Elders et al., 1988), y el tener niveles bajos de estrógenos en edad premenopáusica se ha asociado a menor densidad mineral ósea (Sowers et al., 1998), lo cual incrementará el riesgo de osteoporosis futura. Además, el tratamiento hormonal sustitutivo se ha asociado con disminución del riesgo de fractura (Kreiger et al., 1982). En el varón, la importancia de los estrógenos ha sido demostrada en diversos estudios. A nivel clínico se ha constatado que varones afectados de distintos tipos de fracturas tenían niveles séricos de estradiol menores que varones sin fracturas, y que el tratamiento con testosterona en la osteoporosis masculina se asocia mejor con incrementos en la concentración sérica de estradiol que con incrementos en la concentración sérica de testosterona (Anderson et al., 1998)

Las hormonas tiroideas estimulan la resorción ósea por un mecanismo similar al de la PTH, estimulando indirectamente los osteoclastos tras actuar previamente sobre los osteoblastos (Britto et al., 1994).

Entre los factores locales, el IGF-I, los factores de crecimiento derivados de las plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento de los fibroblastos (FGF) y las prostaglandinas tienen efectos en la formación ósea, mientras que las interleucinas 1 y 6, el TGF- β , los TNF α y de nuevo las prostaglandinas juegan un papel en la resorción (Canalis, 1996).

1.6. Marcadores bioquímicos de remodelado óseo

La osteoporosis es la consecuencia de un desacoplamiento entre la formación y la resorción ósea, con un predominio de la actividad resorptiva. Este hecho puede deberse a un descenso de la formación, a un aumento de la resorción o a una combinación de ambas causas. Los cambios histomorfométricos que se producen en el proceso de remodelado óseo se estudian mediante examen y medición de muestras óseas obtenidas

por biopsia de cresta ilíaca, pero este procedimiento tiene sus inconvenientes, como son la invasividad y potencial morbilidad de la técnica (Mellibovsky et al., 1993) y el que la medición del remodelado óseo se limite a una pequeña área de hueso trabecular y su cortical (Delmas, 1995). Esto ha hecho necesario el desarrollo de procedimientos no invasivos que tengan una buena sensibilidad y especificidad en la detección de cambios en el proceso de remodelado óseo, y que puedan repetirse con fiabilidad en un paciente individual. En los últimos años se han desarrollado distintos marcadores bioquímicos de resorción y de formación ósea, que han mostrado una buena correlación con los cambios histomorfométricos. Ejemplo de ello son los estudios que evaluaron la osteocalcina (Brown et al., 1984; Díez et al., 1994), el propéptido C-terminal del colágeno tipo I (Parfitt et al., 1987), la piridolina y desoxipiridolina (Delmas et al., 1991) o el telopéptido N-terminal y el propéptido C-terminal del colágeno tipo I (Eriksen et al., 1993). Además, un estudio en animales de experimentación encontró que tras administrar una dosis de alcohol se producen de forma precoz cambios en los parámetros histomorfométricos de resorción y formación, que se siguen a las pocas horas de cambios correspondientes en los parámetros bioquímicos de remodelado óseo (Díez et al., 1997). El tiempo necesario para detectar cambios en los marcadores de remodelado es corto. Por ejemplo, la estancia en cama durante cinco días ya induce cambios detectables en los mismos (Pedersen et al., 1995). En períodos aún más cortos, de tan sólo 24 horas o menos se han comprobado variaciones en la osteocalcina tras ingerir alcohol (Rico et al., 1987).

1.6.1. Marcadores bioquímicos de formación ósea

Los marcadores de formación ósea son productos directos o indirectos de la actividad osteoblástica, expresados durante diferentes fases del desarrollo de los osteoblastos (Delmas et al., 2000). Se dividen en dos grupos: los que miden la actividad enzimática osteoblástica, representados por la fosfatasa alcalina total en suero y su isoenzima ósea, y los péptidos sintetizados por el osteoblasto, como la osteocalcina sérica, el propéptido carboxiterminal del colágeno I en suero (PICP) y el propéptido aminoterminal del procolágeno I en suero (PINP).

La fosfatasa alcalina total es un enzima importante en la formación osteoide y en la mineralización. Diversos tejidos como hígado, hueso, intestino, bazo, riñón y placenta producen fosfatasa alcalina, pero en un adulto sano aproximadamente el 50% de su

valor en suero corresponde a la isoenzima hepática y otro 50% a la ósea. La determinación de fosfatasa alcalina total es, pues, sumamente inespecífica, por lo que se han desarrollado técnicas para determinar su isoenzima ósea, la cual está considerada como uno de los marcadores de formación más adecuados para el estudio de la osteoporosis (Domínguez et al., 1998). No obstante, éstas técnicas tienen una reactividad cruzada de un 15-20%, por lo que en individuos con elevada isoenzima hepática se pueden obtener determinaciones de isoenzima ósea falsamente altas (Delmas et al., 2000).

La osteocalcina es una pequeña proteína sintetizada por los osteoblastos y odontoblastos. Se la considera como uno de los marcadores de formación más específicos. La osteocalcina se degrada rápidamente en suero, de forma que en éste coexisten la proteína intacta con distintos fragmentos. Este hecho es importante cuando se quiere determinar su concentración sérica, ya que existen distintos métodos comerciales que presentan especificidades distintas para los distintos fragmentos (Díaz Diego et al., 1994).

Los propéptidos PICP y PINP se originan a partir de la escisión de los extremos carboxi y aminoterminal del procolágeno tipo I, de forma que por cada molécula de colágeno sintetizada se originan una molécula de PICP y otra de PINP. Se consideran marcadores cuantitativos del colágeno tipo I de nueva formación. El PINP es de uso más reciente y se ha mostrado más sensible que el PICP en el estudio de la osteoporosis postmenopáusica (Domínguez et al., 1998).

1.6.2. Marcadores bioquímicos de resorción ósea

Los marcadores de resorción son el reflejo directo o indirecto de la actividad osteoclástica. Entre los marcadores de resorción ósea se encuentran la fosfatasa ácida tartrato-resistente (TRAP), la sialoproteína, el cociente calcio/creatinina urinario y los derivados del metabolismo del colágeno, representados por la hidroxiprolina, los puentes de piridolina y los telopéptidos C y N-terminales.

La TRAP existe en dos isoformas, la 5a y la 5b. Recientemente, los resultados de un ensayo con TRAP-5b indican que este es un marcador útil para determinar la actividad osteoclástica (Delmas et al., 2000).

La sialoproteína ósea es un nuevo marcador que representa del 5 al 10% de la matriz ósea no colágena. Se sintetiza por osteoblastos y odontoblastos, y se considera marcador

de resorción debido a la rápida reducción de sus niveles en suero tras la administración de bisfosfonatos endovenosos (Delmas et al., 2000). Su determinación sérica da una información similar a las determinaciones séricas de los telopéptidos C y N terminales (Woitge et al., 1999).

La hidroxiprolina ha sido el marcador clásico, a pesar de que una parte importante de su concentración en orina deriva de colágeno de nueva formación, de colágeno de tejidos no óseos y de colágeno procedente de la dieta. Por ello, su falta de especificidad la ha relegado en favor de los nuevos marcadores.

Los puentes de piridolina (piridinolina y desoxipiridinolina) ofrecen la ventaja sobre la hidroxiprolina de que no es necesario realizar una dieta especial previa a su determinación. La piridolina y, sobre todo, la desoxipiridinolina son buenos marcadores de resorción ósea (Seibel et al., 1993). Además, sus niveles vuelven a la normalidad cuando se realiza tratamiento estrogénico en pacientes osteoporóticas y se ha observado una buena correlación entre los niveles de piridolina y los cambios histomorfométricos obtenidos por biopsia de cresta ilíaca (Delmas et al., 1991; Eriksen et al., 1993).

Los telopéptidos C y N-terminales (ICTP y NTx) son unas moléculas complejas derivadas del colágeno. En trabajos recientes, el NTx se ha mostrado como un método de gran sensibilidad para determinar resorción ósea (Gertz et al., 1994; Hanson et al., 1992), así como para predecir las variaciones que produce el tratamiento hormonal sustitutivo (Chesnut et al., 1997) y la suplementación con testosterona en varones eugonadales con fracturas vertebrales osteoporóticas (Anderson et al., 1997) sobre la masa ósea. El telopéptido carboxiterminal del colágeno tipo I se ha mostrado muy sensible en el estudio de la resorción ósea en la osteoporosis postmenopáusica (De la Piedra et al., 1997). La determinación sérica de los telopéptidos C y N terminales ofrece una información similar sobre la resorción ósea que sus equivalentes urinarios (Woitge et al., 1999), ofreciendo la ventaja de que su determinación no precisa la recolección de orina de 24 horas, o que en el caso de una muestra simple no debe corregirse por el índice de creatinina urinaria. Además, la variación intraindividual del NTx sérico es menor que la del urinario (Eastell et al., 2000).

Los marcadores de remodelado óseo predicen la pérdida ósea y la probabilidad de fracturas en mujeres postmenopáusicas (Garnero, 2000) y son útiles para la monitorización de la eficacia al tratamiento, sobre todo cuando se administran drogas anti-resortivas (Delmas et al., 2000). También se ha sugerido su posible utilidad para

decidir que tipo de tratamiento utilizar y para predecir la magnitud de la respuesta a los estrógenos o a los bifosfonatos. No obstante, en su uso en la práctica clínica se debe tener en cuenta que algunos de los marcadores pueden también reflejar, aunque sea en poco grado, cambios de formación. Al estar muchos de ellos presentes en tejidos no esqueléticos, su valor puede estar influenciado por procesos no esqueléticos. Asimismo, sus variaciones no reflejan una enfermedad específica, sino alteraciones en el metabolismo óseo, independientemente de la enfermedad subyacente (Delmas et al., 2000).

Así, para medir el remodelado óseo se aconseja la realización de mediciones de marcadores de formación como el isoenzima óseo de la fosfatasa alcalina o los derivados del procolágeno tipo I (propéptido carboxi-terminal) en plasma, y la medición de un marcador de resorción como, por ejemplo, el NTx en orina.

2 EL TABAQUISMO

2.1. Introducción

El hábito tabaquico es una de las adicciones más extendidas en el mundo, siendo la primera causa de muerte prematura prevenible (Peto et al., 1992). En nuestro país, la prevalencia en 1997 fue en los varones del 44.8% y en las mujeres del 27.2% (Anónimo, 1997). Los gastos sanitarios que se desprenden por su causa son enormes (Everet, 1992), tanto en costes directos por medicación, hospitalización, etc., como por horas de trabajo perdidas. No obstante, y a pesar del aún elevado consumo actual, parece que la información aportada por los organismos de salud y las autoridades sanitarias son lo suficientemente claras como para que la población conozca los efectos perjudiciales del hábito tabáquico. Así, en un estudio de corte epidemiológico realizado en una comunidad de Nueva Zelanda, en el que se encuestaron a ancianos de edad igual o superior a los 60 años, éstos conocían los efectos nocivos del tabaco en una gran mayoría de casos (Richmond et al., 1996). Además, una prueba de los conocimientos de la población estriba en que muchas mujeres abandonan espontáneamente el hábito al quedar embarazadas (Jané et al., 2000).

El tabaco puede administrarse de múltiples maneras: masticado, en forma de rape, fumado en pipa, puros o cigarrillos. En siglos anteriores la forma de consumo era variada, en cambio, en el siglo XX, la forma más común son los cigarrillos. Ello es probablemente debido a la invención de máquinas manufactureras a finales del siglo pasado (Burns, 1991). Es esta forma de consumo la responsable de la gran patología asociada al tabaco que ha aparecido en el último siglo. El humo del tabaco producido por la pipa y los cigarros puros es más fuerte y desagradable y más alcalino que el producido por los cigarrillos, haciendo menos probable que los fumadores de pipa y cigarros puros inhalen el humo hasta los pulmones. El pH más ácido del humo de los cigarrillos disminuye la absorción de nicotina en la mucosa oral, por lo que estos fumadores precisan inhalar el humo hasta los pulmones para maximizar su absorción. Además, al mismo tiempo que se inhala la nicotina, se están inhalando un gran número de sustancias cancerígenas y tóxicas, que se depositan en las vías aéreas y alveolos y son absorbidas por el organismo (Burns, 1991).

2.2. Físicoquímica

El humo de los cigarrillos es un complejo aerosol producto de la destilación y combustión del tabaco quemado. La mayor fracción del humo se produce cuando el fumador inhala, alcanzándose temperaturas superiores a 950 °C, siendo esta la principal fuente de exposición de los fumadores activos. Otra fracción se produce a temperaturas más bajas, de alrededor de 350 °C, mientras el cigarrillo está encendido, siendo ésta la que va al ambiente y la que afecta a los fumadores pasivos. El alquitrán es la sustancia restante cuando la nicotina y el agua se han eliminado (Burns, 1991). El sobrante tras extraer la fase de partículas constituye la fase de vapor.

Se han identificado más de 4.000 constituyentes químicos en el humo de los cigarrillos, incluyendo agentes radioactivos (^{210}Pb y ^{210}Po) y radicales libres. La inhalación del humo produce aproximadamente entre 10^9 y 10^{10} partículas/ml, con un tamaño medio de 0.2 μm . Existen diversos factores que influyen en la composición y absorción de las mismas. La longitud del cigarrillo, porosidad del papel y características del filtro pueden hacer variar la cantidad de alquitrán inhalado. El tamaño y la solubilidad de las partículas va a determinar el lugar de depósito de las mismas. Los componentes muy solubles se absorben mayoritariamente en las vías aéreas superiores, por lo que llegan a los alveolos en concentraciones muy inferiores a las existentes en el humo. En cambio, el monóxido de carbono se absorbe en los alveolos. Una vez depositadas, las partículas tienden a ser eliminadas a través de los mecanismos de limpieza pulmonares: los macrófagos alveolares y el transporte mucociliar. Por desgracia, uno de los efectos adversos de la inhalación aguda del humo de cigarrillo es la aparición de ciliostasis y la reducción del aclaramiento mucociliar, mientras que la exposición crónica convierte el epitelio ciliado en epitelio no ciliado (Burns, 1991).

2.3. Patología asociada al tabaco

La relación causal del hábito de fumar con las enfermedades respiratorias (Higgins et al., 1982) y cardiovasculares (Hughson y Mann, 1978; Carstensen et al., 1987; Flodeurs et al., 1988; Shinton y Beevers, 1989, Waters et al., 1996, Hasdai D et al., 1997), así como su efecto carcinogénico (Rogot y Murray, 1980; Hammond y Seidman, 1980; Carstensen et al., 1987; Kaufman et al., 1989; Shopland et al., 1991) ha sido ampliamente demostrada.

El cáncer de pulmón se ha asociado al tabaco en todos sus tipos histológicos (de células pequeñas, de células grandes, adenocarcinoma y epidermoide) y en ambos sexos. El riesgo de desarrollar una neoplasia pulmonar en varones fumadores es de 5 a 20 veces mayor que en no fumadores. Otros tumores relacionados con el tabaco son los de cavidad oral, laringe, esófago, vejiga urinaria, riñón, páncreas, estómago y cérvix (Sherman, 1991).

Numerosos estudios en hombres y mujeres han mostrado la asociación entre fumar e infarto de miocardio, muerte súbita por enfermedad arterial coronaria y ataques cardíacos recurrentes. El riesgo de enfermedad coronaria y de muerte súbita es de 2 a 4 veces mayor en individuos fumadores. Además, se ha observado que fumar potencia el riesgo de enfermedad coronaria cuando existen otros factores de riesgo. Fumar también aumenta el riesgo de accidente vascular cerebral, hemorragia subaracnoidea y enfermedad arteriosclerótica, así como el riesgo de muerte por rotura de un aneurisma aórtico (Sherman, 1991).

A nivel respiratorio, fumar es el factor de riesgo más importante de enfermedad pulmonar obstructiva crónica. Fumar produce un descenso del FEV1, tanto en estudios transversales como longitudinales, en los que se ha demostrado una pérdida acelerada de este parámetro funcional. También produce un descenso en la velocidad del moco traqueal, hipersecreción de moco, inflamación de las vías aéreas e incremento en la permeabilidad epitelial, lo que puede explicar la aparición de síntomas como la tos, expectoración, respiración ruidosa y disnea. Asimismo, diferentes trabajos han encontrado una mayor predisposición a las infecciones respiratorias en sujetos fumadores (Sherman, 1991).

Los efectos del tabaco cuando se fuma durante el embarazo también pueden ser deletéreos para el feto. Se ha comprobado que produce retraso en el crecimiento fetal, tanto mayor cuanto más fuma la madre (Shu et al., 1995; Bonati y Fellin, 1991), y que aumenta la incidencia de aborto espontáneo y parto prematuro, además de aumentar la mortalidad fetal y perinatal y la incidencia del síndrome de muerte súbita (Chollat-Traquet, 1992; Anónimo, 1998).

Entre los efectos atribuidos al consumo crónico de tabaco se encuentra un aumento en el recuento periférico de leucocitos polimorfonucleares (Taylor, 1987). Ello puede deberse a que el tabaco estimula la médula ósea, incrementando el tamaño de los compartimentos mitóticos y postmitóticos de leucocitos polimorfonucleares, al tiempo

que se reduce el tiempo de estancia del compartimento postmitótico en la médula (Terashima et al., 1997). La leucocitosis consecuente afecta el flujo de las células sanguíneas a través de la microcirculación e incrementa la resistencia hemodinámica al flujo en algunos órganos, en especial en el pulmón (Sutton y Schimd-Schonbein, 1992). Este mecanismo podría ser importante en la inflamación crónica pulmonar asociada al tabaquismo (Terashima et al., 1997).

El tabaco no sólo se asocia con un gran número de enfermedades concretas, sino que también afecta la capacidad funcional. En este estudio (Nelson et al., 1994) se examinaron los efectos que producían el consumo de tabaco y alcohol en 9704 mujeres americanas de edad avanzada. Se evaluaron doce pruebas de fuerza muscular, la agilidad y coordinación, la marcha y el equilibrio y la percepción del estado de salud visto por las mismas mujeres. Las mujeres fumadoras tenían capacidad disminuida en todas las funciones examinadas, excepto en la fuerza de compresión manual. El descenso en estas funciones se situaba entre un 50 y un 100% más que el descenso correspondiente a un aumento en 5 años de edad, y la mayoría de las funciones empeoraban al incrementarse el número de paquetes/año.

Un estudio sueco evaluó un grupo de 449 varones de 70 años, con seguimiento durante 5 años a 331 de ellos (Mellström et al., 1982). Se realizaron diferentes valoraciones al inicio del estudio y a los 5 años de seguimiento. Los fumadores tenían mayor pérdida de peso a pesar de no haberse modificado el aporte energético, menor tensión arterial sistólica tras ajustar por peso y medicaciones recibidas, menor pico de flujo espirado y más incidencia de disnea, así como menor DMO medida en talón. En los parámetros hematológicos evaluados, los fumadores tenían niveles inferiores de bilirrubina, GOT y GPT y mayores de fosfatasa alcalina. El número de leucocitos y la concentración de potasio fue mayor en fumadores y tuvieron menor concentración de proteínas totales, entre otras diferencias. Todas estas diferencias se ajustaron por distintas enfermedades que podrían influir en los resultados y por las medicaciones que recibían los sujetos de estudio.

En mujeres mayores de 65 años, la condición de fumadora o exfumadora se asocia a un aumento de la mortalidad por causas cardiovasculares u oncológicas, en cuyo caso el riesgo se multiplica por diez. En mujeres de más de 75 años, el aumento de mortalidad es de 1.4, pero tienen cinco veces más posibilidades de fallecer por un cáncer relacionado con el tabaco. Además, el riesgo de muerte por causas cardiovasculares

persiste durante 10 años tras el abandono del tabaco, aumentando hasta los 23 años en el caso de los cánceres relacionados (Vogt et al., 1996).

Otras patologías asociadas al consumo de tabaco son la úlcera péptica (Sherman, 1991), el dolor de espalda, la ciática, la enfermedad degenerativa espinal y la herniación discal (Hadley y Reddy, 1997), la enfermedad neumocócica invasiva que afecta a adultos inmunocompetentes (Nuorti et al., 2000), la disfunción eréctil en varones (Mannino et al., 1994), la degeneración macular relacionada con la edad (Christen et al., 1996), la pancreatitis alcohólica (Talamini et al., 1996), la pérdida de hueso alveolar y de piezas dentarias (Daniell, 1983; Krall et al., 1999), y la osteoporosis.

3. OSTEOPOROSIS Y TABACO

3.1. Introducción

La relación entre el tabaco y la osteoporosis ha sido objeto de debate en los últimos años, habiéndose realizado un gran número de estudios observacionales y epidemiológicos. Los resultados de estos estudios identifican el hábito tabáquico como factor de riesgo de osteoporosis. Además, los sujetos fumadores suelen tener menor cantidad de grasa corporal y muchos asocian el tabaquismo a otros factores de riesgo como el consumo de alcohol y el sedentarismo.

Existe una gran variedad de mecanismos por los que el tabaco produciría pérdida de masa ósea. Fumar disminuye la absorción intestinal de calcio (Krall et Dawson-Hugues, 1991; Praemer et al., 1992), disminuye el peso corporal en mujeres fumadoras (Krall y Dawson-Hughes, 1991; Jensen et al., 1985, Slemenda et al., 1989) y puede adelantar la edad de la menopausia (Jick et al., 1977; Daniel, 1978; Lindquist y Bengtsson, 1979; Andersen et al., 1982; Baron, 1984). Otros posibles mecanismos serían una acción tóxica directa sobre el hueso (Fang et al., 1991; Slemenda, 1994), alteraciones en el riego sanguíneo de la cabeza femoral (Hirota et al., 1993), acción sobre las vitaminas D y C, y las consecuencias del tabaco sobre el pulmón, como la acidosis o el tratamiento con aminofilina (Baron, 1984). No obstante, en la mujer, su efecto más importante se produce sobre el metabolismo estrogénico. En el varón, los mecanismos fisiopatológicos son más complejos y menos conocidos, aunque se cree que su efecto se produce a través de la inhibición de determinados enzimas que actúan sobre el metabolismo androgénico.

3.2. Efectos del tabaco sobre la densidad mineral ósea y la osteogénesis

Debido a la naturaleza de la osteoporosis es difícil realizar trabajos experimentales en humanos encaminados a identificar qué componentes del tabaco serían los responsables de la acción nociva sobre el hueso. Sin embargo, se han realizado estudios en animales de experimentación que evalúan los efectos de la nicotina sobre la densidad mineral ósea. El primer estudio que analizó estos efectos se realizó en 1993 en ratones macho (Broulik y Jaráb, 1993). Los investigadores dividieron los ratones en 4 grupos: uno control, uno intacto que recibía nicotina en el agua de bebida, otro castrado y otro castrado que recibía nicotina. Tras 56 días, los animales fueron sacrificados y se realizó un estudio histológico femoral. Los ratones que habían recibido nicotina, tanto los

intactos como los castrados, tenían menor densidad mineral ósea y menor cantidad de calcio y fósforo en fémur. Otros estudios en han demostrado que la administración prenatal de extractos de tabaco a altas dosis causan retraso del crecimiento y de la osificación en ratas Sprague-Dawley (Paulson et al, 1994) y en ratones CD-1 (Paulson et al., 1989), y que la administración de nicotina también afecta la osificación en ratas Wistar (Shevelva et al., 1984) y el crecimiento longitudinal óseo en dos cepas diferentes de ratas (Reisenfeld, 1985). Además, se ha demostrado una disminución de la sensibilidad a la calcitonina en ratas macho MCY expuestas al tabaco, lo que podría favorecer la acción resortiva del tabaco (Holló et al., 1979). Por otro lado, recientes investigaciones indican que fumar cigarrillos tiene un efecto negativo en la cicatrización ósea tras producirse una fractura o realizarse una osteotomía (Haverstock y Mandracchia, 1998), lo que puede deberse a una inhibición de la revascularización (Daftari et al., 1994) con el consiguiente retraso en la mineralización ósea (Ueng et al., 1999).

Recientemente, un equipo investigador ha demostrado que la administración de nicotina a ratas durante dos meses reduce los niveles séricos de 25-hidroxivitamina D (Fung et al., 1998), aunque esto no se traduce en cambios en la masa ósea ni en la formación ni resorción óseas. El mismo grupo se planteó posteriormente qué ocurriría si se administrase a largo término (Fung et al., 1999). Para ello, implantaron minibombas subcutáneas a un grupo de ratas hembras Sprague-Dawley, vírgenes y albinas. Las ratas fueron aleatorizadas en tres grupos, recibiendo placebo (n = 9), 3 mg/Kg/día de nicotina (n = 10) ó 4,5 mg/Kg/día de nicotina (n = 11) durante 90 días. El grupo tratado con dosis más altas de nicotina tenía niveles inferiores de 25- hidroxivitamina D y mayores de calcio, tendencia a niveles inferiores de 1,25-dihidroxivitamina D y menor contenido mineral vertebral. En el estudio histomorfométrico, el tratamiento con nicotina se asoció a una menor área diafisaria cortical en tibia en el grupo de 3 mg/kg/día, y a un menor índice de aposición mineral endocortical en tibia en el grupo de 4,5 mg/kg/día.

Previamente se habían realizado trabajos destinados a evaluar el efecto “in vitro” de la nicotina y de los extractos del tabaco sobre la osteogénesis, midiendo la proliferación celular y evaluando la incorporación de 3-hidroxitimidina, así como la actividad de la fosfatasa alcalina. La nicotina y los extractos del tabaco inhiben la síntesis de colágeno y la actividad mitocondrial en cultivos de células de embrión de pollo (Galvin et al., 1988). En células similares a los osteoblastos de pantorrilla de polluelo, la nicotina

inhibe la actividad de la fosfatasa alcalina y la hidroxilación de la 3-hidroxi prolina, a la vez que estimula la incorporación de la 3-hidroxitimidina (Lenz et al., 1990). No obstante, en otro trabajo no se comprobó este último efecto para los extractos del tabaco, aunque sí se demostró que inhiben la síntesis de colágeno (Galvin et al., 1990). Finalmente, se encontró que la nicotina suprime la proliferación celular y que estimula la actividad de la fosfatasa alcalina en células de osteosarcoma de rata, y que altera el metabolismo osteoblástico, con un efecto dosis y tiempo-dependiente en la supresión de la incorporación de 3-hidroxitimidina (Fang et al., 1991). Las diferencias encontradas en estos estudios en las acciones de la nicotina sobre el hueso “in vitro” pueden deberse a que se hayan usado distintas condiciones de cultivo, especies diferentes y tipos de osteoblastos distintos, entre otros factores (Fang et al., 1991). Por fin, una reciente demostración de la acción del tabaco sobre el hueso es el hallazgo de la presencia de la subunidad $\alpha 4$ del receptor nicotínico en osteoblastos humanos en cultivo primario (Walker et al., 2001). En este trabajo se demuestra que la nicotina tiene un efecto directo sobre los osteoblastos modulando su proliferación y regulando el factor de transcripción *c-fos* y la síntesis de osteopontina. Asimismo, en otro trabajo, se ha visto que los extractos de tabaco inhiben la proliferación de las células óseas progenitoras, con un efecto dosis-dependiente, y que inhiben la diferenciación de las células progenitoras a osteoblastos (Liu et al., 2001). Este estudio demuestra que el tabaco afecta directamente a las células óseas progenitoras.

3.3. Efecto antiestrogénico del tabaco

Las primeras sospechas de que el tabaco producía alteraciones en el metabolismo estrogénico surgen a raíz de las observaciones de que las mujeres fumadoras tienen menores índices de neoplasias de dependencia estrogénica, como es el cáncer de endometrio (Baron et al., 1986; Baron et al., 1990, Austin et al., 1993). Por ello, los principales estudios se realizaron en mujeres, y las conclusiones que se pueden extraer de ellos es que los efectos antiestrogénicos del tabaco se producen a nivel hepático.

Las primeras alteraciones descubiertas fueron un descenso en la excreción urinaria de estrona, estradiol y estriol en mujeres premenopáusicas fumadoras en fase luteal con respecto a mujeres no fumadoras (Mac Mahon et al., 1982). Estas alteraciones hormonales no pudieron demostrarse en mujeres postmenopáusicas sin tratamiento (Trichopoulos et al., 1987), aunque previamente se habían encontrado niveles más bajos

de estradiol en mujeres postmenopáusicas fumadoras que recibían tratamiento hormonal sustitutivo (Jensen et al., 1985), lo cual implica una más rápida metabolización de los estrógenos exógenos en fumadoras y, por tanto, un aumento en el metabolismo estrogénico hepático. Esto se confirmó en un estudio en mujeres posmenopáusicas en el que se les administraron estrógenos orales, percutáneos o placebo. Las mujeres fumadoras que recibieron estrógenos orales tenían menor descenso de lípidos séricos y menor aumento de DMO que las mujeres que no fumaban. En cambio, si recibían estrógenos percutáneos, la respuesta de los lípidos séricos y de la DMO fue similar en fumadoras y no fumadoras (Jensen et Christiansen, 1988). Estos hallazgos hacen suponer que fumar afecta la absorción, distribución o metabolismo del estradiol.

Una posible explicación a este fenómeno podría ser la existencia de un aumento en la 2-hidroxilación del estradiol a 2-hidroxiestradiol en fumadoras (Michnovicz et al., 1986), molécula biológicamente menos activa. Este mismo grupo investigador encontró este mismo efecto también en varones (Michnovicz et al., 1989). Esta reacción depende del citocromo P-450 hepático. Además, encuentran una disminución en la excreción de estrógenos urinarios en fumadoras, esta vez en fase folicular (Michnovicz et al., 1986), lo cual contrasta con los resultados de Mc Mahon y col. (Mac Mahon et al., 1982), que sólo la encuentran en fase luteal. Ello puede explicarse porque estos últimos consideraban fumadoras a aquellas mujeres que hubieran fumado 100 cigarrillos a lo largo de su vida, mientras que Michnovicz y col. incluyen a mujeres que fuman 20 cigarrillos al día en el momento del estudio. Por otro lado, no se han demostrado alteraciones en la producción y metabolismo periférico de estrógenos y andrógenos (Longcope y Jonhston, 1988), lo cual hace pensar que la acción del tabaco podría afectar al citocromo P-450 hepático, aumentando su actividad, sin que se afecte el citocromo P-450 ovárico.

Lee Cassidenti y col. (Lee Cassidenti et al., 1990) constataron una alteración del metabolismo hepático en mujeres fumadoras. Administraron una dosis de 1-2 mg de estradiol micronizado a mujeres fumadoras y no fumadoras y midieron los niveles séricos de distintas hormonas. La estrona y el estradiol basales en suero fueron similares, pero la estrona sulfato sérica fue más baja en fumadoras. Al administrar los estrógenos exógenos se encontraron diferencias en los niveles séricos de estrona sulfato en fumadoras. Todos estos resultados parecen indicar que el tabaco induce cambios en el metabolismo estrogénico hepático. No obstante, este mismo grupo no pudo

reproducir estos resultados en mujeres postmenopáusicas que no tomaban estrógenos exógenos (Lee Cassidenti et al., 1992), aunque sí constatan que las fumadoras tienen niveles séricos elevados de andrógenos. En 1993, Austin y col. (Austin et al., 1993) realizaron un estudio para evaluar los efectos del tabaco sobre la incidencia de cáncer de endometrio. Las fumadoras tenían cerca de un 30% de reducción en el riesgo de cáncer. A nivel hormonal, las fumadoras activas afectas de cáncer endometrial mostraron niveles séricos de estrona y estradiol inferiores a las no fumadoras, mientras que las fumadoras sin cáncer tenían mayores niveles de estrona y menores de estradiol. En ambos grupos se observó que los niveles de androstendiona estaban aumentados en fumadoras. Los resultados de estos dos últimos estudios indican que el efecto del tabaco sobre el cáncer de endometrio y la osteoporosis podría deberse a otros mecanismos, y no sólo a la inhibición estrogénica demostrada por otros autores.

Para buscar una explicación al incremento de los niveles séricos de andrógenos, Lobel y col. administraron ACTH a un grupo de diez mujeres postmenopáusicas sanas, cinco fumadoras y cinco no fumadoras, y midieron las concentraciones de diversas hormonas antes y a los 60 minutos de la administración de ACTH (Lobel et al., 1993). No se encontraron diferencias entre los niveles de estrógenos tras la estimulación entre fumadoras y no fumadoras, por lo que la acción del tabaco, “in vivo”, no se debería a una inhibición de los enzimas esteroideogénicos. Tampoco Thomas y col. encuentran diferencias en los niveles de estrógenos, andrógenos y pulsatilidad de la LH entre un grupo de mujeres fumadoras premenopáusicas y otro de no fumadoras (Thomas et al., 1993), por lo que se establecen dudas sobre las posibles alteraciones del tabaco en el metabolismo estrogénico y en la función folicular o hipofisaria.

En resumen, el tabaco produce una disminución en la excreción urinaria de estrógenos, estimula la metabolización de los estrógenos exógenos, y aumenta la 2-hidroxilación del estradiol y la actividad del citocromo P450 hepático. No obstante, otros efectos de tipo hormonal podrían ser también importantes en la fisiopatología de la osteoporosis.

3.4. Otras alteraciones hormonales. Afectación androgénica

Los efectos del tabaco no se limitan a alteraciones en el metabolismo estrogénico hepático. En efecto, en estudios realizados “in vitro” se han observado diversas alteraciones enzimáticas que afectan al metabolismo androgénico inducidas por la

nicotina o por los hidrocarburos policíclicos que se encuentran en el humo del tabaco. La nicotina puede inhibir parcialmente la actividad de la 11-betahidroxilasa y la 21 hidroxilasa (Barbieri et al., 1987), lo cual podría explicar el incremento de DHEA y androstendiona que se ha observado en varones fumadores. También puede inhibir a la enzima encargada de la conversión periférica de androstendiona en estrona y de testosterona en estradiol, la aromatasa (Barbieri et al., 1986; Barbieri et al., 1986b), lo que puede limitar la síntesis de estrona y estradiol, por lo que se podría producir un mecanismo de retroalimentación que produjera un aumento de los niveles de androstendiona para paliar este déficit (Baron et al., 1990). Además, se ha dicho que la inhibición de la aromatasa por el tabaco podría ser reversible (Panasen, 1985). También inhibe la C-20:22 desmolasa (Gunasegaram et al., 1982), acción que también puede limitar la formación final de estradiol. Por otro lado, otros autores han encontrado que el tabaco ejerce un efecto estimulador sobre la producción adrenal (Tucci y Sode, 1972; Winternitz et al., 1977), así como alteraciones en el metabolismo de la testosterona (Klaiber y Broverman 1988). Por su parte, los componentes hidrocarbonados policíclicos alteran “in vitro” el metabolismo de la testosterona y la androstendiona (Schneider et al., 1983).

En un estudio experimental realizado en ratones macho a los que se sometió al humo de cigarrillos, se objetivó que estos tenían niveles séricos de testosterona inferiores a los controles, pero iguales niveles de gonadotropinas. El estudio histológico de los testes reveló una disminución de las células de Leydig y una degeneración de las existentes, lo que implica un efecto tóxico directo del tabaco sobre las células de Leydig (Yardimci et al., 1997).

3.5. Estudios clínicos

La relación existente entre el tabaco y la osteoporosis fue comunicada por primera vez por H.W. Daniell (Daniell, 1972) en un estudio que incluyó a 17 mujeres postmenopáusicas que habían sufrido al menos una fractura vertebral sintomática antes de los 65 años de edad, y en el que se vió que 15 de estas mujeres eran fumadoras de más de 20 cigarrillos al día. Posteriormente, esta observación se amplió con un trabajo en el que se intentaba identificar qué factores influían en las fracturas osteoporóticas vertebrales (Daniell, 1976). En el se estudiaron 72 mujeres de entre 40 y 70 años que presentaban fracturas vertebrales sintomáticas. Dos terceras partes de estas mujeres eran

fumadoras importantes, y no habían sufrido un traumatismo previo que explicara la fractura. En la segunda parte del trabajo se evaluó la influencia del tabaco y de la obesidad en el índice de pérdida de masa ósea en 80 mujeres, encontrándose que el hábito de fumar en mujeres post-menopáusicas se asociaba a una mayor pérdida ósea cortical, hecho que se mantenía tras ajustar por índice de masa corporal en mujeres delgadas, pero no en obesas.

Desde entonces, múltiples trabajos de corte epidemiológico, la mayoría de diseño transversal y algunos de seguimiento prospectivo longitudinal, han estudiado diversos factores conjuntamente al tabaco, entre los que se incluyen ejercicio físico, obesidad, ingesta de calcio, consumo de café o alcohol. Estos trabajos han reafirmado al hábito tabáquico como factor de riesgo de osteoporosis, tanto en mujeres como en varones. En ellos, se ha encontrado, por ejemplo, que la asociación entre tabaco y osteoporosis o menor masa ósea es independiente de otros factores de riesgo como edad y peso (Bauer et al., 1993), ingesta de calcio y peso (Nguyen et al., 1994) o peso, ingesta de alcohol y café (Kiel et al., 1996).

3.5.1. Estudios de riesgo de fractura

Tras los estudios de Daniell, el tabaco paso a considerarse como un factor de riesgo real de osteoporosis, empezando a ser evaluado en los estudios de riesgo de fracturas. En 1981, en un estudio sobre terapia estrogénica en mujeres ancianas y fractura de cadera, en el que además se evaluaron otros factores de riesgo, se observó que el tabaco era un factor de riesgo independiente para la fractura de cadera, y que esto no podía explicarse sólo por la menopausia precoz observada en mujeres fumadoras (Paganini-Hill et al., 1981).

En 1982, Williams y col. (Williams et al., 1982) realizaron un estudio de casos y controles en el que incluyeron 344 mujeres postmenopáusicas que habían sufrido fractura de cadera o de antebrazo y 567 controles. El objetivo del estudio era conocer el grado de protección de los estrógenos exógenos en la incidencia de fracturas, según los factores de riesgo de las mujeres estudiadas. Se encontró que las mujeres fumadoras no obesas tenían mayor riesgo de fractura de cadera, aunque este disminuía si eran consumidoras de estrógenos. Para la fractura de antebrazo se encontró que el consumo de tabaco aumentaba el riesgo de fractura en las mujeres delgadas que no tomaban estrógenos. Ambas relaciones aumentaban cuanto más delgada era la mujer.

Entre los estudios realizados en varones cabe destacar el de Seeman y col. (Seeman et al., 1983). En él se estudió a un grupo de 105 varones osteoporóticos con fracturas vertebrales no traumáticas, y los compararon con un número igual de varones no osteoporóticos afectados de enfermedad de Paget. Tras realizar un análisis estadístico de regresión logística identificaron que el tabaco, el alcohol y determinadas enfermedades que alteran la absorción de calcio o el metabolismo óseo eran factores de riesgo para el desarrollo de osteoporosis. El riesgo relativo atribuido al consumo de tabaco fue de 2,3, y se encontró un efecto acumulativo al constatar un aumento del riesgo paralelo al número de paquetes/año. Este trabajo se complementa con otro (Vernejoul et al., 1983), en el que realizaron biopsia de cresta ilíaca para estudiar la histomorfometría ósea a 11 varones con fracturas vertebrales osteoporóticas. El consumo de tabaco y alcohol se asoció a un descenso de la formación ósea con resorción estable.

En un metaanálisis que evaluó 40 trabajos que relacionaban el efecto del tabaco con la osteoporosis, el análisis estadístico mostró un incremento moderado del riesgo relativo para la fractura del cuello femoral (Ill y Alexandre, 1993). Estos autores alertan del peligro que supone la existencia de muchas jóvenes fumadoras, con las posibles consecuencias de tener una población que alcance menores picos de masa ósea, y sobre que el tratamiento hormonal sustitutivo es menos efectivo en postmenopáusicas fumadoras.

Siguiendo con la búsqueda de factores de riesgo de fractura en mujeres, un estudio sueco evaluó a 6.000 mujeres nacidas entre 1900 y 1920 y a 4.000 mujeres nacidas entre 1930 y 1940 (Johansson y Mellström, 1996). En el primer grupo se encontró que el haber tenido fracturas previas incrementaba el riesgo de nuevas fracturas. En el segundo grupo se evaluó también la influencia del tabaco, el cual, junto a la menopausia precoz, se asoció significativamente con fracturas de repetición.

Nuevamente, en 1997 se publica un metaanálisis que concluye que fumar incrementa el riesgo de fractura (Law y Hackshaw, 1997). Se evaluaron 19 estudios de cohortes y de casos y controles que incluían un total de 3.889 fracturas de cadera. En él se estima que el riesgo de fractura en mujeres postmenopáusicas es similar a los 50 años, pero que este es de un 17% mayor a los 60 años, del 41% a los 70, del 71% a los 80 y del 108% a los 90. La estimación del riesgo acumulado para la fractura de cadera fue del 19% en fumadoras y del 12% en no fumadoras a los 85 años, y del 37% y 22% respectivamente

los 90 años. Considerando el total de mujeres, se encontró que una de cada ocho fracturas era atribuible al tabaco.

Más adelante se intentó relacionar el tabaco con algún tipo concreto de fractura. En un estudio diseñado para investigar qué factores de riesgo se asocian de manera determinante con las fracturas de muñeca y tobillo (Honkanen et al., 1998), en el que se evaluaron 14.121 mujeres perimenopáusicas, de las cuales 1358 habían tenido algún tipo de fractura, fumar se asoció significativamente con la fractura de tobillo, pero no con la de muñeca.

También los mecanismos por los que el tabaco aumentaría el riesgo de fracturas se han intentado analizar. En base a estudios previos en los que el tabaco se había asociado a niveles bajos de vitaminas antioxidantes (Duthie et al., 1991), se evaluó si el estrés oxidativo asociado al hábito de fumar contribuía a la pérdida ósea y al riesgo de fractura (Melhus et al., 1999). Tras ajustar por diversas variables, las mujeres que tenían una baja ingesta de vitaminas E y C aumentaban el riesgo de fractura (riesgo relativo de 3 para cada vitamina, y de 4.9 si concurrían ambas), mientras que las que ingerían estas vitaminas en mayores cantidades no tenían este incremento (RR de 1.1 para la vitamina E y de 1.4 para la vitamina C).

El riesgo de fractura asociado al tabaco podría disminuir al dejar de fumar. Esta observación se desprende de los resultados de un estudio longitudinal de 12 años de duración (Cornuz et al., 1999). En él se siguen durante el periodo mencionado a 116.229 mujeres que tenían entre 34 y 59 años en el momento de iniciar el seguimiento en 1980. A los 12 años, 377 mujeres habían sufrido una fractura de cadera ante traumatismos mínimos o moderados. Las mujeres fumadoras tenían un riesgo relativo de fractura de cadera de 1.3 tras ajustar por edad comparadas con las no fumadoras, y este riesgo aumentaba de forma lineal conforme se aumentaba el consumo de cigarrillos, alcanzando 1.6 cuando se fumaban más de 25 cigarrillos al día. El riesgo disminuyó a 1.2 y 1.4 respectivamente al ajustar por tiempo de menopausia, uso de estrógenos, actividad física e ingesta de alcohol, calcio y cafeína. Se observó que al dejar de fumar el riesgo relativo no variaba en los primeros 10 años, pero luego disminuía, siendo de 0.9 al compararse con las fumadoras activas.

En un intento de determinar que tipo de fracturas son las más susceptibles a la acción del tabaco se realizó un estudio que comparó 811 mujeres con fracturas de fémur a nivel cervical, 483 mujeres con fracturas de trocánter y 3.312 controles (Michaëlsson et al.,

1999). Todas las participantes en el estudio tenían una edad comprendida entre 50 y 81 años, a las que se remitió un cuestionario para valorar los factores de riesgo. El tabaco se asoció al riesgo de fractura con una "odds ratio" de 1,48 para las fracturas de trocánter y de 1,22 para las cervicales. Esta asociación se mantiene tras ajustar por la adiposidad. En ambos tipos de fractura, el tratamiento hormonal sustitutivo tuvo un efecto protector, aunque sólo se encontró significación para las fracturas de trocánter.

El tabaco es un factor de riesgo tanto en varones como en mujeres. En un estudio prospectivo sobre 13.393 mujeres y 17.379 varones daneses (Hoidrup et al., 2000) se identificaron 722 fracturas de cadera en mujeres y 447 en varones en los 5 años de seguimiento del estudio. Tras ajustar por diferentes factores confusionales, el riesgo de fractura en mujeres fumadoras fue de 1,36, y de 1,59 en varones. En ambos sexos, el riesgo aumentaba con la dosis acumulada de tabaco. Los varones exfumadores tienen una reducción del riesgo, pero no las mujeres. Los autores atribuyen al tabaco hasta un 19% de las fracturas de cadera observadas en el estudio.

Otro reciente estudio prospectivo en mujeres perimenopáusicas confirma el papel del tabaco en la génesis de fracturas osteoporóticas (Huopio et al., 2000). Aquí se siguen 3068 mujeres de 47 a 56 años durante un periodo de 3,6 años. En este tiempo se produjeron 295 fracturas en un total de 257 mujeres. Tras ajustar los resultados por las distintas covariables, los factores de riesgo independiente para la producción de fracturas fueron una baja DMO, historia previa de fractura, no tomar tratamiento hormonal sustitutivo, tener tres o más enfermedades crónicas y fumar. Las mujeres fumadoras tenían una DMO inferior a las no fumadoras en cuello femoral. El tabaco fue un factor asociado a las fracturas en el análisis univariante pero perdía fuerza en el multivariante. También en el año 2000 se publicó el primer estudio de prevalencia y factores de riesgo de deformidades vertebrales en varones ancianos chinos (Lau et al., 2000). Se incluyeron 396 varones de 70 a 79 años de edad, a los que se realizó densitometría con absorciometría de doble haz de rayos X y se recogieron datos de consumo de alcohol y tabaco, ingesta de calcio y actividad física. La prevalencia de deformidades vertebrales fue de un 7% (se utilizó el criterio del índice de altura vertebral, el cual era inferior a 4 desviaciones estándar de la media). El análisis de regresión logística múltiple identifica el tabaco, el alcohol y el trabajo manual como importantes factores de riesgo.

En otras ocasiones, sin embargo, no se encontró una clara relación entre tabaco y riesgo de fracturas. En un estudio epidemiológico, Hemenway y col. estudian si el tabaco, el alcohol y el peso corporal influyen en el riesgo de fracturas de cadera y antebrazo. Para ello, realizaron encuestas a 96.500 mujeres de 35 a 59 años (Hemenway et al., 1988).

Kiel y col. (Kiel et al., 1992) no encuentran una asociación entre tabaco y riesgo aumentado de fractura de cadera al estudiar a 2873 mujeres incluidas en el estudio Framingham, pero también evaluaron el efecto protector de los estrógenos sobre la fractura, viendo que en mujeres fumadoras se eliminaba este efecto.

Tampoco en la parte que evaluaba a los varones del estudio Dubbo (Nguyen et al., 1996) se encontró que el tabaco incrementara el riesgo de fractura, pero su consumo se asoció a una menor DMO.

Otro estudio con resultados negativos es el publicado por Turner y col. (Turner et al., 1998). Este estudio evaluó a 953 mujeres de edad igual o superior a 50 años, a las que se les realizó una encuesta epidemiológica. Sus resultados pueden deberse a la definición de fumadoras y ex-fumadoras, ya que para ello solo hacía falta haber fumado 100 cigarrillos a lo largo de la vida de las encuestadas.

3.5.2. Estudios de densidad mineral ósea

Uno de los objetivos en el estudio de la osteoporosis es la identificación de aquellos pacientes con mayor riesgo de sufrir fracturas, y el encontrar un método incruento que nos de esta información. El mejor predictor del riesgo de fractura es la densidad mineral ósea. Su medición por técnicas de absorciometría de doble haz de rayos X ha mostrado una buena correlación con el riesgo de fractura (Ross, 1996; Melton, 1993; Nevitt et al., 1994; Cummings y Black, 1995), tanto en hombres como en mujeres (Melton et al., 1998), siendo hoy en día el mejor método disponible para evaluar esta condición, por lo que muchos de los estudios se basan en mediciones densitométricas. Existen numerosos estudios epidemiológicos que asocian el hábito tabáquico con el riesgo de osteoporosis y de fracturas vertebrales, de antebrazo y muñeca, aunque no todos los investigadores encuentran esta relación. Entre ellos, Mc Dermott y Witte (Mc Dermott y Witte, 1988) usando absorciometría fotónica simple en radio no encuentran diferencias entre fumadores y no fumadores, tanto en hombres como en mujeres. La crítica que se podría hacer de este trabajo estriba en el uso de una técnica de absorciometría simple y en que las mediciones se hacen sólo en hueso trabecular. No obstante, en otros trabajos que

identifican factores preventivos y de riesgo de osteoporosis, el tabaco tampoco alcanzó significación como factor de riesgo (Elders et al., 1989; Erdsieck et al., 1994; Johnell et al., 1995). Las mujeres fumadoras del estudio MEDOS (Johnell et al., 1995) no tenían un mayor riesgo de fractura que las no fumadoras tras ajustar por índice de masa corporal, consumo de alcohol, te y café e ingesta de calcio, pero los propios investigadores del estudio advierten que el pequeño porcentaje de fumadoras y la mortalidad podrían haber influido en la falta de significación. Tampoco se había encontrado evidencia de una relación del tabaco con la masa ósea en otros trabajos (Johnell et al., 1984; Cox et al., 1991; Daniel et al., 1992), por lo que el debate acerca del efecto dañino del tabaco sigue abierto.

No obstante, la mayoría de estudios, tanto transversales como de diseño prospectivo, apuntan a la existencia de una relación probablemente directa entre tabaco y pérdida de masa ósea. Incluso se ha implicado en la adquisición de la masa ósea pico (Välimäki et al., 1994), asociándose menor masa ósea femoral en varones fumadores, y siendo predictor independiente en varones del pico de masa ósea en cuello femoral y en columna lumbar.

Previamente a los estudios densitométricos, existe un trabajo que determinó el contenido mineral óseo a nivel radial usando una gammacámara. El contenido mineral fue menor en varones y mujeres fumadoras que en controles no fumadores (Holló et al., 1979).

La diabetes es un factor de riesgo de osteoporosis, por lo que los diabéticos fumadores deberían tener aún mayor pérdida de masa ósea. Un estudio que midió el contenido mineral óseo en ambos antebrazos en diabéticos insulino dependientes usando absorciometría fotónica, encontró que el hábito de fumar se asociaba a una mayor pérdida de masa ósea (Mc Nair et al., 1980).

Similares resultados se encontraron en mujeres que tuvieron menopausia precoz al realizar mediciones de contenido mineral óseo en tercera vértebra lumbar utilizando absorciometría dual, aunque las diferencias no fueron significativas (Lindquist et al., 1981). Sin embargo, en este trabajo no se encontraron diferencias entre fumadoras y no fumadoras en mujeres premenopáusicas y en menopáusicas no precoces.

Mellström y col., hicieron medición densitométrica con absorciometría dual en talón a 449 varones suecos de 70 años (Mellström et al., 1982), y a 331 a los 5 años. La DMO

fue menor en fumadores a los 70 y a los 75 años. Estas diferencias se mantuvieron significativas tras ajustar por peso y número de sujetos con gastrectomía parcial.

Un estudio prospectivo que evaluó la DMO en radio y columna en 84 mujeres peri y postmenopáusicas sanas, con un seguimiento de 3 años y medio, encontró que el hábito tabáquico se asociaba a una menor DMO cuando se fumaban alrededor de 28 cigarrillos al día. En cambio, las fumadoras de 7 cigarrillos de media al día no tenían diferencias con las no fumadoras. La relación entre el tabaco y la menor DMO fue independiente de la edad y la adiposidad (Slemenda et al., 1989)

Los estudios en gemelos confirman los resultados anteriores, ya que permiten obviar las posibles influencias genéticas sobre la masa ósea, y por tanto, los factores que se encuentra influyen en la DMO adquieren mayor relevancia. El primero de ellos (Pocock et al., 1989) comparó la DMO en columna y fémur, medida por absorciometría fotónica dual, y el contenido mineral óseo en antebrazo, medido por técnica fotónica simple. Se encontraron diferencias en columna lumbar y fémur proximal, y se estimó que las diferencias encontradas eran equivalentes a la pérdida producida por 3 o 4 años de postmenopausia.

Krall y Dawson-Hughes (Krall y Dawson-Hughes, 1991) estudiaron los efectos del tabaco sobre la densidad mineral ósea y la absorción de calcio. Se realizaron medidas de DMO a 320 mujeres que tenían una ingesta diaria de calcio baja, dividiéndolas en 3 grupos a los que se asignaron suplementos de calcio o placebo. Las mediciones de DMO se realizaron al inicio del estudio y en los años 1 y 2 de seguimiento con absorciometría dual. Las mujeres fumadoras tenían menor DMO, que aunque no fue significativa en ninguna localización, sí se encontró que los paquetes/año predecían de forma significativa la DMO radial al inicio del estudio, independientemente del índice de masa corporal y de los años de menopausia. Además, en la localización radial, la media de pérdida ósea anual fue mayor en fumadoras. Este estudio administró Ca marcado de forma cruzada a 66 voluntarias, viendo que las fumadoras tenían una media mayor en suero de fosfatasas alcalinas, y menor calcio total e ionizado, así como menor capacidad de retención del Ca administrado. Por tanto, la pérdida de masa ósea podría ser consecuencia de un efecto negativo del tabaco en la absorción de calcio.

Hansen et al. (Hansen et al., 1991), en un estudio en el que incluyen a 121 mujeres postmenopáusicas sanas a las que se realiza un seguimiento durante 12 años, encuentran que fumar se asocia a un descenso de la densidad mineral ósea en tres localizaciones

femorales medida por DXA. Estas diferencias se mantienen tras ajustar el hábito de fumar por peso, altura y hábitos de las participantes en el estudio.

Un estudio realizado en 100 mujeres premenopáusicas encuentra diferencias en la DMO en radio entre fumadoras y no fumadoras (Mc Culloch et al., 1991). Este trabajo utiliza tomografía computerizada para medir la DMO y encuentra diferencias en la DMO entre mujeres no fumadoras, fumadoras moderadas y fumadoras severas. Al ajustar por edad e índice de masa corporal, la pérdida de DMO se correlacionó con los paquetes/año.

Slemenda y col. (Slemenda et al, 1992) estudiaron distintos factores ambientales y genéticos en un seguimiento en gemelos varones a lo largo de 16 años, a los que se realizó medición de DMO en radio distal por absorciometría fotónica simple en los años 0 y 16 del estudio. Entre los factores que determinaron la pérdida de masa ósea en este periodo, el tabaco se reconoció como predictor independiente, existiendo relación con el número de cigarrillos fumados por día.

Bauer y col. (Bauer et al., 1993) estudiaron diferentes factores que podían asociarse con la masa ósea apendicular en mujeres postmenopáusicas. Realizaron medidas densitométricas con absorciometría simple en radio y calcáneo a 9.704 mujeres de edad igual o superior a 65 años. Entre otros factores, el hábito tabáquico se asoció a menor masa ósea. Tras ajustar por edad y peso, las fumadoras actuales tuvieron un 4.3% menos de masa ósea en radio distal, y las ex-fumadoras un 1.7%. La cantidad de tabaco fumada, en paquetes/año, se asoció con menor masa ósea en calcáneo.

Hollenbach y col. (Hollenbach et al., 1993) encontraron que los sujetos fumadores tenían menor densidad ósea medida en cadera tras ajustar por edad, consumo de alcohol, índice de masa corporal, tratamiento antihipertensivo y realización de ejercicio físico. La menor DMO se mantenía al evaluar el cuello femoral y área intertrocanterea en varones, mientras que en mujeres se mantenía en todos los sitios evaluados. No encontraron diferencias en otras localizaciones. A nivel femoral se observó una relación dosis-dependiente en la medición total de cadera y en área intertrocanterea. Tras un seguimiento de 16 a 18 años, el tabaco predijo de forma significativa una baja DMO en cadera, y se encontró una relación dosis-dependiente en columna vertebral. También demostraron que el cese del hábito tabáquico es beneficioso, ya que enlentece la pérdida de masa ósea.

Nguyen y col. (Nguyen et al., 1994) midieron la DMO en columna lumbar y fémur proximal en 709 varones y 1.080 mujeres de más de 60 años. El consumo de tabaco se

asoció a una reducción de la DMO en las dos localizaciones, y su efecto fue independiente de la ingesta de calcio y del peso corporal. Tras ajustar por edad, peso, altura e ingesta de calcio, aquellas mujeres que nunca habían fumado tenían una DMO lumbar un 4.1% mayor que las fumadoras de 20 paquetes/año. Un grupo de ex-fumadores varones tuvo valores intermedios entre los fumadores y los no fumadores, lo que indica que las alteraciones producidas por el tabaco en la DMO podrían ser reversibles.

Otro de los trabajos en gemelas fue realizado en 1994 (Hopper y Seeman, 1994). En éste, se evaluó la densidad mineral ósea (DMO) en parejas de gemelas, unas fumadoras y otras no fumadoras. Se encontró un déficit de DMO de un 5 a un 10 % en las fumadoras. Además, por cada 10 paquetes/año, el déficit de DMO se incrementó en un 2% en la columna lumbar y cerca de un 1% en fémur, y al alcanzar los 20 paquetes/año el déficit fue del 5 y 10% respectivamente. Esto apoya la idea de que el efecto es dosis-dependiente.

En España se realizó un estudio en 101 mujeres premenopáusicas (Ortego-Centeno et al., 1994), 47 de las cuales eran fumadoras. Se midió la DMO con absorciometría de doble haz a nivel lumbar y femoral. Las fumadoras tenían una DMO inferior a las no fumadoras en cuello femoral, región intertrocantérea y triángulo de Ward, sobre todo cuando fumaban más de 20 cigarrillos al día.

Glynn y col. (Glynn et al., 1995) midieron la DMO femoral a 523 varones mayores de 50 años con absorciometría de doble haz de rayos X. Los sujetos fumadores tendían a tener una DMO más baja, aunque los resultados no fueron significativos. La cantidad de paquetes/año se asoció con menor DMO. La falta de asociación significativa entre tabaco y DMO baja puede deberse a que sólo un 9% de los sujetos examinados eran fumadores.

El estudio Dubbo fue diseñado para conocer la incidencia de fracturas, los factores de riesgo de osteoporosis y las DMO de la población (Nguyen et al., 1996). Los resultados en hombres de edad avanzada muestran que el tabaco no se asoció a un incremento en el riesgo de fracturas, pero sí se asoció a un descenso de la DMO.

El alcohol es un factor de riesgo conocido de osteoporosis, y su asociación con el tabaco puede incrementar este riesgo. Un estudio en mujeres premenopáusicas alcohólicas (Clark y Sowers, 1996), con edades comprendidas entre 20 y 40 años, mostró que las mujeres bebedoras tenían menor DMO que las controles. No obstante, el 86% de la

mujeres enólicas eran fumadoras, por sólo el 44% de las controles. Cuando se agruparon los casos y controles en parejas concordantes para el hábito tabáquico, las diferencias en la DMO disminuyeron, perdiendo la significación estadística.

En un estudio en población anciana que realizó mediciones en cadera, columna y radio con absorciometría simple y de doble haz, se encontró que el consumo de tabaco en los varones se asociaba a una menor DMO con independencia del peso y del consumo de alcohol y cafeína (Kiel et al., 1996). Además, el efecto era dosis-dependiente aumentando las diferencias cuando los sujetos eran fumadores de más de 10 años. En mujeres, en cambio, el tabaco sólo se asoció a menor DMO cuando éstas tenían historia de consumo de estrógenos.

Otro trabajo realizado en población de edad avanzada encontró que, en varones, la DMO lumbar de los fumadores era un 7.3% más baja que la de los no fumadores (Egger et al., 1996), y del 7.7% en mujeres. En cuello femoral, las diferencias no alcanzaron significación estadística. Las diferencias entre grupos aumentaban por cada 10 años de consumo de tabaco. Las diferencias entre fumadores y no fumadores se obtuvieron tras ajustar por edad, peso, consumo de calcio y actividad física, y además por los años de menopausia en mujeres.

En Italia (Franceschi et al., 1996), se evaluaron los factores que influían en la DMO lumbar de 1.373 mujeres de 40 a 64 años. El efecto del tabaco fue evidente cuando fumaban más de 15 cigarrillos al día, con independencia del peso. No obstante, esta asociación se perdía cuando las mujeres eran postmenopáusicas.

Otro trabajo evaluó a 1.303 varones hawaianos de ascendencia japonesa a los que se realizaron siete mediciones densitométricas en radio distal y proximal y en calcáneo, a intervalos de uno o dos años (Vogel et al., 1997). Los fumadores tenían mayor índice de pérdida de DMO que los no fumadores en todas las localizaciones y, de forma significativa, en radio distal para los fumadores de más de un paquete de cigarrillos diario.

Existen también estudios en varones jóvenes. Ortego Centeno y col. (Ortego Centeno et al., 1997), en nuestro país, compararon la DMO de jóvenes varones fumadores y no fumadores en varias localizaciones, medida por absorciometría de doble haz de rayos X. Se encontraron diferencias significativas en todas las localizaciones entre aquellos que fumaban más de 20 cigarrillos al día y los no fumadores. No obstante, las diferencias

desaparecían al comparar no fumadores con fumadores de menos de 20 cigarrillos al día, lo que indica un efecto dependiente de la dosis.

En un trabajo publicado el mismo año, se encontró un efecto negativo del tabaco en mujeres danesas perimenopáusicas (Brot et al., 1997). Se estudiaron 433 mujeres que tenían amenorrea desde hacia 3 a 24 meses. Ochenta y siete de dichas mujeres fueron seguidas durante un periodo de dos años. Se realizó medición del contenido mineral óseo (CMO) total con absorciometría dual al inicio del estudio y en los años primero y segundo. Entre otras variables, fumar más de 15 cigarrillos al día se asoció con un menor CMO. Además, las fumadoras eran más delgadas, tenían menos masa ósea total y tuvieron menor número de años fértiles, con menopausia más precoz que las no fumadoras. En el análisis de regresión múltiple el tabaco se mantuvo como factor de riesgo. En el estudio longitudinal sólo la pérdida de peso se asoció significativamente a la pérdida de masa ósea.

Este último término si pudo ser demostrado en población anciana. En el estudio de Rotterdam (Burger et al., 1998), se siguieron a 1.856 varones y a 2.452 mujeres de 55 o más años durante un periodo de 5 años. Se determinó la DMO por absorciometría de doble haz de rayos X en tres localizaciones femorales. La pérdida de masa ósea se asoció significativamente al consumo de tabaco en hombres y mujeres ajustando por edad, índice de masa corporal, ingesta de calcio, calorías y alcohol y por el grado de incapacitación.

Recientemente se ha comunicado menor crecimiento y menor DMO en niños de 8 años que habían nacido a término y cuyas madres habían fumado durante la gestación (Jones et al., 1999). La DMO se midió con un densitómetro con doble haz de rayos X, en columna lumbar, cuello femoral y corporal total. La menor DMO se mantuvo para columna y cuello femoral tras ajustar por altura y peso. La cantidad de cigarrillos fumados por la madre no influyó en los resultados, pero las madres fumadoras tenían placentas de menor peso que las no fumadoras, y tras ajustar por el peso de la placenta no habían diferencias, por lo que el menor peso y la menor DMO encontrada podría estar mediada por alteraciones en la funcionalidad placentaria. En este sentido, otro estudio que realiza densitometría dual en recién nacidos a término encuentra que los niños de madres que han fumado durante la gestación tienen menor DMO que aquellos cuyas madres no habían fumado durante el embarazo (Godfrey et al., 2001).

El efecto del tabaco podría ser revertido por el tratamiento hormonal sustitutivo. Así, en un estudio en 153 mujeres postmenopáusicas divididas en fumadoras y no fumadoras, a las que se dividieron en grupos para recibir tratamiento con 1 o 2 mg de 17 betaestradiol o placebo, y que se siguieron durante 3 años (Bjarnason y Christiansen, 2000), se demuestra un descenso en la DMO en mujeres fumadoras, pero este efecto deletéreo del tabaco se ve contrareestado en el grupo que recibió tratamiento con 2 mg de estradiol. Además, en este trabajo se encuentra una disminución en los marcadores de formación en fumadoras con respecto a no fumadoras.

Un estudio en 2.015 mujeres menopáusicas recientes, de 45 a 58 años de edad encuentra que las fumadoras tienen menor DMO que las no fumadoras, con diferencias significativas en columna, cuello femoral y corporal total (Hermann et al., 2000). Dichas diferencias se mantienen tras ajustar por edad, y en el caso de cuello femoral y corporal total, también tras ajustar por peso. Los autores determinan el efecto de las dosis acumuladas de tabaco en la edad premenopáusica, concluyendo que el efecto del tabaco sobre la masa ósea se debe a un efecto combinado entre la reducción de la masa corporal, el efecto sobre la masa grasa y otros factores como la reducción de la 25 hidroxivitamina D.

En el año 2000 se publicó una nueva aportación del estudio Framingham (Hannan et al., 2000), destinado a evaluar los factores que producían pérdida de masa ósea en población anciana durante un seguimiento de 4 años. Se realizó medición de DMO a 800 hombres y mujeres con absorciometría simple en radio y con absorciometría dual en el resto de localizaciones. Los varones fumadores tuvieron una mayor pérdida de DMO en trocánter con respecto a aquellos que nunca habían fumado.

Finalmente, una nueva aportación en este sentido, son los resultados obtenidos por el grupo de estudio de la terapia con raloxifeno en mujeres osteoporóticas postmenopáusicas (Chapurlat et al., 2001). En este estudio, las mujeres fumadoras tenían menor DMO a nivel trocántereo que las no fumadoras, si bien no ajustan las diferencias obtenidas por las diferencias de edad e IMC entre ambos grupos.

Pero, sin lugar a dudas, los metaanálisis, al recopilar y analizar un gran número de estudios con las características y poder estadístico suficientes, son el tipo de trabajos que pueden aportar la información más real acerca del tema objeto de estudio. En 1997, Law y Hackshaw publican un metaanálisis realizado para estudiar la importancia del

tabaco en la DMO y el riesgo de fractura (Law y Hackshaw, 1997). Anteriormente hemos visto en el apartado referente al riesgo de fracturas que fumar se asoció a un incremento del riesgo. Con respecto a la DMO, se evaluaron 29 trabajos de corte transversal, que incluían a 2.156 fumadores y 9.750 no fumadores. Tras ajustar por edad, se concluye que en mujeres premenopáusicas no existen cambios en la DMO, pero en postmenopáusicas la pérdida de DMO se incrementaba en un 2% por década en las mujeres fumadoras.

Más recientemente, Ward y Klesges se plantean un nuevo metaanálisis para mejorar algunos aspectos en el planteamiento del anterior (Ward y Klesges, 2001). Las hipótesis supuestas son que existe una asociación inversa entre tabaco y masa ósea, que es dosis-dependiente, que tiene mayores efectos en gente mayor, que los ex-fumadores tienen una masa ósea intermedia entre fumadores activos y no fumadores, y que al corregir por posibles factores confusionales las diferencias entre fumadores y no fumadores disminuyan pero no se negativicen. Para confirmar estas hipótesis se incluyeron 86 estudios independientes, con un total de 40.753 individuos, de los cuales 30.293 eran mujeres y 10.460 varones. Estos se dividieron en dos formas de comparaciones, en 18.988 participantes se realizó una comparación por exposición continua, y en los 21.765 restantes se realizaron comparaciones entre fumadores activos (4.305 participantes) y no fumadores o exfumadores (17.460 participantes). Los resultados de este metaanálisis confirman todos los supuestos. Los fumadores tenían una masa ósea significativamente disminuida comparada con los no fumadores (ex-fumadores o nunca fumadores), en todos los lugares de medición (cadera, columna lumbar, antebrazo y calcáneo). Estos efectos fueron mayores en los varones y en los ancianos y fueron dosis-dependientes. En los estudios prospectivos, se comprobó que la pérdida de masa ósea a través del tiempo es mayor en fumadores que en no fumadores. Estas diferencias se mantenían tras ajustar por edad y diferencias de peso entre los dos grupos. También se confirmó la hipótesis del beneficio del abandono del hábito tabáquico, puesto que los ex-fumadores tuvieron unos resultados intermedios entre fumadores activos y no fumadores. Según los datos de este metaanálisis se estima que fumar incrementa el riesgo de fractura vertebral en un 13% en mujeres y en un 32% en varones, y el riesgo de fractura de cadera en un 31 % y un 40% respectivamente.

3.5.3. Estudios hormonales

Anteriormente hemos visto como el tabaco tiene efectos inhibitorios sobre determinados enzimas, y que produce alteraciones en el metabolismo estrogénico hepático que se manifiestan como alteraciones en la excreción de estrógenos urinarios o en sus niveles séricos en mujeres. Pero los efectos del tabaco sobre el metabolismo hormonal no se limitan a la afectación estrogénica. En uno de los estudios sobre los efectos del tabaco en la masa ósea en gemelas (Hopper y Seeman, 1994), el hábito de fumar se asoció positivamente con los niveles de FSH y LH, y negativamente con los de PTH, así como con niveles más altos de calcio en suero. En un estudio realizado en 290 mujeres de edades comprendidas entre 38 y 49 años, que no tenían histerectomía ni ooforectomía, el aumento de FSH asociado al tabaco fue del 66% en fumadoras activas y del 39% en fumadoras pasivas. Además, el aumento de FSH por cada año de edad es mayor en fumadoras (Cooper et al., 1995). Previamente, se había descrito un aumento de androstendiona en mujeres fumadoras con y sin cáncer de endometrio (Austin et al., 1993). En mujeres postmenopáusicas fumadoras se encontraron niveles mayores de dehidroepiandrosterona sulfato (DHEAS) y androstendiona, diferencias que se mantenían tras ajustar por edad e índice de masa corporal (Khaw et al., 1988). Estos resultados se confirman por otros autores (Lee Cassidenti et al., 1992), manteniéndose tras ajustar por edad, años de menopausia, peso, altura y consumo de alcohol. En mujeres premenopáusicas, se ha descrito un aumento en la concentración sérica de estradiol y SHBG en fumadoras, así como un descenso en la de testosterona libre (Ortego-Centeno et al., 1994), resultados contradictorios con los obtenidos en un reciente trabajo en mujeres jóvenes, en el que el consumo de cigarrillos durante la adolescencia se asoció positivamente con los niveles de testosterona a los 21 años (Martin et al., 2001).

En varones, se ha estudiado el efecto del tabaco sobre los niveles séricos de distintas hormonas con resultados dispares. Se han documentado aumentos en los niveles de testosterona y andrógenos adrenales (Barrett-Connor y Khaw, 1987; Dai et al., 1988) y en los niveles de estradiol en varones fumadores (Barrett-Connor y Khaw, 1987; Lindholm et al., 1982; Klaiber et al., 1984). Los aumentos de los niveles séricos de estradiol persisten tras ajustar por peso (Lindholm et al., 1982), consumo de alcohol (Klaiber et al., 1984), edad e índice de masa corporal (Barrett-Connor y Khaw, 1987). No obstante, en otros estudios se ha encontrado una discreta disminución aunque con diferencias no significativas (Ortego Centeno et al., 1997; Small et al., 1985).

Lo mismo ocurre con los niveles séricos de DHEAS. Si bien diversos estudios muestran aumentos de DHEAS en varones fumadores (Barrett-Connor et al, 1986; LaCroix et al., 1990; Salvini et al., 1992), Ortego Centeno y col. (Ortego Centeno et al., 1997), evaluando varones jóvenes, encuentran que los fumadores tienen significativamente niveles más bajos que los no fumadores.

Existen pues, algunas discrepancias en cuanto a los efectos del tabaco sobre los niveles de hormonas esteroideas. Por otra parte, los niveles de testosterona biodisponible, estradiol biodisponible y estradiol total se han correlacionado con una mayor DMO en varones y mujeres de edad avanzada, sin que exista esta relación para la testosterona total, dehidrotestosterona, DHEA y DHEAS (Greendale et al., 1997). Otro estudio en varones ancianos, mostró una correlación positiva entre DMO y estradiol y negativa entre DMO y testosterona, pero al corregir por edad y SHBG sólo se mantuvo la primera relación (Slemenda et al., 1997), lo que indica la importancia de los estrógenos en el mantenimiento de la masa ósea en los varones.

También la 25 hidroxivitamina D puede tener un papel en el mantenimiento de la DMO. Se ha documentado una mayor pérdida de masa ósea en cadera en pacientes postmenopáusicas con niveles bajos de esta hormona (Stone et al., 1998). Un estudio danés realizado en 510 mujeres perimenopáusicas de 45 a 58 años, demostró que las fumadoras tienen menores concentraciones séricas de 25 y 1,25 vitamina D, así como menores niveles de PTH (Brot et al., 1999), diferencias que se mantienen al corregir por factores confusionales como el consumo de alcohol, o la ingesta de calcio y cafeína. En un estudio posterior del mismo grupo ampliado a 2.015 mujeres perimenopáusicas (Hermann et al., 2000), se corrobora un descenso de 25 hidroxivitamina D en fumadoras. Este descenso en los niveles de 25 D y PTHi también ha sido descrito en mujeres postmenopáusicas osteoporóticas fumadoras (Chapurlat et al., 2001).

Si el tabaco, como hemos visto, aumenta los niveles de testosterona y estradiol, y éstos se correlacionan con una mayor DMO, lo lógico sería que fumar aumentara la DMO, lo cual se ha comprobado que no es así. Es probable, pues, que la inhibición del complejo enzimático aromatasa a nivel local, la estimulación de la 2-hidroxilación del estradiol (Michnovicz et al., 1989), y otros mecanismos aún no aclarados deben influir en los efectos derivados del tabaquismo sobre la masa ósea.

La leptina es una hormona producto del gen de la obesidad (OB) (Zhang et al., 1994) secretada principalmente por los adipocitos. Su función principal es la regulación del balance energético, existiendo una asociación positiva entre los niveles séricos de leptina y la obesidad en humanos (Maffei et al., 1994). Los niveles plasmáticos de leptina son menores en los varones que en las mujeres (Wei et al., 1997), existen diferencias étnicas (Wei et al., 1997) y se asocian positivamente con el IMC, la edad (Wei et al., 1997) y los niveles plasmáticos de insulina (Mantzoros et al., 1998; Donahue et al., 1999). Además, son susceptibles de alteración por la influencia de factores externos, habiéndose descrito disminuciones en su concentración sérica con el consumo de tabaco (Wei et al., 1997; Mantzoros et al., 1998; Donahue et al., 1999) y alcohol (Wei et al., 1997; Mantzoros et al., 1998; Donahue et al., 1999). Los cambios producidos por el tabaco son independientes de los niveles de insulina y se mantienen tras ajustar por edad, sexo y etnia (Donahue et al., 1999). Se ha comunicado que disminuir el consumo de tabaco en medio paquete de cigarrillos al día aumenta los niveles de leptina en 1,11 ng/ml (Mantzoros et al., 1998). No obstante, otros autores no encuentran relación entre fumar y consumo de alcohol con los niveles de leptina (Lagiou et al., 1999), y otros describen un aumento de los niveles de leptina en fumadores (Eliasson et al., 1999), hecho que atribuyen a que su muestra no es heterogénea en grado de obesidad y prevalencia de fumadores y diabetes. Finalmente, otro grupo describe que los fumadores tienen mayor cociente leptina/Kg de peso que los no fumadores (Nicklas et al., 1999). Los valores séricos de leptina determinados en ex-fumadores en algunos de estos trabajos son dispares, encontrándose niveles intermedios entre los de los fumadores y los de los no fumadores (Wei et al., 1997), observándose una tendencia a disminuir el cociente leptina/Kg de peso, con desaparición de las diferencias existentes entre fumadores y no fumadores (Nicklas et al., 1999), o bien produciéndose un aumento en los niveles de leptina, hecho atribuido al aumento de peso y de grasa corporal que se produce al dejar de fumar (Eliasson et al., 1999).

El interés de la leptina en el estudio de la osteoporosis radica en varios puntos. Por un lado, la secreción de leptina puede estar regulada por las hormonas esteroideas, habiéndose descrito una correlación inversa entre los niveles de leptina y testosterona (Mantzoros et al., 1998; Luukkaa et al., 1998; Lagiou et al., 1999;) y dihidrotestosterona (Lagiou et al., 1999), y positiva con los niveles de estradiol (Lagiou et al., 1999). En segundo lugar, se ha descrito una asociación positiva entre los niveles de leptina y la

DMO en mujeres postmenopáusicas (Goulding et al., 1998), premenopáusicas (Iwamoto et al., 2000), en niñas no obesas con pubertad precoz (Ibañez et al., 2000) y en mujeres australianas no obesas de todas las edades (Pasco et al., 2001). También se ha descrito una asociación positiva con los niveles de fosfatasa alcalina y negativa con los de desoxipiridolina (Iwamoto et al., 2000). No obstante, la correlación con la DMO no se ha podido demostrar en otros estudios en mujeres pre y postmenopáusicas (Rauch et al., 1998; Martini et al., 2001) ni en niños prepuberales o al inicio de la pubertad (Klein et al., 1998), y en el trabajo de Goulding y col, aunque sí existe esta asociación, no se encuentra correlación entre los niveles de leptina y distintos marcadores bioquímicos de remodelado óseo (Goulding et al., 1998). Por otro lado, los niveles séricos de leptina fueron similares en un grupo de mujeres postmenopáusicas con y sin osteoporosis (Odabasi et al., 2000). En tercer y último lugar, la leptina puede jugar un importante papel en la regulación del remodelado óseo a través de su acción en el hipotálamo (Ducy et al., 2000), en la médula ósea, donde favorece la diferenciación de células estromales a osteoblastos (Thomas et al., 1999) y a nivel del mismo osteoblasto, en donde se ha descrito la presencia de receptores (Reseland et al., 2001).

3.5.4. Estudios con marcadores de remodelado

Pocos trabajos han evaluado la influencia del tabaco en los marcadores de remodelado óseo. Ortego-Centeno y col. (Ortego-Centeno et al., 1994) no encuentran diferencias entre fumadoras y no fumadoras en un grupo de mujeres premenopáusicas en los niveles séricos de osteocalcina ni en la excreción de hidroxiprolina urinaria. Tampoco encuentran diferencias en varones (Ortego-Centeno et al., 1997).

En el estudio en gemelas de Hopper y Seeman (Hopper y Seeman, 1994) no se encuentran diferencias en los niveles de osteocalcina en suero ni en la excreción de piridinolina e hidroxiprolina en orina. No obstante, en 17 pares de gemelas, las diferencias en las concentraciones de calcio sérico se asociaron positivamente con diferencias en la excreción urinaria de hidroxiprolina en orina, lo que es consistente con un incremento de la reabsorción ósea.

En Italia se realizó un trabajo para estudiar las relaciones entre la BMD apendicular y distintos marcadores bioquímicos (Mariconda et al., 1997). En él, el tabaco no se asoció a cambios en la DMO medida a nivel radial, aunque se demostró una asociación positiva con los niveles séricos de osteocalcina. Los autores de este estudio comparan

sus resultados con los del anterior, y explican las diferencias entre ambos por haber utilizado diferentes técnicas en la medición de la osteocalcina.

En mujeres perimenopáusicas fumadoras, se ha evaluado la respuesta de los marcadores de remodelado al tratamiento hormonal sustitutivo. Se han encontrado niveles inferiores de marcadores de formación (fosfatasa alcalina y osteocalcina) y de resorción (ICTP) en aquellas que tomaban tratamiento hormonal sustitutivo, lo que refleja una menor velocidad de remodelado y quizás una menor pérdida de hueso en estas mujeres (Cubrilo-Turek et al., 1998). Un descenso en los niveles de osteocalcina se encuentra también en otros estudios (Brot et al., 1999; Hermann et al., 2000).

Un descenso de un 10% en los marcadores de formación fue encontrado en fumadoras, en un estudio realizado en 153 mujeres (Bjarnason y Christiansen , 2000). En este trabajo no se hallaron diferencias en los marcadores de resorción. Coincidiendo con estos autores, recientemente se ha comunicado un descenso en los niveles de osteocalcina en mujeres postmenopáusicas osteoporóticas fumadoras (Chapurlat et al., 2001). En este trabajo, también se encuentra un incremento en los niveles urinarios de C-telopéptido en fumadoras.

SUJETOS Y METODOS

1. Sujetos

Se incluyeron en el estudio 68 voluntarios sanos, que se dividieron en sujetos objeto de estudio y grupo control según el hábito de fumar. Todos ellos fueron voluntarios sanos y firmaron un consentimiento informado.

Se realizó un diseño transversal comparativo con extracción de sangre y orina de dos horas entre fumadores y no fumadores, y un estudio longitudinal de fumadores que dejen el hábito. Previa a la extracción de muestras se realizó una encuesta epidemiológica (anexo I) y se calculó la ingesta de calcio (anexo II).

El cálculo del tamaño muestral se realizó aceptando un riesgo alfa de 0.05 y un riesgo beta de 0.10 para un contraste bilateral. Para conseguir diferencias de 8 unidades en un marcador con unos valores medios de normalidad de 11.8 y una desviación estándar de 4.3, se precisan 24 voluntarios no fumadores y 8 fumadores. Para ello se ha aplicado la fórmula:

$$n_c = n_e = 2(z_\alpha + z_\beta)^2 \sigma^2 / \Delta^2$$

Donde n_c es el número de voluntarios del grupo control, n_e es el número de voluntarios fumadores, σ es la desviación estándar y Δ las diferencias a detectar.

Puesto que pueden existir diferencias entre hombres y mujeres, el grupo total se dividirá en dos subgrupos: varones y mujeres. En base a estas consideraciones, el tamaño muestral definitivo se debe duplicar. En total deberían incluirse 16 voluntarios fumadores que cumplan con el requisito de dejar de fumar (8 varones y 8 mujeres) y 48 voluntarios sanos no fumadores también agrupados en los dos subgrupos anteriores. En el caso de voluntarios fumadores que no consigan abandonar el hábito durante un mes, se analizarán solo en la comparación entre fumadores y no fumadores.

2. Criterios de inclusión y criterios de exclusión

2.1. Criterios de inclusión

1- Grupo de fumadores:

Fumar más de 15 cigarrillos al día.

Compromiso de abandonar el hábito tabáquico sin utilización de parches o gomas de mascar conteniendo nicotina, ni de otros fármacos de ayuda al cese del tabaquismo.

Edad inferior a 45 años en varones y edad fértil en mujeres.

No cumplir ningún criterio de exclusión.

2- Grupo control

No haber fumado nunca.

No convivir con fumadores para eliminar fumadores pasivos.

Edad inferior a 45 años en varones y edad fértil en mujeres

No cumplir ningún criterio de exclusión.

2.2. Criterios de exclusión

Enfermedades endocrino-metabólicas que puedan alterar el metabolismo mineral y óseo, tales como enfermedad de Paget, hiperparatiroidismo y menopausia temprana por causas hormonales.

Antecedentes de gastrectomía o malabsorción.

Antecedentes de ingesta de fármacos como corticoesteroides o anticonvulsivantes por un período de más de 6 meses en cualquier periodo, y en ninguna cantidad en los últimos 6 meses.

Consumo de alcohol por encima de 60 g/día.

Tratamientos previos realizados durante al menos 6 meses en cualquier periodo, que sean capaces de alterar el metabolismo mineral u óseo, y en ninguna cantidad en los últimos 6 meses.

Alteraciones a nivel de la columna lumbar que no permitan la medición de la masa ósea en al menos dos vértebras comprendidas entre L1 y L4. La determinación de la DMO se realizará para descartar osteoporosis. Fueron excluidos aquellos sujetos con un Z-score mayor a - 2 desviaciones estándar en cuello femoral, fémur total o columna total.

3. Densitometría ósea

Se realizó medición de la masa ósea antes del inicio del estudio mediante densitometría ósea utilizando la técnica de absorciometría con doble fuente de rayos X, HOLOGIC QDR 4500®. La calibración del aparato y el control de calidad se realizó diariamente de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. Se realizó medición de la densidad mineral ósea (DMO) expresada en g/cm^2 a todos los participantes en el estudio. Las mediciones se realizaron en columna lumbar L1-L4, en fémur total y en cuello femoral. El coeficiente de variación de las determinaciones en nuestro laboratorio es de un 1.0% para columna lumbar y de un 1.65% para fémur total.

4. Análisis de laboratorio

4.1. Obtención de las muestras

La extracción de muestras de sangre y obtención de orina se realizó en ayunas, a primera hora de la mañana, y tras un mínimo de 7 horas de descanso nocturno. La primera orina de la mañana fue despreciada, al cabo de una hora se realizó la extracción de sangre y una hora más tarde se recogió la muestra de orina.

Se realizaron determinaciones analíticas al inicio del estudio en ambos grupos. Las muestras obtenidas en los voluntarios mujeres se recogieron siempre entre los 3 y 7 días de la fecha de la última regla para minimizar las variaciones hormonales sujetas al ciclo menstrual. A los voluntarios del grupo de fumadores que dejaron de fumar se les repitieron las determinaciones analíticas en el próximo ciclo menstrual en mujeres (28,62 (9,15) días) y al mes (33 (2,38) días) en varones.

Las muestras de sangre se obtuvieron por venopunción y se recogieron en tubos de bioquímica y hemograma. Se realizó protección de luz en los tubos destinados a determinaciones hormonales. Los tubos destinados a la determinación de parámetros bioquímicos y hormonales se remitieron a un laboratorio de referencia donde fueron procesados. Los destinados a la determinación de marcadores de remodelado óseo y leptina fueron centrifugados a 3000 r.p.m. durante 20 minutos a 4 °C. El suero obtenido fue alicuotado y almacenado a – 80 °C.

Las muestras de orina destinadas a la determinación de parámetros bioquímicos y hormonales fueron remitidas a un laboratorio de referencia para su procesamiento. La parte destinada para la determinación de marcadores bioquímicos de remodelado óseo fueron alicuotadas y almacenadas directamente a – 80 °C.

4.2. Técnicas de laboratorio

4.2.1. Bioquímica

Incluía los niveles plasmáticos de calcio, fósforo y magnesio. Se determinaron con kits comerciales de reactivo (Merck S.A.).

La calcemia se determinó mediante un autoanalizador discreto multiparamétrico Olympus AU 5231, por reacción de compleximetría con cresolftaleina complexona y

lectura a 570 nanómetros de longitud de onda. La sensibilidad de la técnica es de 0.1 mg/dl, con un coeficiente de variación intraensayo del 1.58% y un coeficiente de variación interensayo del 2.51%.

La fosforemia se determinó asimismo mediante un autoanalizador Olympus AU 5231, por reacción colorimétrica directa con fosfomolibdato y lectura a 340 nanómetros de longitud de onda. La sensibilidad de la técnica es de 0.1 mg/dl, y los coeficientes de variación intra e interensayo son del 0.75% y del 1.94% respectivamente.

La magnesemia se determinó mediante método colorimétrico, con punto final por extinción del azul de xilidil y lectura a 520 nanómetros de longitud de onda. La sensibilidad de la técnica es de 0.07 mg/dl, y los coeficientes de variación intra e interensayo son del 1.2% y del 1.4% respectivamente.

4.2.2. Hormonas sexuales

El balance metabólico se realizó según la técnica de Nordin, en sangre recogida en el minuto 60 de un período de 120 minutos en que se obtiene la segunda orina de la mañana con el paciente en ayunas. Los niveles de hormonas y de los marcadores de remodelado óseo se determinaron según las técnicas que se detallan a continuación:

- La FSH, la LH, la dehidroepiandrosterona sulfato, el 17-beta estradiol y la SHBG séricas se determinaron por quimioluminiscencia.
- La testosterona, la estrona, la androsterona y la dehidrotestosterona se determinaron por radioinmunoensayo (RIA).

Los métodos inmunológicos para cuantificar moléculas antigénicas proporcionan un alto grado de sensibilidad y especificidad, siendo ampliamente utilizadas en la práctica clínica para determinar la concentración de una gran variedad de hormonas y otras moléculas.

Todos los métodos inmunológicos modernos de cuantificación están basados en la medición de una molécula indicadora, generalmente un anticuerpo. Cuando esta molécula indicadora está marcada con un radioisótopo, ésta se puede cuantificar mediante contaje radioactivo en un contador de centelleo. En este caso, el ensayo se denomina radioinmunoensayo (RIA). Cuando la molécula indicadora está covalentemente unida a un enzima, ésta se cuantifica mediante determinación

colorimétrica o quimioluminiscente de la cantidad de sustrato metabolizado por dicho enzima. En este caso, el ensayo se denomina enzaimmunoensayo (ELISA). Esta última técnica se utilizó para la determinación de cortisol y leptina (apartado 4.2.3).

FSH, LH y 17-beta estradiol. Se determinaron por quimioluminiscencia, con un analizador Centauro (Bayer, Barcelona, España).

DHEAS y SHBG. Se determinaron por quimioluminiscencia, con un analizador IMMULITE-ONE de la casa Diagnostics Products Corporation (DPC-DIPESA, Los Angeles, CA).

Testosterona. Se determinó por RIA, con un contador Gamma Packard-Cobra de la casa Diagnostics Products Corporation (DPC-DIPESA, Los Angeles, CA).

Estrona, androstendiona y dehidrotosterona. Se determinaron por RIA, con un contador Gamma Packard-Cobra de la casa Diagnostic Systems Laboratories INC (Nuclear Ibérica SA, Madrid, España).

4.2.3. Otras hormonas

Hormonas tiroideas. Se determinaron por quimioluminiscencia, con un analizador Centauro (Bayer, Barcelona, España).

Cortisol. Se determinó por EIA, con un analizador Immuno 1 (Bayer, Barcelona, España).

Leptina. La determinación de leptina sérica se realizó por enzimoimmunoensayo (Quantikine[®], R & D Systems). Este ensayo emplea un anticuerpo monoclonal específico para leptina que ha sido incorporado en una microplaca. Las muestras a analizar son pipeteadas en los pocillos, con lo que la leptina presente en ellas es ligada por el anticuerpo inmovilizado en la placa. Tras el lavado de las sustancias no ligadas se añade a los pocillos un anticuerpo específico para leptina ligado a un enzima (sandwich

ELISA). Después de un nuevo lavado se añade un sustrato que produce una determinada intensidad de color proporcional a la cantidad de leptina de la muestra. Paralelamente se realiza el mismo procedimiento utilizando concentraciones conocidas de leptina para realizar una curva estándar, a partir de la cual se calcula la concentración de leptina de cada muestra.

Debido a que los niveles séricos de leptina en varones son inferiores a los de las mujeres, y que la cantidad mínima detectable es de 7.8 pg/ml., previamente a la determinación definitiva de las concentraciones séricas de leptina, se testaron distintas diluciones de algunas de las muestras, con el fin de determinar la mejor dilución a utilizar en el ensayo. Como resultado de este ensayo preliminar se decidió realizar menor dilución en las muestras procedentes de voluntarios masculinos. Así, las muestras de suero fueron diluidas 100 veces en el caso de las mujeres y 80 en el de los varones.

4.2.4. Eje PTH-vitamina D

Parathormona (PTH). La PTH intacta (PTH-I 1-84) se determinó mediante quimioluminiscencia, con un analizador IMMULITE-ONE de la casa Diagnostics Products Corporation (DPC-DIPESA, Los Angeles, CA). En este ensayo, un anticuerpo policlonal en fase sólida es coincubado con un anticuerpo policlonal marcado enzimáticamente y con la muestra de plasma. Después de un lavado se añade el sustrato quimioluminiscente. La cantidad de luminiscencia obtenida es directamente proporcional a la concentración de PTH intacta de la muestra.

El intervalo de normalidad de la técnica es de 9 a 51 pg/ml. El límite de detección es de 1 pg/ml, el coeficiente de variación intraensayo del 6.3% y el coeficiente de variación interensayo del 8.6%.

Hidroxicolecalciferol. La determinación de hidroxicolecalciferol (25 D) se ha realizado en tres pasos sucesivos: extracción rápida del 25 D y otros metabolitos de las muestras séricas, separación cromatográfica del 25 D de la del resto de metabolitos y posterior determinación mediante RIA por el Kit comercial Inestar de la casa Sorin.

El proceso de extracción rápida se realiza con acetonitrilo para cada muestra y con centrifugación a 1.200g durante 10 minutos para, posteriormente, recoger el sobrenadante. Este último es el que se somete a la separación cromatográfica.

La extracción se realiza a partir de un mililitro de muestra. La separación cromatográfica se efectúa mediante Sep-Pack C18 (Waters Millipore) y acetonitrilo como eluyente. Para el método de RIA se utiliza un anticuerpo bovino específico para 25 D y como trazador 25 D (26-27 metil H₂). Las muestras, anticuerpo y trazador son incubados una hora a 20-25° C. La separación de fases se realiza mediante charcoaldextrano. El estándar está valorado en 32 ng/ml y, como tampón, se utiliza fosfato 0.4 M a pH 10.5. El rango de concentraciones cubierto se establece, mediante una serie dilucional, a partir de este único estándar. Los valores obtenidos mediante RIA son corregidos debido a que los valores obtenidos inicialmente en ng/tubo se pasan a ng/ml. La expresión ng/tubo en el RIA es necesaria en principio ya que la determinación en este caso no es directa sino que se necesitan, previamente, técnicas de extracción y cromatográficas .

El intervalo de normalidad es de 8 a 80 ng/ml. La sensibilidad del RIA es de 2.78 ng/ml. El coeficiente de variación intraensayo es de 6.2 % y el coeficiente de variación interensayo es del 15.6 %.

Dihidroxicolecalciferol. La determinación de 1,25 dihidroxicolecalciferol (1,25 D) se analiza mediante tres pasos sucesivos: extracción, cromatografía y radioreceptorensayo (RRA), modificación del RIA que, en lugar de anticuerpos utiliza receptores específicos.

La extracción se inicia con 2 ml de suero y se añade, a cada muestra, un trazador denominado de recuperación con una actividad 10 veces menor que el utilizado en el RRA, de 0.036 μ Ci, que sirve para, al final de toda la técnica, saber el porcentaje de 1,25 D perdido en el proceso y así corregir el resultado final. Este método es práctica habitual siempre que se utilizan técnicas de cromatografía como separativas, y no como derivativas, para cuantificación. Para el proceso de extracción se utiliza sucesivamente Diclorometano/metanol (1/2), KOH 0.2M, diclorometano en proporción 1:1, y finalmente metanol/agua (1/1). Las muestras así extraídas se secan, dejándolas evaporar a 40°C bajo corriente de nitrógeno seco. En la cromatografía se utilizan columnas de vidrio para construir la columna cromatográfica propiamente dicha, con Sephadex LH-

20 (Pharmacia) y con altura de 16 ± 1 cm y diámetro de 1 cm. El eluyente que se utiliza es una mezcla de Hexano:Cloroformo:Metanol (vol 9:9:1). Este último eluyente se utiliza para resuspender el evaporado anterior del proceso de extracción con una cantidad de 3 ml. Este volumen se pasa por la columna y el eluido posterior (salida) se descarta. Se pasan 27 ml más del eluyente por la columna, que también se descartan. Estos descartes contienen 24,25 D y 25 D. Se vuelven a pasar 25 ml del eluyente, que se recogen en tubo de vidrio, y se evaporan a 40° C bajo nitrógeno seco. Este proceso se repite para cada muestra. Como último paso se determina la cuantificación por RRA si bien previamente se resuspenden los evaporados anteriores con acetonitrilo.

El receptor citosólico utilizado en el RRA se obtiene de intestino de pollo raquíptico y su función en el ensayo es la misma que la de un anticuerpo. Como marcador se utiliza 1,25 D (26-27 metil H_3), con actividad 10 veces mayor que la del marcador de recuperación (0.36 microCi) para que este último no interfiera en el ensayo. El estándar que se utiliza está valorado en 1.28 ng/ml, pero el rango cubierto en la curva es de 64 a 1 pg /tubo, debido a procesos de conversión (pg/ml a pg/tubo) y dilución. Se utiliza como tampón fosfato 0.05 M, con ClK 0.05 M a un pH de 7.4. La separación de fases se realiza por centrifugación con charcoal- dextrano.

El intervalo de normalidad es de 18 a 54 pg/ml. La sensibilidad del RRA es de 5 pg/ml. La constante de afinidad del receptor, determinada por análisis de Scatchard es de 0.019 nmols/litro⁻². El coeficiente de variación intraensayo es de 6.4 % y el de interensayo de 6.9%.

4.2.5. Marcadores bioquímicos de remodelado óseo

Fosfatasa ácida tartrato resistente. Se determinó por hidrólisis del p-nitrofenilfosfato a pH 4.8 (Li 1983). Se utilizó como tampón de trabajo acetato sódico 50 mM y tartrato sódico 10 mM ajustado a pH 4.8 mediante ClH 3.2 molar. La disolución del sustrato se realizó utilizando p-nitrofenilfosfato 5 mM disuelto en el tampón previamente descrito. Como disolución estándar se utilizó p-nitrofenol 1 mM. La solución estándar inicial se diluyó a 1/10 y a partir de esta dilución se realizó una curva a las siguientes concentraciones: 100 mM/tubo; 50mM/tubo; y 25mM/tubo. Se usó un blanco de reactivo y un blanco para cada muestra problema. La determinación se realizó en una

preincubación durante 5 ' a 37°C de 0.5 ml de disolución sustrato en cada tubo, incorporando después los estandars y las muestras problema de suero y se incubaron durante 60' a 37°C. La reacción se detuvo añadiendo a cada tubo 5 ml de (OH)Na 0,1 N. La lectura se realizó a 410 nm con un espectrofotómetro Beckman CS-700 con programa de ajuste de curvas y cálculo automático de resultados. Los resultados obtenidos en nm/01. ml, se multiplicaban por 10 y se dividían por 60 para obtener nm/ml/minuto, que son las Unidades Internacionales.

La sensibilidad de la técnica es de 10 nmol/100 µl, equivalente a 1.6 UI. El coeficiente de variación intraensayo es del 1.5% y el coeficiente de variación interensayo es del 3.9%.

Osteocalcina. También denominada proteína GLA ósea o BGP (Bone Gla Protein) se determinó por el Kit comercial de RIA – INCSTAR (diaSORIN, Madrid, España).

El estándar utilizado tiene una concentración de 25 ng/ml. El rango de diferentes concentraciones se obtiene mediante diluciones seriadas sucesivas, obteniéndose valores de 25, 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 y 0.78 ng/ml. Como estándar cero se utiliza el propio tampón de dilución, Borato-BSA. La separación de las fases libre y ligada se realiza mediante un segundo anticuerpo obtenido de la cabra, específico contra el primer anticuerpo, de conejo. Para favorecer la precipitación, este anticuerpo lleva añadido polietilenglicol.

Se realiza una incubación larga de 24 horas, a 4 ° C, con anticuerpo específico, marcador radioactivo, estándares, problemas y control. Posteriormente se realiza la separación de fases por centrifugación, una vez añadido el segundo anticuerpo, y se aspira el sobrenadante mediante bomba de vacío.

El intervalo de normalidad es de 1.8 a 6.6 ng/ml. La sensibilidad de la técnica es de 0.2 ng/ml, el coeficiente de variación intraensayo es de 6.1% y el coeficiente de variación interensayo es 11.3 %. El anticuerpo utilizado presenta una reacción cruzada del 100% con la osteocalcina humana.

N-telopéptido urinario. Su determinación en orina se realizó por enzimoimmunoensayo (Osteomark[®], Ortho-Clinical Diagnostics). Este ensayo utiliza microplacas con una fase sólida de NTx. El NTx existente en la muestra a analizar compete con esta fase sólida por un anticuerpo monoclonal marcado con peroxidasa. La cantidad de anticuerpo que

se une a la fase sólida es inversamente proporcional a la cantidad de NTx de la muestra. La cuantificación de la concentración de NTx en la muestra se determina por espectrofotometría y se calcula respecto a una curva de calibración estándar. Los valores del ensayo se corrigen según la dilución realizada y los niveles de creatinina urinaria de la muestra. El valor final de NTx es la media obtenida de dos determinaciones realizadas de la misma muestra. En aquellos casos en los que el coeficiente de variación es superior al 20%, la muestra se considera no válida. Su valor se expresa en nanomoles equivalentes de colágeno óseo por litro (nM BCE) por milimoles de creatinina por litro (nM Cr).

5. Dificultades y limitaciones del estudio

Las limitaciones estriban en la variabilidad inter e intraensayo de los distintos marcadores de remodelado óseo evaluados. Sin embargo, las diferencias esperables en las diferentes variables son de suficiente magnitud como para alcanzar significación estadística en base al tamaño muestral calculado. Por ello, el estudio nos permitirá conocer las variaciones producidas a nivel individual, y permitirá establecer una aproximación a los mecanismos fisiopatológicos de la acción del tabaco sobre el remodelado óseo.

Otra limitación es que la obtención de datos se limita a determinaciones en suero y orina, sin realizar estudio histomorfométrico, método aceptado como patrón de referencia en el estudio del remodelado óseo. Los participantes en el estudio son voluntarios sanos, no afectados de ninguna enfermedad metabólica ósea, por lo que la práctica de una biopsia ósea, técnica invasiva y no exenta de riesgos nos parece una actuación no aceptable desde el punto de vista ético. Además, hoy día existen marcadores de remodelado óseo que se correlacionan con gran exactitud con los cambios de remodelado y hacen obvia la biopsia ósea.

6. Estudio estadístico

El análisis de los resultados se realizó mediante un paquete estadístico SPSS-win ver.10 para Windows instalado en el Institut Municipal d'Investigació Mèdica de Barcelona.

Para la descripción de las variables cuantitativas se presentó la media y su desviación estándar, o alternativamente la mediana y los cuartiles 1 y 3. Las variables cualitativas se describen con la frecuencia observada y su porcentaje relativo al grupo de pertenencia.

Para el análisis bivariado se utilizó la prueba de Ji al cuadrado cuando ambas variables eran cualitativas, o con la prueba exacta de Fisher cuando no se cumplían las condiciones de aplicación. La relación entre una variable dicotómica y otra cuantitativa se analizó con la prueba de la t de Student, o alternativamente, cuando resultó difícil asumir el criterio de normalidad, con la prueba de la U de Mann-Whitney.

Para el análisis de los valores antes/después se utilizó el análisis de la varianza (ANOVA) para un diseño mixto de datos apareados (within) y grupos independientes (between).

Mediante un análisis de la covarianza (ANCOVA), el efecto entre grupos se ajustó por las variables que presentaron una asociación estadísticamente significativa, tanto con la variable dependiente como con los grupos.

Asimismo, dependiendo de la normalidad de las variables, se calcularon los índices de correlación de Pearson o de Spearman.

En todos los contrastes se consideró que se alcanzaba significación estadística cuando el valor de p fue inferior a 0.05.

7. Aspectos éticos

El presente estudio deberá estar sujeto a las consideraciones éticas de acuerdo con las recomendaciones de la declaración de Helsinki acerca de la investigación biomédica en humanos. Se adjuntará un consentimiento informado de cada voluntario participante donde se hará constar el objetivo del estudio (anexo III). Asimismo, los datos obtenidos del estudio no podrán ser utilizados por terceras personas sin el consentimiento escrito de los participantes.

RESULTADOS

Se incluyó en el estudio un total de 74 voluntarios sanos, en los que se había excluido cualquier condición que afectara el metabolismo óseo. De éstos, 22 (9 varones y 13 mujeres) eran fumadores activos de más de 15 cigarrillos al día, con una media de consumo de 22,58 (7,58) cigarrillos, y 52 (22 varones y 30 mujeres) eran no fumadores. De los voluntarios fumadores, 15 (7 varones y 8 mujeres) cumplieron el mes de abstinencia tabáquica.

1. Comparaciones basales

Los dos grupos fueron comparables en peso, talla, índice de masa corporal, consumo de alcohol, ingesta de lácteos, porcentaje de voluntarios que realizaban ejercicio físico y porcentaje de voluntarios que realizaban una exposición solar activa. En cambio, el grupo de voluntarios fumadores tenía una media de edad superior a los no fumadores y consumían una mayor cantidad de café diario (Tabla 1). Los mismos resultados se obtuvieron cuando se compararon los sexos por separado.

Tabla 1. Comparaciones basales entre casos y controles.

	Fumadores n = 22	No fumadores n = 52	p
Edad	35,67 (8,56)	30,79 (5,73)	0.021
Peso	67,04 (12,04)	65,65 (11,94)	ns
Talla	1,65 (6,94)	1,68 (7,96)	ns
IMC	24,46 (3,71)	23,16 (3,09)	ns
Ingesta de lácteos	1091,68 (558,56)	1019,19 (39,81)	ns
Consumo de alcohol	3,32 (5,78)	1,69 (5,54)	ns
Consumo de café	3,82 (2,78)	2,04 (1,24)	0.001
Ejercicio físico	7/22	21/52	ns
Exposición solar	10/22	23/52	ns

IMC: Índice de masa corporal. Los valores de edad, peso, talla, IMC, ingesta de lácteos y consumo de alcohol y café se expresan como media (DE), estando referidos al percentil 75 en el caso de los dos últimos. El ejercicio físico y la exposición solar se expresan en porcentaje. Edad (años); Peso (Kg); Talla (metros); IMC (Kg/m²);

2. Densidad mineral ósea

Los voluntarios fumadores tenían una menor DMO en las tres localizaciones estudiadas, aunque sólo en columna lumbar se alcanzó la significación estadística (982,32 (92,67) vs 1052,04 (95,09); $p = 0.006$). En el análisis separado por sexos, los varones fumadores tenían una menor DMO en columna lumbar que los no fumadores (970,67 (114,74) vs 1069,57 (98,40); $p = 0.042$). En cambio, en las mujeres no se observaron diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las tres localizaciones, aunque en columna lumbar se quedó muy cerca de la misma (990,38 (77,98) vs 1036,71 (91,38); $p = 0.062$) (Tabla 2).

Tabla 2. Comparaciones de densidad mineral ósea entre casos y controles.

		Columna lumbar	Fémur total	Cuello femoral
Fumadores	Totales	982,32 (92,67)*	953,18 (100,79)	825,00 (91,68)
	Varones	970,67 (114,74)**	977,67 (123,48)	818,00 (121,92)
	Mujeres	990,38 (77,98)	936,23 (82,78)	829,85 (68,82)
No fumadores	Totales	1052,04 (95,09)*	985,84 (167,96)	866,29 (119,22)
	Varones	1069,57 (98,40)**	1034,19 (120,82)	894,05 (123,34)
	Mujeres	1036,71 (91,38)	943,54 (99,61)	842,00 (112,43)

Valores expresados en media (DE). DMO (g/cm^2).

* $p = 0.006$ en columna lumbar entre fumadores y no fumadores.

** $p = 0.042$ en columna lumbar en varones.

Al ajustar por edad se mantienen las diferencias estadísticamente significativas en columna lumbar entre fumadores y no fumadores ($p = 0.026$). Lo mismo sucede tras ajustar por consumo de café ($p = 0.02$). No obstante, al ajustar por edad y consumo de café, aunque siguen apreciándose diferencias, la significación estadística queda en el límite ($p = 0.07$). En el análisis por sexos no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas. En fémur total y cuello femoral no se encontraron diferencias tras ajustar los resultados por edad y consumo de café.

3. Metabolismo fosfocálcico

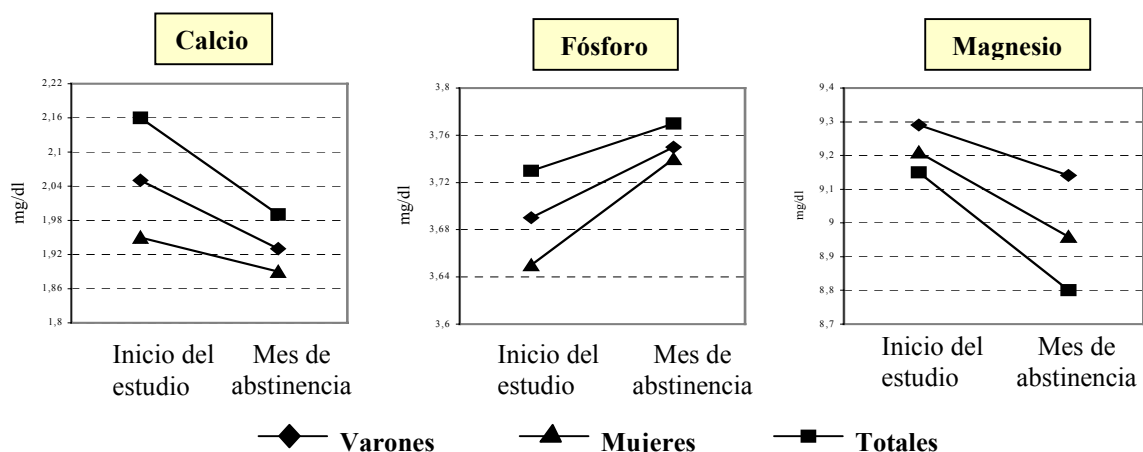
A partir de este punto, todos los resultados del estudio de corte tansversal entre fumadores y no fumadores se han ajustado por edad y consumo de café. Los niveles séricos de calcio y magnesio se encontraban más bajos en los voluntarios fumadores, mientras que los de fósforo tenían tendencia a estar más elevados, aunque en ninguno de los casos las diferencias fueron significativas. Al comparar las concentraciones séricas de calcio, fósforo y magnesio del grupo de fumadores obtenido al inicio del estudio con las concentraciones obtenidas al mes de abstinencia, se observó que los niveles séricos de calcio se encontraban sensiblemente disminuidos al final de dicho periodo, aunque sin alcanzar la significación estadística ($p = 0.096$). Todos estos resultados se expresan en la tabla 3 y en la figura 1.

Tabla 3. Metabolismo fosfocálcico. Comparación entre fumadores y controles.

		Calcio	Fósforo	Magnesio
Fumadores	Totales	9,21 (0,52)	3,73 (0,52)	1,84 (1,21)
	Varones	9,24 (0,56)	3,74 (0,38)	1,53 (0,62)
	Mujeres	9,18 (0,52)	3,72 (0,61)	2,05 (1,48)
No fumadores	Totales	9,24 (0,40)	3,70 (0,50)	2,02 (1,07)
	Varones	9,30 (0,38)	3,72 (0,57)	1,73 (0,68)
	Mujeres	9,20 (0,41)	3,69 (0,46)	2,23 (1,26)

Valores expresados en media (DE). Calcio, fósforo y magnesio expresados en mg/dl.

Figura 1. Diferencias en las concentraciones séricas de calcio, fósforo y magnesio en voluntarios fumadores al inicio del estudio y al final del periodo de abstinencia.



4. Hormonas sexuales

En la fase transversal del estudio se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los niveles séricos de estrona, al encontrarse significativamente más elevados en fumadores (31,09 (9,48) vs 24,88 (10,34); $p = 0.006$). Estas diferencias se producen a expensas de los varones fumadores respecto a los no fumadores (32,37 (10,13) vs 20,91 (5,46); $p = 0.001$), pero no en las mujeres (30,31 (9,39) vs 27,80 (12,16); $p = ns$) (Tabla 4).

Tabla 4. Hormonas sexuales. Comparación entre fumadores y controles.

	Fumadores			No fumadores		
	Totales	Varones	Mujeres	Totales	Varones	Mujeres
FSH	6,16 (2,98)	5,13 (4,02)	6,88 (1,84)	6,26 (3,67)	4,15 (1,87)	7,81 (3,92)
LH	6,34 (2,71)	5,26 (1,48)	7,09 (3,14)	5,60 (3,11)	4,58 (2,06)	6,36 (3,56)
17- β	49,82 (29,50)	30,67 (19,95)	63,08 (28,15)	37,82 (26,94)	24,11 (12,39)	47,87 (30,30)
Estrona	31,09 (9,48)*	32,37 (10,13)**	30,31 (9,39)	24,88 (10,40)*	20,91 (5,46)**	27,80 (12,16)
T	8,76 (10,70)	19,80 (8,27)	1,12 (0,56)	8,01 (8,69)	17,11 (4,66)	1,34 (2,87)
DHT	0,49 (0,59)	0,78 (0,85)	0,29 (0,12)	0,38 (0,30)	0,57 (0,36)	0,23 (0,12)
D4AND	2,04 (0,98)	1,68 (0,98)	2,29 (0,94)	2,06 (0,73)	2,01 (0,74)	2,09 (0,74)
SHBG	55,38 (28,78)	32,02 (18,57)	71,55 (22,97)	59,77 (39,58)	38,02 (13,82)	75,72 (44,67)
DHEAS	204,66 (104,66)	260,50 (115,84)	166,00 (79,16)	216,00 (96,96)	256,04 (103,82)	186,63 (81,36)

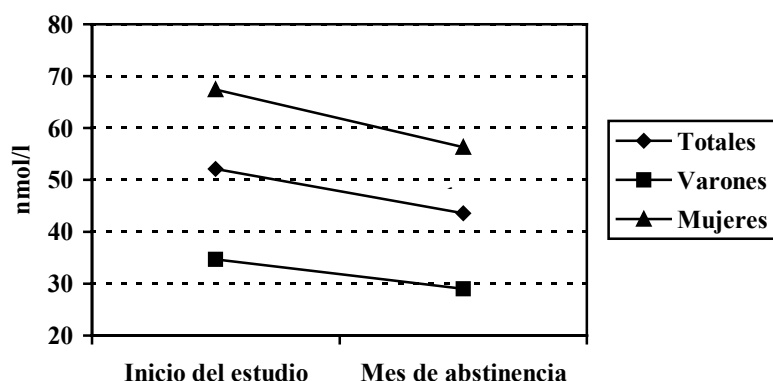
FSH: hormona foliculoestimulante. LH: hormona luteinizante. 17- β : 17-betaestradiol. T: testosterona. DHT: dihidrotestosterona. D4AND: androstendiona. SHBG: serum hormone binding glogulin. DHEAS: dihidroepiandrostendiona sulfato. Valores expresados en media (DE). FSH (mUI/ml); LH (mUI/ml); 17- β (pg/ml); estrona (pg/ml); T (pg/ml); DHT (ng/ml); D4AND (ng/ml); SHBG (nmol/l); DHEAS (mcg/dl).

** $p = 0.006$ en las concentraciones séricas de estrona entre fumadores y no fumadores.*

*** $p = 0.001$ en las concentraciones séricas de estrona entre varones fumadores y no fumadores.*

Al analizar los cambios producidos en los voluntarios fumadores al abandonar el hábito tabáquico, se observó que los niveles séricos de SHBG disminuían de forma significativa durante el periodo de abstinencia (52,16 (26,10) vs 43,53 (19,79); $p = 0.014$), efecto producido a expensas de las mujeres (67,44 (21,36) vs (56,35 (17,02); $p = 0.036$) (Figura 2).

Figura 2. Diferencias en las concentraciones de SHBG entre el inicio del estudio y el final del periodo de abstinencia.



$p = 0.014$ en las concentraciones séricas de SHBG entre fumadores al inicio y al final del estudio. Estas diferencias se producían a expensas de los voluntarios mujeres ($p = 0.036$).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las otras determinaciones efectuadas (Tabla 5).

Tabla 5. Hormonas sexuales. Comparación en voluntarios fumadores al inicio y al final del estudio.

	Fumadores			Fumadores al mes de abstinencia		
	Totales	Varones	Mujeres	Totales	Varones	Mujeres
FSH	5,61 (2,80)	4,05 (2,61)	6,97 (2,29)	5,55 (4,15)	4,11 (2,56)	6,81 (5,00)
LH	5,36 (1,71)	5,26 (1,18)	5,42 (2,16)	4,99 (2,02)	4,86 (1,14)	5,11 (2,65)
17-β	45,73 (27,50)	24,29 (12,47)	64,50 (22,74)	45,13 (27,43)	32,71 (13,11)	56,00 (32,69)
Estrona	27,65 (8,10)	27,67 (6,02)	27,62 (9,80)	27,86 (9,45)	31,00 (11,63)	25,50 (7,39)
T	10,28 (11,74)	20,76 (9,03)	1,12 (0,48)	9,00 (9,69)	18,26 (5,61)	0,90 (0,27)
DHT	0,54 (0,70)	0,86 (0,95)	0,27 (0,14)	0,43 (0,21)	0,61 (0,09)	0,27 (0,13)
D4AND	1,95 (0,83)	1,69 (0,70)	2,19 (0,91)	1,96 (0,76)	1,83 (0,82)	2,07 (0,74)
SHBG	52,16 (26,10)*	34,70 (19,76)	67,44 (21,36)**	43,63 (19,79)*	29,01 (10,65)	56,35 (17,02)**
DHEAS	193,77 (93,40)	225,64 (102,93)	165,87 (80,39)	181,20 (87,70)	217,14 (97,48)	149,75 (69,40)

* $p = 0.014$ en las concentraciones séricas de SHBG entre fumadores al inicio y al final del estudio.

** $p = 0.036$ en las concentraciones séricas de SHBG en mujeres entre fumadoras al inicio y al final del estudio.

5. Otras hormonas

Se analizaron los efectos del hábito tabáquico sobre el cortisol, las hormonas tiroideas, la tiroglobulina y la leptina. El análisis sobre el cortisol, las hormonas tiroideas y la tiroglobulina se realizó en todos los voluntarios, mientras que la leptina se determinó en 58 casos.

5.1. Hormonas tiroideas y cortisol

Al analizar el primer grupo de hormonas se observó que los fumadores tenían menor concentración sérica de T4, aunque sin alcanzar significación estadística (1,28 (0,23) vs 1,37 (0,27); $p = 0.082$), que sí se alcanza en los varones cuando ambos sexos se analizan por separado (1,30 (0,23) vs 1,45 (0,17); $p = 0,016$) (Tabla 6).

Tabla 6. Otras hormonas. Comparación entre fumadores y controles.

	Fumadores			No fumadores		
	Totales	Varones	Mujeres	Totales	Varones	Mujeres
TSH	1,84 (1,21)	1,53 (0,62)	2,05 (1,48)	2,02 (1,07)	1,73 (0,68)	2,23 (1,26)
T3	115,86 (22,08)	121,67 (26,34)	111,84 (18,64)	114,31 (20,93)	110,91 (14,91)	116,80 (24,37)
T4	1,28 (0,23)	1,25 (0,25)*	1,30 (0,23)	1,37 (0,22)	1,45 (0,17)*	1,31 (0,23)
TBG	20,85 (6,79)	18,62 (3,25)	22,22 (8,08)	20,08 (3,66)	18,70 (3,07)	21,10 (3,77)
Cortisol	16,12 (6,02)	16,94 (6,19)	15,54 (6,08)	16,88 (5,63)	15,96 (4,67)	17,56 (6,23)

TSH: teratohormona; T3 triiodotironina; T4: tiroxina libre; TBG: tiroglobulina. Valores expresados en media (DE). TSH (mcUI/ml); T3 (ng/dl); T4 (ng/dl); TBG (mcg/ml); cortisol (mcg/dl).

** $p = 0.016$ en las concentraciones séricas de T4 en varones fumadores respecto a varones no fumadores.*

En cambio, en la fase longitudinal del estudio, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones séricas de ninguna de las hormonas testadas en fumadores entre las determinaciones realizadas antes y después del mes de abstinencia (Tabla 7).

Tabla 7. Otras hormonas. Comparación en voluntarios fumadores al inicio y al final del estudio.

	Fumadores			Fumadores al mes de abstinencia		
	Totales	Varones	Mujeres	Totales	Varones	Mujeres
TSH	1,91 (1,45)	1,54 (0,71)	2,23 (1,86)	2,06 (1,40)	1,80 (1,18)	2,29 (1,60)
T3	116,67 (25,10)	120,14 (30,01)	113,62 (21,56)	117,00 (24,96)	118,29 (17,69)	115,87 (31,22)
T4	1,29 (0,26)	1,27 (0,28)	1,31 (0,25)	1,21 (0,25)	1,21 (0,22)	1,21 (0,29)
TBG	19,75 (2,72)	19,02 (3,60)	20,29 (1,91)	19,80 (4,10)	18,27 (4,90)	20,95 (3,25)
Cortisol	16,45 (6,50)	18,41 (6,29)	14,72 (6,57)	16,27 (5,66)	15,90 (4,36)	16,59 (6,89)

TSH: teratohormona; T3 triiodotironina; T4: tiroxina libre; TBG: tiroglobulina.

Valores expresados en media (DE).

TSH (mcUI/ml); T3 (ng/dl); T4 (ng/dl); TBG (mcg/ml); cortisol (mcg/dl).

5.2. Leptina

La determinación de leptina se realizó en 22 fumadores (9 varones y 13 mujeres) de más de 15 cigarrillos al día, de los cuales 7 varones y 8 mujeres realizaron un periodo de abstinencia tabáquica de 1 mes. El grupo control se formó por 37 no fumadores (17 varones y 20 mujeres). Ambos grupos fueron comparables en peso, talla, índice de masa corporal, consumo de alcohol, ingesta de lácteos, porcentaje de voluntarios que realizaban ejercicio físico y porcentaje de voluntarios que realizaban una exposición solar activa. En cambio, el grupo de voluntarios fumadores tenía una media de edad superior al grupo de no fumadores (35,64 (8,55) vs 30,92 (6,18); $p = 0.017$), y consumían una mayor cantidad de café diario (mediana de 3 cafés/día vs 2 cafés/día; $p = 0.012$) (Tabla 8). Las diferencias existentes entre ambos grupos se corresponden a las encontradas en la cohorte total, es decir que los fumadores son de mayor edad y consumen mayor cantidad de café diario que los no fumadores. Por tanto, las diferencias en la concentraciones séricas de leptina entre ambos grupos se ajustarán por estas dos variables.

Tabla 8. Características basales de los participantes en el estudio en el subgrupo en el que se determinó la leptina.

	Fumadores n = 15	Controles n = 33	p
Edad	35,64 (8,55)	30,92 (6,18)	0.017
Sexo	40,9% V/59,1% M	45,9% V/54,1% M	ns
Peso	67,04 (12,04)	65,76 (12,88)	ns
Talla	1,65 (0,07)	1,69 (0,08)	ns
IMC	24,46 (3,71)	23,06 (3,38)	ns
Ingesta de lácteos	1091,68 (558,56)	1034,33 (301,75)	ns
Consumo de alcohol	3,32 (5,78)	2,11 (6,35)	ns
Consumo de café	3,00 (2,00-4,00)	2,00 (1,00-3,00)	0.012
Ejercicio físico	7/22	15/37	ns
Exposición solar	9/22	18/37	ns

IMC: Índice de masa corporal. Los valores de edad, peso, talla, IMC, ingesta de lácteos y consumo de alcohol se expresan como media (DE). El consumo de café se expresa en mediana y percentiles 25-75. El ejercicio físico y la exposición solar se expresan en porcentaje. Edad (años); Peso (Kg); Talla (metros); IMC (Kg/m²); Consumo de alcohol (mg/día).

Debido a que la determinación de leptina se realizó en un subgrupo de pacientes, se realizó un análisis estadístico independiente para este subgrupo, en el que también se analizaron las posibles diferencias en la masa ósea entre fumadores y no fumadores. Al igual que en el grupo total de voluntarios, los varones fumadores tenían menor DMO que los no fumadores en columna lumbar (970,67 (114,74) vs 1083,94 (101,03); p = 0.017), detectándose además un importante descenso en la DMO en cuello femoral en fumadores, aunque en esta localización no se alcanzó la significación estadística (818,88 (121,92) vs 911,87 (122,99); p = 0.079). En mujeres no existían diferencias en ninguna de las tres localizaciones analizadas (Tabla 9).

Tabla 9. Comparación de DMO entre fumadores y controles en el grupo de voluntarios a los que se les determinaron niveles séricos de leptina.

		Columna lumbar	Fémur total	Cuello femoral
Fumadores	Totales	982,32 (92,67)*	953,18 (100,79)	825,00 (91,67)
	Varones	970, 67 (114,74)**	977,67 (123,48)	818,00 (121,92)
	Mujeres	990,38 (77,98)	936,23 (82,78)	829,85 (68,82)
No fumadores	Totales	1052,39 (99,65)*	985,31 (125,22)	869,64 (126,18)
	Varones	1083,94 (101,03)**	1058,56 (119,04)	911,87 (122,99)
	Mujeres	1027,15 (93,42)	926,70 (97,80)	835,85 (121,17)

**p = 0.010 en columna lumbar entre fumadores y no fumadores.*

***p = 0.017 en columna lumbar entre varones fumadores y no fumadores.*

Al realizar los ajustes por edad y consumo de café, se observó que si se ajustaba solo por consumo de café, se mantenía la significación estadística en columna lumbar ($p = 0.024$) al igual que si se ajustaba solo por edad ($p = 0.035$). En cambio, al realizar los ajustes por ambas variables, aunque las diferencias seguían siendo importantes, la significación quedó en el límite (990, 48 (22,59) vs 1047, 40 (17,15); $p = 0.063$). En los varones al ajustar por consumo de café la significación en columna lumbar y cuello femoral quedaron en el límite ($p = 0.078$ y $p = 0.076$ respectivamente), pero se perdió al ajustar por edad y por ambas variables conjuntamente.

El análisis de los niveles séricos de leptina mostró que las mujeres tenían significativamente mayores concentraciones que los varones (14,30 (10,07) vs 6,99 (3,98); $p < 0.001$). La comparación entre fumadores y controles mostró que los voluntarios fumadores tenían unos niveles de leptina estadísticamente superiores a los no fumadores (14,68 (1,95) vs 8,93 (1,46); $p = 0.028$). Cuando se realizó el análisis separado por sexos se encontró que las diferencias anteriores se producían a expensas de las mujeres (19,55 (2,82) vs 10,88 (2,23); $p = 0.028$), sin que existieran cambios importantes en los varones (Tabla 10).

Tabla 10. Leptina. Comparación entre fumadores y controles

		Leptina
Fumadores	Hombres (n = 9)	6,85 (1,51)
	Mujeres (n = 13)	19,55 (2,82)*
No fumadores	Hombres (n = 17)	7,06 (1,05)
	Mujeres (n = 20)	10,88 (2,23)*

Valores expresados en media (DE).

La leptina se expresa en ng/ml.

**p = 0.028*

En el caso de las mujeres, al realizar los ajustes solo por edad o solo por consumo de café, se mantenía la significación estadística en ambos casos (18,81 (2,77) vs 11,36 (2,21); p = 0.049; y, 19,00 (2,73) vs 11,24 (2,21); p = 0.041, respectivamente).

El efecto de la abstinencia tabáquica mostró un aumento de los niveles séricos de leptina en ambos sexos, aunque sin alcanzar la significación. (Tabla 11) .

Tabla 11. Leptina. Comparación en voluntarios fumadores al inicio y al final del estudio.

		Leptina
Fumadores	Hombres (n = 7)	7,44 (3,68)
	Mujeres (n = 8)	19,08 (12,18)
Fumadores al mes de abstinencia	Hombres (n = 7)	8,43 (5,23)
	Mujeres (n = 8)	24,97 (21,26)

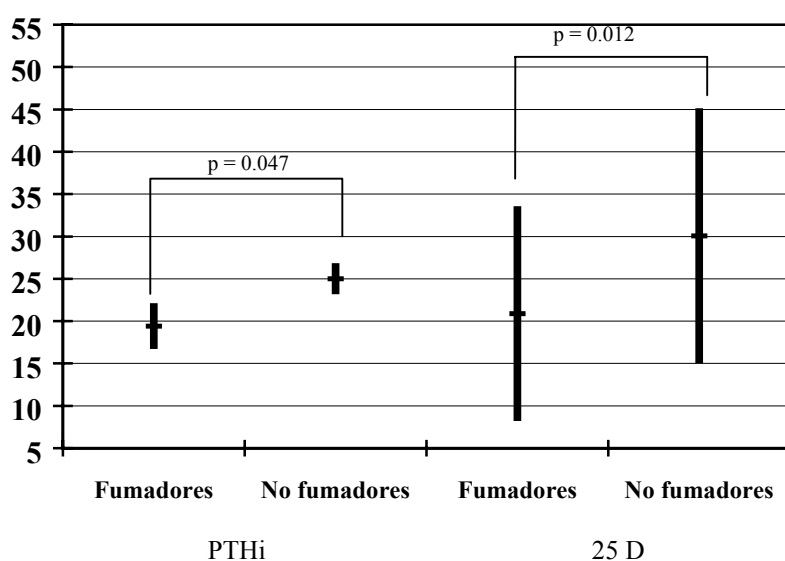
Valores expresados en media (DE). La leptina se expresa en ng/ml.

Podemos observar que la media y desviación estándar de las concentraciones séricas de leptina en hombres y mujeres fumadores de la tabla 11 son ligeramente distintos a los de la tabla 10. Ello es debido a que en la tabla 11 se incluyen solo aquellos fumadores que cumplieron el mes de abstinencia. El número de fumadores incluido en cada análisis se indica en la tabla correspondiente.

6. Eje PTH – vitamina D

La comparación entre fumadores y controles mostró que los fumadores tenían unos niveles de pTHi y de 25 hidroxivitamina D inferiores a los no fumadores (19,41 (2,25) vs 25,01 (1,39); $p = 0.047$ y 20,89 (12,24) vs 30,07 (14,62); $p = 0.012$, respectivamente) (Figura 3).

Figura 3. PTH y 25 hidroxivitamina D. Comparación entre fumadores y controles.



PTHi: Prathormona intacta; 25 D: 25 hidroxivitamina D. Existen diferencias significativas entre fumadores y controles en los niveles de PTHi ($p = 0.047$) y de 25 D ($p = 0.012$).

Al realizar el análisis por sexos, se observó que las diferencias en los niveles de PTHi se producían a expensas de los varones (16,21 (3,55) vs 28,85 (2,01); $p = 0.008$), sin que existieran cambios en las mujeres las mujeres. En cambio, las diferencias en los niveles de 25 hidroxivitamina D se producían a expensas de las mujeres (16,77 (9,87) vs 31,94 (15,11); $p = 0.002$), sin encontrarse diferencias apreciables en los varones. Los hombres y las mujeres presentaron una respuesta diferente al efecto del tabaco sobre los niveles de 25 hidroxivitamina D ($p = 0.049$). No se encontraron diferencias significativas al comparar los niveles de 1,25 dihidroxivitamina D (Tabla 12).

Tabla 12. Eje PTHi-vitamina D. Comparación entre fumadores y controles.

	Fumadores			No fumadores		
	Totales	Varones	Mujeres	Totales	Varones	Mujeres
PTHi	19,41 (2,25)*	16,21 (3,55)**	20,61(2,93)	25,01 (1,39)*	28,85 (2,01)**	22,61 (1,86)
25 D	20,89 (12,24)^	26,84 (13,41)	16,77 (9,87)^^	30,07 (14,62)^	27,53 (13,84)	31,94 (15,11)^^
1,25 D	36,09 (11,60)	40,56 (13,96)	33,00 (8,96)	38,56 (12,82)	37,14 (11,46)	39,60 (13,82)

PTHi: parathormona intacta; 25 D: 25 hidroxivitamina D; 1,25 D: 1,25 dihidroxivitamina D.

Valores expresados en media (DE). PTHi (pg/ml); 25 D (ng/ml); 1,25 D (pg/ml).

**p = 0.047 en los niveles de pTHi entre fumadores y no fumadores.*

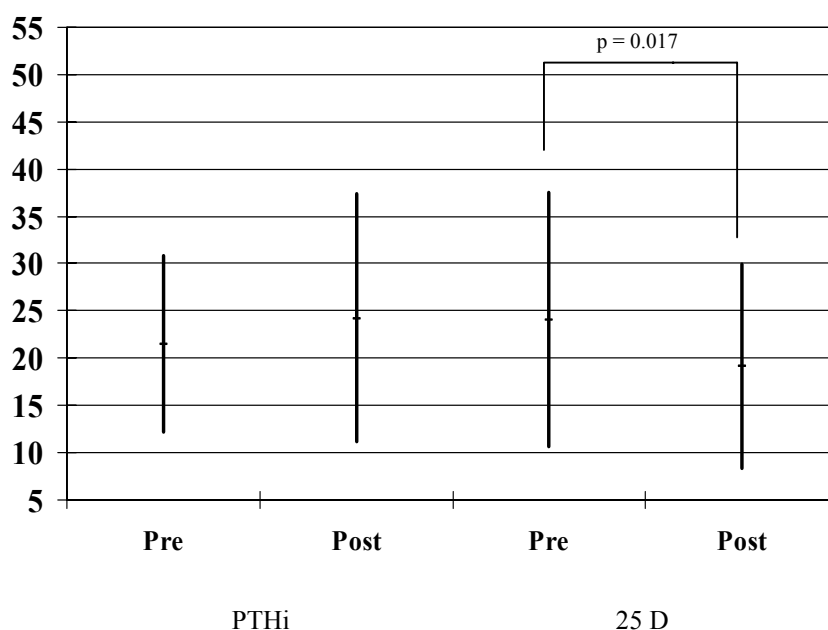
***p = 0.008 en los niveles séricos de pTHi entre varones fumadores y no fumadores.*

^p = 0.012 en los niveles séricos de 25 D entre fumadores y no fumadores.

^^p = 0.002 en los niveles séricos de 25 D entre mujeres fumadoras y no fumadoras.

La abstinencia tabáquica producía un descenso significativo de la 25 hidroxivitamina D (24,07 (13,43) vs 19,10 (10,78); $p = 0.017$), sin que se produjeran cambios en los niveles de PTHi (Figura 4).

Figura 4. PTHi y 25 hidroxivitamina D. Comparación en voluntarios fumadores al inicio y al final del estudio.



*PTHi: Parathormona intacta;
25 D: 25 hidroxivitamina D.
 $p = 0.017$ entre fumadores al inicio y al final del mes de abstinencia en los niveles de 25 D.*

Las diferencias en los niveles de 25 D se producían básicamente a expensas de los voluntarios varones (29,53 (14,20) vs 22,48 (12,60); $p = 0.037$), mientras que en las mujeres se observa un discreto descenso no significativo. Además, la abstinencia tabáquica produjo un aumento apreciable, aunque no significativo de los niveles de 1,25 dihidroxivitamina D. Al analizar los sexos por separado, se observó que este incremento se producía en las mujeres (31,25 (8,92) vs 43,25 (13,11); $p = 0.074$), mientras que en los varones no se produjeron cambios significativos. Esto muestra de nuevo un comportamiento distinto entre ambos sexos en los efectos del tabaco sobre el metabolismo de la vitamina D, aunque en esta ocasión las diferencias entre sexos no alcanzan la significación ($p = 0.093$). Estos resultados se expresan en la tabla 13 y la figura 5.

Tabla 13. Eje PTHi-vitamina D. Comparación en voluntarios fumadores al inicio y al final del estudio.

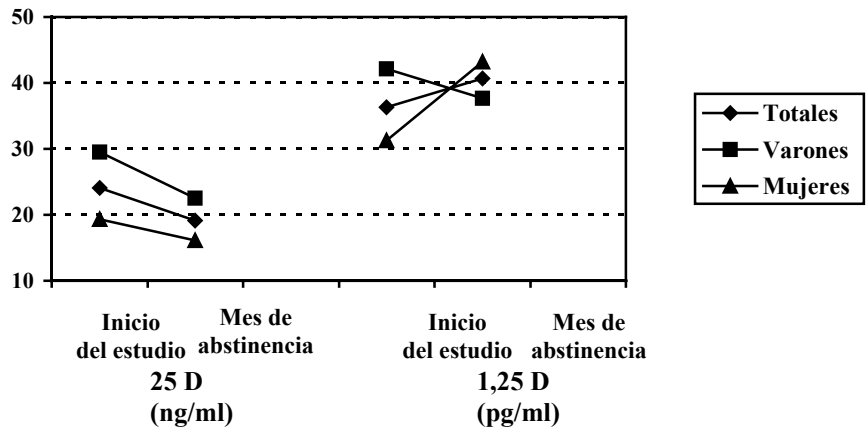
	Fumadores			Fumadores al mes de abstinencia		
	Totales	Varones	Mujeres	Totales	Varones	Mujeres
PTHi	21,47 (9,33)	18,86 (10,43)	23,75 (8,26)	24,13 (12,94)	18,14 (7,08)	29,37 (14,99)
25 D	24,07 (13,43)*	29,53 (14,20)**	19,30 (11,49)	19,10 (10,78)*	22,48 (12,60)**	16,14 (8,66)
1,25 D	36,33 (13,18)	42,14 (15,44)	31,25 (8,92)	40,67 (11,63)	37,71 (9,79)	43,25 (13,11)

PTHi: parathormona intacta; 25 D: 25 hidroxivitamina D; 1,25 D: 1,25 dihidroxivitamina D. Valores expresados en media (DE). PTHi (pg/ml); 25 D (ng/ml); 1,25 D (pg/ml).

** $p = 0.017$ en los niveles séricos de 25 D entre fumadores al inicio del estudio y al final del mes de abstinencia.*

*** $p = 0.037$ en los niveles séricos de 25 D entre fumadores varones al inicio del estudio y al final del mes de abstinencia.*

Figura 5. Variaciones en las concentraciones séricas de 25 hidroxivitamina D y 1,25 dihidroxivitamina D en voluntarios fumadores al inicio del estudio y al finalizar el periodo de abstinencia.



Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre en los niveles séricos de 25 hidroxivitamina D entre fumadores al inicio del estudio y al final del mes de abstinencia ($p = 0.017$), diferencias que se producen a expensas de los voluntarios varones ($p = 0.037$). No se encontraron diferencias en los niveles de 1,25 dihidroxivitamina D.

7. Marcadores bioquímicos de remodelado óseo

Para estudiar los efectos del hábito tabáquico sobre el remodelado óseo se estudiaron los niveles de tres marcadores bioquímicos de remodelado. Se determinaron los niveles séricos de osteocalcina como marcador de formación ósea, y los niveles séricos de fosfatasa ácida tartrato-resistente (FATR) y los niveles urinarios de N-telopéptido como marcadores de resorción ósea. En los dos primeros el análisis se realizó en todos los voluntarios, mientras que en el caso del N-telopéptido urinario se realizó en un subgrupo de 48 voluntarios.

7.1. Osteocalcina y FATR

La comparación entre fumadores y no fumadores no mostró diferencias significativas en los niveles séricos de ninguno de los dos marcadores, si bien, los fumadores tenían discretos aumentos en los niveles séricos de ambos. En el análisis separado por sexos tampoco se encontraron diferencias entre fumadores y controles (Tabla 14).

Tabla 14. Marcadores bioquímicos de remodelado óseo. Comparación entre fumadores y controles.

	Fumadores			No fumadores		
	Totales	Varones	Mujeres	Totales	Varones	Mujeres
Osteocalcina	2,23 (0,72)	2,41 (0,58)	2,11 (0,80)	2,01 (0,97)	2,24 (0,90)	1,94 (1,04)
FATR	8,14 (2,73)	8,80 (2,82)	7,68 (2,67)	7,52 (1,78)	8,06 (1,76)	7,10 (1,71)

FATR: fosfatasa ácida tartrato-resistente.

Valores expresados en media (DE).

Osteocalcina (ng/ml); FATR (UI/l).

Los resultados obtenidos en la fase longitudinal del estudio mostraron que la abstinencia tabáquica no producía cambios importantes en los niveles séricos de osteocalcina ni de FATR. No obstante, al analizar ambos sexos por separado, se observó que la abstinencia tabáquica durante un mes produjo un incremento en los niveles séricos de osteocalcina en mujeres, si bien las diferencias producidas no llegaron a alcanzar la significación estadística (2,16 (0,78) vs 2,70 (0,95); $p = 0.08$) (Tabla 15).

Tabla 15. Marcadores bioquímicos de remodelado óseo. Comparación en voluntarios fumadores al inicio y al final del estudio.

Fumadores	Fumadores al mes de abstinencia
-----------	---------------------------------

	Totales	Varones	Mujeres	Totales	Varones	Mujeres
Osteocalcina	2,31 (0,71)	2,49 (0,64)	2,16 (0,78)	2,54 (0,83)	2,36 (0,70)	2,70 (0,95)
FATR	8,77 (2,81)	9,16 (2,87)	8,42 (2,91)	8,27 (1,57)	8,01 (1,29)	8,49 (1,84)

FATR: fosfatasa ácida tartrato-resistente.

Valores expresados en media (DE).

Osteocalcina (ng/ml); FATR (UI/l).

7.2. N-telopéptido

Las determinaciones de NTx urinario se realizaron en un subgrupo de 48 voluntarios pertenecientes a la cohorte total. Entre ellos figuraban los 15 (7 varones y 8 mujeres) fumadores activos de más de 15 cigarrillos al día que realizaron un periodo de abstinencia tabáquica de 1 mes. El grupo control se formó por 33 voluntarios no fumadores (14 varones y 19 mujeres). Los dos grupos fueron comparables en peso, talla, índice de masa corporal, consumo de alcohol, ingesta de lácteos, porcentaje de voluntarios que realizaban ejercicio físico y porcentaje de voluntarios que realizaban una exposición solar activa. En cambio, el grupo de voluntarios fumadores tenía una media de edad superior al grupo de no fumadores (37,67 (8,73) vs 29,67 (5,08); $p = 0.004$), y consumían una mayor cantidad de café diario que los voluntarios controles (5,00 (4,00) vs 3,00 (2,00); $p = 0.016$) (Tabla 16), diferencias similares a las observadas en la cohorte total.

Tabla 16. Características basales de los participantes en el estudio en el subgrupo en el que se determinó el N-telopéptido.

	Fumadores n = 15	Controles n = 33	p
Edad	37,67 (8,73)	29,67 (5,08)	0.004
Peso	68,00 (12,16)	64,51 (12,52)	ns
Talla	1,65 (0,07)	1,68 (0,07)	ns
IMC	24,54 (2,67)	22,66 (3,42)	ns
Ingesta de lácteos	870,33 (293,40)	1050,07 (248,80)	ns
Consumo de alcohol	4,87 (6,48)	2,06 (6,55)	ns
Consumo de café	5,00 (4,00)	3,00 (2,00)	0.016
Ejercicio físico	7/15	16/33	ns

Exposición solar	7/15	15/33	ns
------------------	------	-------	----

IMC: Índice de masa corporal. Los valores de edad, peso, talla, IMC, ingesta de lácteos y consumo de alcohol y café se expresan como media (DE), estando referidos al percentil 75 en el caso del consumo de café. El ejercicio físico y la exposición solar se expresan en porcentaje. Edad (años); Peso (Kg); Talla (metros); IMC (Kg/m²); Consumo de alcohol (mg/día).

En el análisis separado por sexos, las diferencias en la edad se mantuvieron solo para el caso de las mujeres (36,25 (7,89) vs 28,63 (5,93); $p = 0.011$), no existiendo diferencias en el caso de los voluntarios varones (39,28 (9,49) vs 31,07 (3,36); $p = ns$).

El estudio de la DMO en este subgrupo mostró que los voluntarios fumadores tenían menor DMO en las tres localizaciones estudiadas, aunque la significación estadística se alcanzó únicamente en columna lumbar (977,33 (88,95) vs 1041,33 (98,59); $p = 0.037$), sin que existieran diferencias en fémur total ni en cuello femoral. En el análisis por sexos, los varones fumadores tenían menor DMO en columna lumbar que los no fumadores (960,57 (115,21) vs 1074,36 (100,40); ($p = 0.031$), sin que existieran diferencias en las otras dos localizaciones evaluadas, si bien en fémur total las diferencias se acercaron a la significación estadística (964,00 (113,00) vs 1074,79 (118,60); $p = 0.055$). En cambio, en las mujeres no se encontraron diferencias entre ambos grupos en ninguna de las tres localizaciones (Tabla 17).

Tabla 17. Comparaciones de densidad mineral ósea entre casos y controles en el subgrupo en el que se determinó el N-telopéptido.

		Columna lumbar	Fémur total	Cuello femoral
Fumadores	Totales	977,33 (88,95)*	949,33 (94,62)	825,53 (96,16)
	Varones	960,57 (115,21)**	964,00 (113,00)	819,86 (120,63)
	Mujeres	992,00 (62,62)	936,50 (80,99)	830,50 (77,21)
No fumadores	Totales	1041,33 (98,59)*	983,36 (131,36)	870,15 (129,65)
	Varones	1074,36 (100,40)**	1074,79 (118,60)	927,29 (124,07)
	Mujeres	1017,00 (92,33)	916,00 (96,06)	828,05 (119,81)

Valores expresados en media (DE).

DMO (g/cm²).

** $p = 0.037$ en columna lumbar entre fumadores y no fumadores.*

*** $p = 0.031$ en columna lumbar en varones entre fumadores y controles*

Al realizar el análisis ajustado por edad y por edad y consumo de café, se perdió la significación estadística en columna lumbar en varones. En las mujeres tampoco se encontraron diferencias tras realizar los ajustes por edad y consumo de café.

El estudio de los niveles urinarios de NTx no mostró diferencias entre fumadores y no fumadores, tanto en forma global como cuando se analizó cada sexo por separado (8,84 (3,47) vs 10,23 (5,72); p = ns para los varones, y, 9,61 (5,30) vs 8,34 (3,79); p = ns para las mujeres). Al realizar el análisis ajustado por edad y consumo de café, tampoco se produjeron diferencias entre ambos grupos en foema global ni al analizar a los varones por separado. En cambio, en el caso de la mujeres se encontró que las fumadoras tenían mayor excreción urinaria de NTx que las no fumadoras (12,13 (1,21) vs 7,29 (0,74); p = 0.004) (Tabla 18).

Tabla 18. Valores urinarios de NTx en fumadores y controles. Valores ajustados por edad y consumo de café.

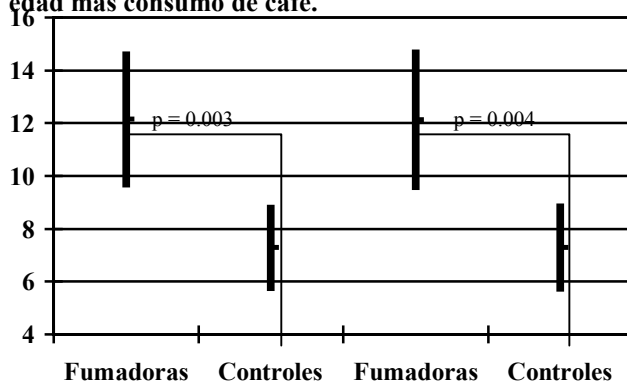
	Fumadores	Controles	p
Totales	10,71 (1,33)	8,48 (6,80)	ns
Varones	9,13 (2,43)	10,08 (1,57)	ns
Mujeres	12,13 (1,21)	7,29 (0,74)	0.004

Valores expresados en media (DE), en nM BCE/mM creatinina.*

**BCE: Bone Collagen Equivalents*

Las diferencias existentes en las mujeres se mantienen cuando el analisis se realiza ajustando únicamente por edad, sin tener en cuenta el consumo de café (12,14 (1,17) vs 7,28 (0,72); p = 0.003) (Figura 6). Las diferencias alcanzadas en ambos casos son muy similares, por lo que parece que el efecto edad es más importante.

Figura 6. Valores urinarios de NTx en mujeres fumadoras tras realizar los ajustes por edad y por edad más consumo de café.



Las mujeres fumadoras presentan mayor excreción de NTx urinario, tanto al ajustar por edad ($p = 0.003$), como al ajustar por edad más consumo de café ($p = 0.004$). Valores expresados en media, máximo y mínimo, en nM BCE/mM creatinina. *BCE: Bone Collagen Equivalents*

En la segunda fase del estudio, en la comparación de los niveles urinarios de NTx en los voluntarios fumadores antes y después del periodo de abstinencia tabáquica, no se encontraron diferencias significativas, ni de forma global, ni en el análisis separado por sexos (Tabla 19).

Ajustado por edad **Ajustado por edad**
y consumo de café

Tabla 19. Concentraciones urinarias de NTx. Comparación en fumadores antes y después del mes de abstinencia tabáquica.

	Fumadores	Mes	p
Totales	9,25 (1,14)	9,84 (0,90)	ns
Hombres	8,84 (1,13)	9,17 (1,16)	ns
Mujeres	9,61 (1,87)	10,43 (1,39)	ns

NTx: N-telopéptido. Valores expresados en media (DE), en nM BCE/mM creatinina.*

**BCE: Bone Collagen Equivalents*

8. Correlaciones con la masa ósea

8.1. Estudio en el total de voluntarios

El estudio de regresión múltiple para determinar que parámetros se correlacionaban con la masa ósea mostró los siguientes resultados (Tablas 20 y 21).

En varones, la edad y el café se correlacionaron inversamente con la DMO lumbar ($p = 0.013$ y $p = 0.019$ respectivamente) mientras que los niveles séricos de LH tuvieron una correlación positiva ($p = 0.04$). Con la DMO en fémur total se encontró una correlación negativa con la edad ($p = 0.024$) y positiva con los niveles séricos de fósforo ($p = 0.021$) y de LH ($p = 0.018$). Finalmente, se correlacionaron positivamente con la DMO de cuello femoral los niveles séricos de fósforo ($p = 0.012$), de LH ($p = 0.043$) y de testosterona ($p = 0.045$), mientras que la edad tuvo nuevamente una correlación inversa ($p = 0.007$). Entre los fumadores, el número de paquetes/año tuvo una correlación negativa con la DMO en las tres localizaciones, aunque sin significación estadística.

Con respecto a las mujeres, el peso y el IMC se correlacionaron positivamente con la DMO en todas las localizaciones ($p = 0.011$, $p = 0.011$ y $p = 0.005$ para las correlaciones del peso con la DMO de columna, fémur total y cuello femoral respectivamente; $p = 0.05$, $p = 0.003$ y $p = 0.008$ para las correlaciones del IMC en las mismas localizaciones). El consumo de café se correlacionó de forma negativa con la DMO en fémur total ($p = 0.034$). Los niveles séricos de testosterona tuvieron una correlación positiva con la DMO en fémur total ($p = 0.043$), y los de androstendiona y dihidroepiandrostendiona sulfato se correlacionaron también de forma positiva con la DMO de cuello femoral ($p = 0.05$ y $p = 0.031$ respectivamente). En las mujeres fumadoras, el número de paquetes/año tuvo una correlación inversa con la DMO en cuello femoral ($p = 0.044$).

Tabla 20. Correlaciones de distintos parámetros con la DMO en varones.

	Columna lumbar		Fémur total		Cuello femoral	
	r	p	r	p	r	p
Edad	-.4472	0.013	-.4123	0.024	-.4838	0.007
Peso	.1224	ns	.1315	ns	.1462	ns
IMC	-.0578	ns	-.1245	ns	-.1833	ns
Café	-.4247	0.019	-.1167	ns	-.0986	ns
Fósforo	.0006	ns	.4189	0.021	.4538	0.012

LH	.3762	0.04	.4298	0.018	.3725	0.043
Testosterona	.0845	ns	.3326	ns	.3685	0.045
Androstendiona	-.0046	ns	.2776	ns	.3023	ns
DHEAS	-.0510	ns	.1911	ns	.1222	ns
Paquetes/año	-.4606	ns	-.3141	ns	-.4426	ns

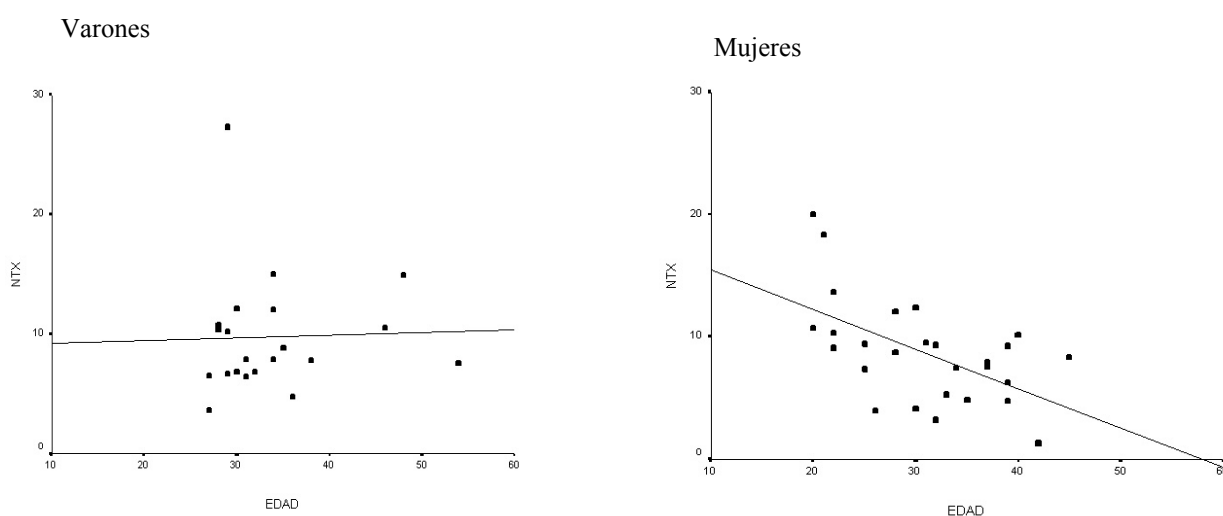
Tabla 21. Correlaciones de distintos parámetros con la DMO en mujeres.

	Columna lumbar		Fémur total		Cuello femoral	
	r	p	r	p	r	p
Edad	-.1647	ns	-.1364	ns	-.2477	ns
Peso	.3839	0.011	.3845	0.011	.4202	0.005
IMC	.2903	0.05	.4465	0.003	.4004	0.008
Café	-.1255	ns	-.3241	0.034	-.2396	ns
Fósforo	-.0568	ns	-.0639	ns	-.0681	ns
LH	.0116	ns	.0902	ns	.0761	ns
Testosterona	.2056	ns	.3105	0.043	.1621	ns
Androstendiona	.2036	ns	.2372	ns	.2898	0.05
DHEAS	.2240	ns	.2216	ns	.3290	0.031
Paquetes/año	.1247	ns	- 4008	ns	-.5663	0.044

8.2. Subgrupo en el que se realizaron las determinaciones de NTx

En el subgrupo de voluntarios en el que se realizaron las determinaciones de NTx, no se encontró ninguna correlación con la masa ósea en ninguna de las tres localizaciones evaluadas ni en varones ni en mujeres. Por otro lado, los valores de NTx se correlacionaron negativamente con la edad en mujeres, sin que este hecho ocurriera en los varones (Figura 7).

Figura 7. Correlación de la edad con los niveles urinarios de NTx.



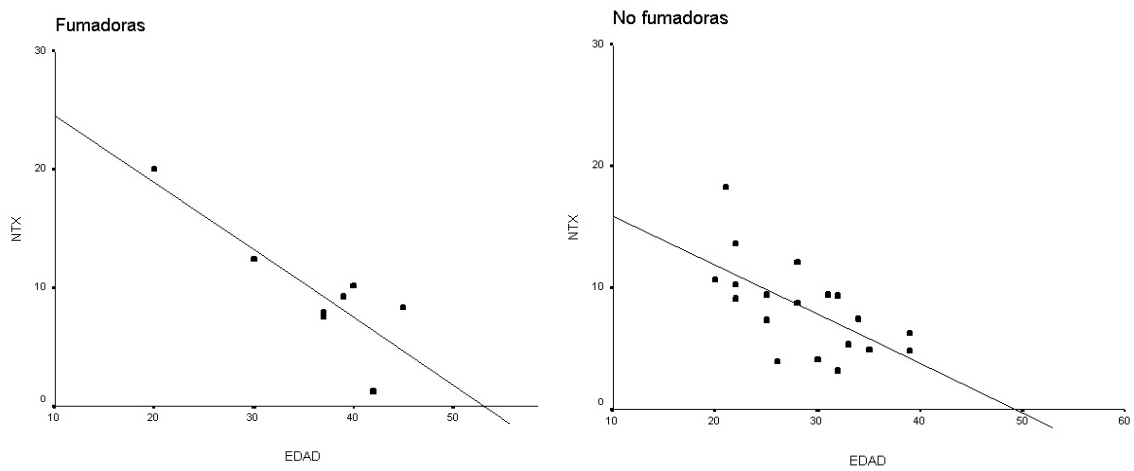
En los varones, la edad no se correlacionó con los niveles urinarios de NTx. En cambio, en las mujeres existía una correlación inversa.

La correlación inversa con la edad existía tanto en las voluntarias fumadoras como en las no fumadoras (Tabla 22 y figura 8).

Tabla 22. Correlaciones del N-telopéptido con la edad en mujeres.

	r	p
Totales (n = 27)	- .559	0.002
Fumadoras (n = 8)	- .847	0.008
Controles (n = 19)	- .633	0.004

Figura 8. Correlación de los niveles de NTx con la edad en mujeres fumadoras y no fumadoras.



Tanto en mujeres fumadoras como en no fumadoras existía una correlación inversa entre edad y niveles de NTx.

9. Correlaciones entre tabaco y los distintos parámetros evaluados

En el total de voluntarios, la correlación entre la DMO y el consumo de tabaco no alcanzó significación estadística en ninguna de las tres localizaciones estudiadas. En el resto de parámetros evaluados, solo los niveles séricos de Mg se correlacionaron de manera negativa con el tabaco ($r = -0.469$; $p = 0.028$).

Al realizar el análisis separado por sexos (tabla 23), ya hemos visto que el número de paquetes/año en los varones se asoció inversamente con la DMO en las tres localizaciones, aunque sin significación estadística. En cambio, en las mujeres fumadoras, el número de paquetes/año tuvo una correlación inversa con la DMO en cuello femoral ($r = -0.566$; $p = 0.044$). En el resto de parámetros, el tabaco se asoció positivamente con los niveles séricos de FSH ($r = 0.761$; $p = 0.017$) y negativamente con los de Mg ($r = -0.674$; $p = 0.047$) y dihidrotestosterona ($r = -0.679$; $p = 0.044$) en varones. En las mujeres sólo se obtuvo significación estadística con los niveles séricos de fosfatasa ácida tartrato-resistente ($r = 0.568$; $p = 0.043$), con los que existía una correlación positiva. también se encontró una correlación positiva con los niveles de PTHi, si bien la significación estadística queda en el límite ($r = 0.529$; $p = 0.063$).

Tabla 23. Correlaciones más relevantes del tabaco

	Varones		Mujeres	
	r	p	r	p
Mg	-.674	0.047	-.344	ns
FSH	.761	0.017	-.438	ns
Dihidrotestosterona	-.679	0.044	-.028	ns
PTHi	.457	ns	.529	0.063
FATR	-.221	ns	.568	0.043

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en nuestro estudio confirman la acción del tabaco sobre el metabolismo hormonal y el metabolismo óseo. Los voluntarios fumadores tienen menor DMO que los no fumadores, con diferencias estadísticamente significativas en columna lumbar ($p = 0.006$), diferencias que se producen a expensas de los varones ($p = 0.042$). El efecto del tabaco sobre la DMO se mantiene tras ajustar por las diferencias existentes en edad entre los dos grupos ($p = 0.026$), así como por la cantidad de café que consumen diariamente ($p = 0.02$). Cuando se ajusta por las dos variables conjuntamente, la significación queda en el límite ($p = 0.07$), por lo que creemos que la acción del tabaco es más importante que la de la edad y la del consumo de café, aunque estos factores se potencian al coincidir.

Los análisis hormonales muestran que los fumadores varones tienen mayores niveles séricos de estrona que los no fumadores ($p = 0.001$) y menores niveles de T4 ($p = 0.016$), y que las mujeres fumadoras tienen mayores niveles séricos de leptina que las no fumadoras ($p = 0.028$). En la fase longitudinal del estudio, las mujeres que dejaron de fumar experimentan un descenso en los niveles séricos de SHBG ($p = 0.036$). Pero, sin duda, los hallazgos más importantes son que fumar afecta al metabolismo de la vitamina D, y que este efecto es distinto en ambos sexos. Así, las mujeres fumadoras tienen unas concentraciones de 25 D inferiores a las no fumadoras ($p = 0.002$), mientras que en varones no se producen variaciones. Los niveles de 1,25 D no se ven afectados por el tabaco en ninguno de los dos sexos. El abandono del hábito, en cambio, produce un descenso en los niveles de 25 D en varones ($p = 0.037$), sin que se aprecien diferencias en las mujeres. Los niveles de 1,25 D no sufren cambios significativos, si bien existe una tendencia a aumentar en las mujeres y a descender en los varones.

También los marcadores de remodelado óseo se afectan por la acción del tabaco. En las mujeres, los niveles de osteocalcina tienden a aumentar tras abandonar el consumo de tabaco, y las mujeres fumadoras tienen significativamente mayor concentración urinaria de NTx que las no fumadoras ($p = 0.004$), lo que apoya la hipótesis de que el tabaco afecta el remodelado óseo, sobre todo a través de un aumento de la resorción ósea.

Los análisis de regresión mostraron que el tabaco se asocia de forma negativa con la DMO en las tres localizaciones estudiadas, si bien, solo en el cuello femoral en mujeres se alcanzó la significación. Asimismo, se encontró una asociación positiva con los niveles de FSH y negativa con los de Mg y dihidrotestosterona en varones, y una asociación negativa con la FATR en mujeres.

1. Densidad mineral ósea

La comparación basal de la DMO de los participantes en el estudio mostró que los fumadores tenían menor DMO en las tres localizaciones estudiadas, aunque sólo en columna lumbar se alcanzó la significación estadística. En el análisis separado por sexos, los varones fumadores tenían menor DMO en columna lumbar que los no fumadores. En cambio, en las mujeres no se observaron diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las tres localizaciones, aunque en columna lumbar se quedó muy cerca de la misma. Las diferencias en columna lumbar se mantienen tras ajustar por edad o por consumo de café, que eran las dos características distintas entre fumadores y no fumadores. No obstante, al ajustar por edad junto a consumo de café, aunque siguen apreciándose diferencias, la significación estadística se hace marginal ($p = 0.07$). En el análisis por sexos, tras realizar los ajustes, no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas.

En el estudio de regresión múltiple, el hábito tabáquico se correlacionó inversamente con la DMO en cuello femoral en mujeres, lo que indica un efecto dosis-dependiente. En el resto de localizaciones no se alcanzó la significación estadística.

Por tanto, podemos afirmar que el consumo de tabaco en varones jóvenes produce pérdida de masa ósea en columna lumbar. No obstante, la pérdida de significación tras ajustar por la diferencia de edad existente entre el grupo de fumadores y el de no fumadores y por el diferente índice de consumo de café hace pensar que la adición del café al tabaco aumenta aún más la pérdida de masa ósea.

Numerosos estudios han demostrado el efecto nocivo del tabaco sobre la DMO en individuos fumadores de todas las edades, existiendo menor DMO en algunas de las localizaciones evaluadas. En individuos mayores se ha demostrado una menor DMO en fumadores, tanto varones como mujeres, en fémur (Hansen et al., 1991; Hollenbach et al., 1993; Nguyen et al., 1994; Kiel et al., 1996; Burger et al., 1998; Hermann et al., 2000; Hannan et al., 2000; Chapurlat et al., 2001) y en columna lumbar (Nguyen et al., 1994; Kiel et al., 1996; Egger et al., 1996; Franceschi et al., 1996; Hermann et al., 2000; Bjarnasson y Christiansen 2000). Estas diferencias también se encuentran en estudios en gemelos (Pocock et al., 1989; Hopper y Seeman, 1994). Se ha demostrado asimismo que el efecto del tabaco es dosis-dependiente (Slemenda et al., 1989; Krall y Dawson-Hughes 1991; Slemenda et al., 1992; Hollenbach et al., 1993; Hopper y Seeman, 1994; Glynn et al., 1995; Kiel et al., 1996) y que el abandono del mismo es beneficioso,

puesto que se enlentece la pérdida de masa ósea (Hollenbach et al., 1993; Nguyen et al., 1994).

Por contra, pocos autores han evaluado la DMO en individuos jóvenes. Uno de ellos midió la DMO en radio en mujeres premenopáusicas sanas de 20 a 35 años de edad (McCulloch et al., 1991) usando tomografía computerizada, encontrando una menor DMO en fumadoras activas de más de 10 paquetes/año, con respecto a fumadoras de menos de 10 paquetes/año y a no fumadoras. Aunque en este estudio no se midió la DMO en columna lumbar ni en fémur, si se demuestra un efecto deletéreo del tabaco sobre hueso trabecular, hecho que coincide con nuestros resultados.

Otro estudio fue realizado en mujeres premenopáusicas alcohólicas (Clark y Sowers, 1996), de edades comprendidas entre 20 y 40 años. En él, se observó que las mujeres bebedoras tenían menor DMO que las controles. No obstante, el 86% de la mujeres enólicas eran fumadoras, por sólo el 44% de las controles. Cuando se agruparon los casos y controles en parejas concordantes para el hábito tabáquico, las diferencias en la DMO disminuyeron, perdiendo la significación estadística, por lo que el tabaco podría explicar buena parte de las diferencias encontradas.

Por último, dos estudios realizados en nuestro país encuentran diferencias entre fumadores y no fumadores. En mujeres premenopáusicas sanas (Ortego Centeno et al., 1994) se encuentra una DMO significativamente disminuida en fumadoras en cuello femoral, triángulo de Ward y área intertrocantérea. En nuestro trabajo, aunque sí se observa una disminución de DMO en fémur total y cuello femoral en mujeres fumadoras, las diferencias no son significativas. Esto podría explicarse por el mayor número de voluntarias en el estudio de Ortego Centeno y col. En cambio, en nuestro trabajo, las diferencias en columna lumbar quedaron muy cerca de la significación ($p = 0.06$), hecho que no ocurre en el trabajo de Ortego Centeno y col. El otro estudio, realizado por el mismo equipo investigador, se llevó a cabo en varones (Ortego Centeno et al., 1997). Se encontraron diferencias significativas en todas las localizaciones (las mismas que en mujeres, y además, en columna lumbar) entre aquellos que fumaban más de 20 cigarrillos al día y los no fumadores. Nosotros encontramos diferencias en columna lumbar. De nuevo, el menor número de voluntarios en nuestro trabajo podría explicar las diferencias entre los dos estudios.

El tabaco no se correlacionó con la masa ósea en ninguno de los dos estudios de Ortego Centeno y col., mientras que en nuestro trabajo encontramos una correlación inversa

con el cuello femoral en mujeres. De acuerdo con nuestros resultados, se ha descrito una correlación negativa entre tabaco y contenido mineral óseo en mujeres perimenopáusicas danesas (Brot et al., 1997). También se han descrito correlaciones negativas entre tabaco y DMO en mujeres de edad avanzada (Bauer et al., 1993), en población anciana de ambos sexos (Burger et al., 1998) y en gemelas discordantes por el hábito de fumar, donde la correlación inversa se encuentra a nivel lumbar y en eje y cuello femoral (Hopper et Seeman, 1994), entre otros. Además, el hábito tabáquico ha sido también asociado a la presencia de deformidades vertebrales en varones chinos ancianos (Lau et al., 2000). En población joven, también se ha descrito una correlación negativa entre tabaco y DMO en mujeres premenopáusicas, correlación que se mantiene tras ajustar por edad e IMC (McCulloch et al., 1991).

2. Metabolismo fosfocálcico

En la fase transversal del estudio no se obtienen diferencias importantes en los niveles séricos de calcio, fósforo y magnesio. En cambio, en la fase longitudinal se observa que los niveles de calcio tienen tendencia a disminuir al abandonar el hábito tabáquico.

Trabajos previos que han estudiado los efectos del tabaco sobre el metabolismo cálcico ofrecen resultados dispares. En un subgrupo de gemelas que eran concordantes en el tiempo de menopausia, el uso de tratamiento hormonal sustitutivo y la toma de contraceptivos orales, pero discordantes en el consumo de tabaco con diferencias de al menos 20 paquetes/año, se encontró que los niveles de calcio y fósforo séricos en las fumadoras eran más altos que en las no fumadoras (Hopper y Seeman, 1994), si bien estas diferencias no fueron significativas. En cambio, no se encontraron diferencias en las concentraciones séricas de calcio y fósforo entre fumadoras y no fumadoras en mujeres perimenopáusicas que no tomaban tratamiento hormonal sustitutivo (Brot et al., 1999). Por otro lado, en otro trabajo, Krall y Dawson-Hughes (Krall y Dawson-Hughes, 1991) administraron Ca marcado de forma cruzada a 66 voluntarias. Las fumadoras tenían mayor concentración sérica de fosfatasas alcalinas y menores concentraciones de calcio total e ionizado, así como menor capacidad de retención del Ca administrado, lo cual puede ser debido a un efecto negativo del tabaco en la absorción intestinal de calcio.

En nuestro estudio no se han encontrado diferencias significativas entre fumadores y no fumadores, lo que concuerda con los resultados de Brot y col. (Brot et al., 1999), aunque en fumadores se observaron mínimos descensos en la concentración de calcio y discretos aumentos en los de fósforo. Además, la abstinencia tabáquica durante un mes tampoco modificó de forma significativa los niveles de Ca, P o Mg, si bien se observó un descenso no significativo, pero sí apreciable, de los niveles de calcio en abstinentes.

En el análisis de regresión múltiple, el fósforo se asoció a la DMO femoral en varones. No se observó ninguna otra asociación. Hopper y Seeman encontraron que gemelas fumadoras tenían mayores concentraciones de calcio, FSH y de LH y menores de PTH, y que las diferencias existentes en la DMO entre pares de gemelas discordantes por el hábito de fumar se asociaron con las diferencias en las concentraciones séricas de calcio y con la excreción urinaria de piridolina (Hopper et Seeman, 1994). Además, las diferencias existentes en los niveles de calcio se asociaron positivamente con las diferencias en los marcadores de resorción ósea, lo que sugiere que fumar incrementa la

resorción ósea. En nuestro trabajo se ha encontrado una asociación negativa del tabaco con el Mg y la dihidrotestosterona, así como una asociación positiva con los niveles de FSH en varones. Por tanto, dados los resultados obtenidos en nuestro trabajo, y teniendo en cuenta los obtenidos por Hooper y Seeman, se puede afirmar, aunque siempre con suma prudencia, que el tabaco tiene una influencia valorable en el metabolismo fosfocálcico.

3. Hormonas sexuales

Los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran un incremento en los niveles de estrona sérica en varones fumadores y una disminución en los niveles de SHBG en mujeres tras el periodo de abstinencia. Estos resultados son concordantes con otros existentes en la literatura en el sentido de que el tabaco influye en el metabolismo estrogénico.

Los estudios realizados en varones muestran resultados dispares en la afectación estrogénica del tabaco. Se han comunicado aumentos de estradiol en fumadores en algunos estudios (Barrett-Connor y Khaw, 1987; Lindhom et al., 1982; Klaiber et al., 1984) y discretos descensos no significativos en otros (Small et al., 1985), incluyendo un estudio en jóvenes (Ortego Centeno et al., 1997). En nuestro trabajo, los niveles de estradiol son ligeramente superiores en fumadores, aunque las diferencias no son significativas. En el resto de las hormonas analizadas, encontramos un aumento significativo de estrona en fumadores, hecho no descrito con anterioridad, pero que confirma la acción del tabaco sobre el metabolismo estrogénico en varones. En cambio, en la fase longitudinal del estudio, los cambios producidos no son significativos en ninguna de las hormonas, lo cual puede ser consecuencia de que un solo mes de abstinencia no es suficiente para evidenciar cambios.

En cuanto al metabolismo androgénico, se han descrito aumentos de testosterona y andrógenos adrenales en fumadores (Barrett-Connor y Khaw, 1987; Dai et al., 1988), hecho no comprobado en nuestro trabajo, donde las diferencias no son significativas. En cambio, el estudio de los niveles de DHEAS no son coincidentes entre los distintos trabajos. Se han descrito aumentos en fumadores (Barret Connor et al., 1986; La Croix et al., 1990; Salvani et al., 1992) y descensos significativos en fumadores jóvenes (Ortego Centeno et al., 1997). En esta hormona, nuestros resultados están en un punto intermedio, puesto que prácticamente no existen diferencias entre varones fumadores y no fumadores. Tampoco encontramos cambios entre fumadores tras el mes de abstinencia. Sin embargo, el papel del hábito tabáquico sobre el metabolismo androgénico es un hecho demostrado en diversos estudios experimentales, por lo que la falta de significación en las diferencias en los niveles de las hormonas androgénicas puede deberse a un problema de tamaño de la muestra.

Hay que tener en cuenta que en los varones existe una preponderancia hormonal de tipo androgénico, y que una parte importante de los niveles de estrógenos existentes en el tejido óseo provienen de la acción paracrina de la aromatasa, enzima que convierte la

testosterona en estradiol. Por lo tanto, el aumento observado en algunos estudios en los niveles de testosterona podría ser consecuencia de la inhibición de esta enzima por el tabaco, con la consecuente disminución en los niveles locales de estradiol y una respuesta tipo feed-back positiva sobre los tejidos productores de andrógenos.

En las mujeres, en cambio, la afectación del metabolismo estrogénico producida por el hábito tabáquico está más definida. El tabaco produce una disminución en la excreción urinaria de estrógenos (Mac Mahon et al., 1982; Michnovicz et al., 1986), estimula la metabolización de los estrógenos exógenos (Jensen et al., 1985; Jensen et Christiansen, 1988), aumenta la hidroxilación del estradiol a 2-hidroxiestradiol, que es una molécula menos activa (Michnovicz et al., 1986) y aumenta la actividad del citocromo P450 hepático (Longope y Johnston, 1988).

Sin embargo, la respuesta de los niveles de los estrógenos séricos a la acción del tabaco es muy dispar en distintos estudios. Se han descrito aumentos de los niveles séricos de estradiol en fumadoras premenopáusicas (Ortego Centeno et al., 1994), disminución de los niveles de estrona y estradiol en fumadoras afectas de cáncer de endometrio (Austin et al., 1993), disminución de los niveles de estrona y aumento de los de estradiol en los controles de mujeres fumadoras sin cáncer en este mismo estudio (Austin et al., 1993), niveles de estrona y estradiol similares a las no fumadoras, pero con disminución de los niveles de estrona sulfato en un grupo de mujeres que tomaban estrógenos exógenos (Lee Cassidenti et al., 1990), y también existen estudios que no encuentran diferencias entre fumadoras y no fumadoras (Thomas et al., 1993). Además, un estudio que administró ACTH a 10 mujeres postmenopáusicas sanas, cinco fumadoras y cinco no fumadoras, no encontró diferencias en los niveles de estrógenos a los 60 minutos de la administración de la ACTH (Lobel et al., 1993). Nosotros no encontramos cambios significativos en ninguna de estas hormonas, ni en la comparación de fumadoras con no fumadoras, ni en la comparación de las fumadoras entre sí en las determinaciones efectuadas al inicio del estudio y tras el mes de abstinencia. El no haber encontrado resultados positivos puede ser consecuencia de no haber dispuesto de un número suficiente de voluntarias, puesto que aunque las variaciones en los niveles de estrógenos séricos descritos en la literatura son muy distintos según los estudios y grupos de mujeres evaluados, creemos que la afectación estrogénica del tabaco es un hecho probado.

También se han descrito aumentos de los niveles séricos de gonadotropinas (Hopper y Seeman, 1994; Cooper et al., 1995) en mujeres fumadoras. El estudio de Cooper y col. se realiza en mujeres de 38 a 49 años, es decir, en mujeres que se encuentran en la edad de inicio de la menopausia. Los hallazgos encontrados, un aumento en los niveles de FSH en fumadoras frente a no fumadoras y un mayor incremento anual de estos niveles en fumadoras, sugieren que el tabaco acorta el tiempo de transición menopáusica (Cooper et al., 1995). Estos aumentos no se han confirmado en mujeres premenopáusicas (Thomas et al., 1993). Al igual que estos últimos autores, en nuestro trabajo, tanto en mujeres premenopáusicas como en varones, tampoco se detectaron cambios en los niveles séricos de FSH ni de LH en ninguna de las comparaciones efectuadas.

También se han descrito aumentos de andrógenos en mujeres fumadoras (Austin et al., 1993; Khaw et al., 1988; Lee Cassidenti et al., 1992). En mujeres premenopáusicas, en cambio, se ha encontrado un descenso en los niveles de testosterona libre, aunque sin que existieran cambios en los niveles de testosterona total (Ortego Centeno et al., 1994). Estos mismos autores encuentran un aumento en los niveles de SHBG en las mujeres fumadoras. Nosotros encontramos que los niveles de SHBG disminuyen de forma significativa en las mujeres premenopáusicas abstinentes, lo que confirma la afectación de esta hormona por el tabaco.

En los análisis de regresión múltiple, la testosterona se correlacionó positivamente con la DMO en cuello femoral en varones y en fémur total en mujeres. Además, la androstendiona y la DHEAS se correlacionaron positivamente con la DMO en cuello femoral en mujeres. Otros autores habían encontrado una correlación positiva entre testosterona biodisponible y DMO (Greendale et al., 1997) en varones y mujeres de edad avanzada, así como una asociación también positiva con los estrógenos (Greendale et al., 1997; Slemenda et al., 1997), correlación esta última que nosotros no encontramos. En cambio, sí que se produjo una asociación positiva entre LH y DMO en fémur total y cuello femoral en varones. En otro estudio en mujeres premenopáusicas, los niveles de DHEAS se asociaron directamente con la DMO en columna y fémur proximal, y los de testosterona libre con la DMO de cuello femoral, región intertrocántera y triángulo de Ward, pero no con la DMO lumbar (Ortego Centeno et al., 1994). Esta correlación también se encuentra en jóvenes varones (Ortego Centeno et al., 1997). Los resultados de estos últimos autores son coincidentes con los obtenidos en

nuestro estudio, en donde además encontramos una correlación positiva con la androstendiona en cuello femoral. Además, en los varones encontramos una asociación positiva con la LH. Por tanto, se puede afirmar, que el hábito de fumar ejerce una acción apreciable sobre el metabolismo hormonal (Tabla).

Tabla. Correlaciones de las hormonas sexuales con la DMO.

	Varones jóvenes	Varones	Mujeres premenopáusicas	Mujeres postmenopáusicas
Greendale et al, 1997		T		T
Slemenda et al., 1997		E		E
Ortego Centeno et al., 1994			T, DHEAS	
Ortego Centeno et al., 1997	DHEAS			
Nuestro trabajo	T, LH		T, A, DHEAS	

T: testosterona; E: estrógenos; LH: hormona luteinizante; A: androstendiona; DHEAS: dehidroepiandrostendiona sulfato.

Por otro lado, los resultados de diversos trabajos que han evaluado las correlaciones existentes entre el hábito tabáquico y las hormonas sexuales no son siempre coincidentes. En un estudio en gemelas, se encontró una correlación positiva entre el hábito tabáquico y los niveles séricos de LH y FSH (Hopper et Seeman, 1994). Por contra, en mujeres postmenopáusicas que recibían tratamiento hormonal sustitutivo, el hábito tabáquico se correlacionó inversamente con los niveles de estrona y de estradiol (Jensen et al., 1985). Nosotros no encontramos ninguna asociación entre el tabaco y las hormonas sexuales evaluadas, por lo que es posible que en mujeres premenopáusicas sanas, el efecto del tabaco aún no sea lo suficientemente marcado como para encontrar diferencias. Por contra, si se pudieran evaluar estas mismas mujeres tras la menopausia, y se encontraran diferencias, podría afirmarse que existe un efecto tiempo y dosis-dependiente. En este sentido, se ha descrito en un grupo de mujeres postmenopáusicas, una relación entre DHEAS y tabaco, la cual era dosis-dependiente (Khaw et al., 1988). En otro estudio en mujeres jóvenes, los niveles de testosterona determinados a los 21 años, se asociaron positivamente con el consumo de cigarrillos durante la adolescencia

y con el consumo actual de tabaco (Martin et al., 2001). No obstante, en este estudio, la muestra de mujeres fumadoras se definió como haber fumado uno o más cigarrillos en los últimos 30 días. Además, de las 30 fumadoras incluidas en el estudio, solo 9 de ellas fumaban más de un paquete de cigarrillos al día. Por tanto, creemos que los resultados que correlacionan los niveles de testosterona con el hecho de ser fumadora activa no pueden ser muy valorables.

En los estudios en varones, el hábito tabáquico se correlacionó positivamente con los niveles de estradiol (Klaiber et al., 1984; Barret-Connor et Khaw, 1987), y con los de testosterona y estradiol en varones adultos sanos de menos de 65 años, aunque solo en el caso del estradiol la correlación fue estadísticamente significativa (Tamini et al., 2001). También se ha descrito una correlación positiva entre DHEAS y tabaco (Barret-Connor et al., 1986; LaCroix et al., 1990; Salvini et al., 1992), que persiste tras ajustar por edad (Barret-Connor et al., 1986; Salvini et al., 1992). En nuestro estudio se encuentra una asociación positiva con la FSH y negativa con la dihidrotestosterona, sin que llegue a detectarse relación con los niveles de estradiol ni de testosterona.

4. Otras hormonas

4.1. Hormonas tiroideas. El interés de las hormonas tiroideas en el estudio de la etiopatogenia de la osteoporosis radica en que el hipertiroidismo causa pérdida de masa ósea, a través de un incremento en los fenómenos de resorción y formación, con predominio del primero de ellos, si bien esta pérdida es reversible si se logra el eutiroidismo (Nóvoa Mogollón, 1994). Asimismo, el tratamiento sustitutivo con levotiroxina se ha asociado a disminución de DMO en mujeres premenopáusicas (Kung et Pun, 1991), y existe controversia acerca del efecto de la terapéutica supresiva (Nóvoa Mogollón, 1994). Por tanto, tiene interés conocer cual es el efecto del tabaco sobre estas hormonas.

Nuestros resultados demuestran un descenso significativo en los niveles de T4 libre en varones fumadores respecto a no fumadores, sin que se produzcan cambios en los niveles de T3, TSH ni tiroglobulina. No se produjeron cambios en las mujeres, ni en ninguno de los dos sexos al evaluar el efecto de la abstinencia.

Los estudios existentes sobre los efectos del tabaco en el metabolismo tiroideo apuntan a que algunos componentes del mismo son los responsables de estas alteraciones. Se ha comprobado que el tiocianato inhibe competitivamente el transporte de iodo, efecto que se ve aumentado en situaciones de deficiencia de iodo, y que inhibe la organificación del iodo e incrementa su liberación de las células. Por su parte, la nicotina estimula al sistema nervioso simpático, con lo que se favorece la síntesis de hormonas tiroideas, y el benzopireno estimula el metabolismo oxidativo hepático, favoreciendo la conversión hepática de T4 a T3 (Bertelsen y Hegedüs, 1994).

En un estudio realizado en monos se objetivaron descensos en los niveles de T3 total que se recuperaron tras una semana de abstinencia (Sepkovic et al., 1988). Al analizar los cambios según eran “buenos” o “malos” fumadores, grupos que se determinaron según los niveles de cotinina y carboxihemoglobina plasmáticas, se vió que los cambios, esta vez descensos de T3 y T4 libre, se producían en los “malos” fumadores, lo que sugiere que los fumadores establecidos están habituados a los componentes del tabaco que pueden afectar las hormonas tiroideas. Asimismo, se ha demostrado un incremento en los niveles de tiroglobulina y tiocianato en sangre de cordón en recién nacidos de padres fumadores, incrementos que se mantienen al año si los padres siguen fumando, lo que demuestra que los fumadores pasivos, al menos los niños de corta edad, tienen afectación tiroidea secundaria al tabaco (Gasparoni et al., 1998). Estos

autores atribuyen los incrementos de tiroglobulina a un efecto directo del tiocianato sobre la glándula tiroidea.

En adultos se ha comprobado un pequeño descenso en las concentraciones de T4 y rT3 y un aumento en la TSH al dejar de fumar (Melander et al., 1981). En este estudio se realiza el segundo control entre los días 3 y 77 de abstinencia, con lo que su efecto puede no ser uniforme. Nosotros también encontramos un descenso en los niveles de T4 junto a un discreto aumento en la TSH, aunque con tan pocas diferencias entre las dos determinaciones, que consideramos que probablemente estos cambios no se deben al efecto del tabaco. Otros estudios han encontrado que los fumadores varones de más de 70 años tienen mayores niveles séricos de T4 y rT3 y menores de TSH que los no fumadores (Eden et al., 1984), o bien no encuentran cambios en la T4 (Christensen et al., 1984; Nystöm et al., 1993). También se han comunicado niveles de T4 y T3 disminuidos en grandes fumadores (Sepkovic et al., 1984), dato que coincide con nuestros resultados en lo que respecta a la T4. Finalmente, en un estudio realizado en 4.368 varones jóvenes, de los que 1.962 eran fumadores activos, se encontró que los fumadores tenían mayores niveles séricos de T4 y menores de TSH que los no fumadores, con un nivel de significación $p < 0.05$ en ambos casos (Fisher et al., 1997). Esta disparidad de resultados en individuos de diferentes edades y sexos, hace pensar que la influencia del tabaco sobre el sistema tiroideo es poco importante. Nosotros encontramos diferencias en varones fumadores, en forma de descenso en la T4 libre, pero manteniéndose siempre dentro de valores normales. No encontramos modificaciones en la concentración de TSH. Tampoco el análisis de regresión múltiple mostró ninguna correlación de las hormonas tiroideas o la TBG con la masa ósea o con el tabaco. Por tanto, no creemos que el efecto nocivo del tabaco sobre el hueso se deba a su acción sobre las hormonas tiroideas.

4.2. Cortisol. En nuestro trabajo no se han encontrado diferencias en los niveles de cortisol, ni en la fase transversal del estudio ni en la longitudinal, en ninguno de los dos sexos. En condiciones normales, los niveles de cortisol alcanzan su máxima concentración por la noche, durante el sueño, y van descendiendo durante el día. Esto ocurre tanto en fumadores como en no fumadores (Benowitz et al., 1984). En nuestro trabajo se ha respetado el ritmo circadiano del cortisol, puesto que las determinaciones analíticas se han realizado siempre por la mañana, tras un periodo de descanso nocturno de al menos 7 horas.

Al igual que en nuestro estudio, tampoco se encontraron diferencias en los niveles de cortisol en otros trabajos realizados en mujeres postmenopáusicas (Lobel et al, 1993), en varones (Tucci et al., 1972) y en un grupo de hombres y mujeres (Benowitz et al., 1984). En otro trabajo realizado en varones y mujeres jóvenes, diseñado para estudiar el efecto del tabaco sobre la agregación plaquetaria en fumadores pasivos, en el que los niveles de cortisol urinario se utilizaron como marcadores de estrés biológico, tampoco se encontraron diferencias entre los distintos grados de exposición al tabaco (Smith et al., 2001). En otros estudios, no obstante, se había descrito un incremento en los niveles séricos de cortisol en fumadores (Wilkins et al., 1982; Yao et al., 1985), y un trabajo encontró que los primeros cinco cigarrillos fumados tras un periodo de descanso nocturno aumentan los niveles séricos de cortisol, es decir, que reducen el declinar fisiológico matutino del cortisol (Meliska et Gilbert, 1991). Estas diferencias pueden deberse a haber utilizado diferentes técnicas en la determinación del cortisol, a diferencias entre los participantes en los estudios o a la aparición de tolerancia a los cambios producidos por el tabaco en los individuos fumadores después de algunas horas de fumar (Benowitz et al., 1984). Por otro lado, en un estudio en el que se comparaban los niveles de cortisol, endorfinas y efectos subjetivos del tabaco a distintas dosis de exposición, los incrementos en los niveles de cortisol y endorfinas, así como la aparición de efectos subjetivos, como por ejemplo, la sensación de náuseas, solo se producen cuando la exposición es de 2,4 mg de nicotina, pero no si es menor (Gilbert et al., 1992). Es decir, que las elevaciones de cortisol se producirían en caso de exposiciones a dosis altas en un corto periodo de tiempo, lo cual no es lo habitual en los fumadores corrientes.

Por tanto, dada la discrepancia de resultados existentes en la literatura, no podemos afirmar categóricamente que el efecto del tabaco sobre el cortisol es inexistente, y que, en consecuencia, las alteraciones del tabaco sobre el hueso no se producen por alteraciones en el metabolismo del cortisol.

4.3. Leptina. La leptina es una hormona de creciente interés en el estudio de la osteoporosis debido a una serie de acciones recientemente descritas. A su clásica y conocida función como reguladora del balance energético (Maffei et al., 1994), se empiezan a conocer otras importantes acciones que repercuten en el metabolismo óseo, bien sea a través de su acción en el hipotálamo (Ducy et al., 2000), en la médula ósea, donde favorece favorece la diferenciación de células estromales a osteoblastos (Thomas

et al., 1999) o a nivel del mismo osteoblasto, en donde se ha descrito la presencia de receptores (Reseland et al., 2001). Por otro lado, es probable que la secreción de leptina esté regulada en parte por las hormonas esteroideas (Mantzoros et al., 1998; Luukkaa et al., 1998; Lagiou et al., 1999). No obstante, y a pesar de las aportaciones de los autores que han estudiado la regulación hormonal de la leptina, las relaciones entre ésta y las hormonas sexuales son muy complejas y aún no se conocen con claridad. A la acción de los andrógenos sobre los niveles séricos de leptina hay que añadir que la leptina actúa favoreciendo la síntesis de LH y FSH, a la vez que ejerce un efecto inhibitorio a nivel periférico en las gónadas (Wauters et al., 2000).

El estudio de los niveles séricos de leptina debe realizarse teniendo en cuenta que esta hormona es influenciada por factores externos como el consumo de alcohol (Wei et al., 1997; Mantzoros et al., 1998; Donahue et al., 1999), que existen diferencias entre las diferentes etnias (Wei et al., 1997), y que sus niveles se correlacionan con el IMC, la edad (Wei et al., 1997) y los niveles plasmáticos de insulina (Wei et al., 1997; Mantzoros et al., 1998; Donahue et al., 1999). En nuestro estudio, todos los participantes eran de raza blanca, ninguno de ellos era diabético ni tenía antecedentes de intolerancia a la glucosa, y los dos grupos estudiados fueron comparables en IMC y consumo de alcohol, aunque los fumadores eran de mayor edad y consumían una mayor cantidad de café diario. Las comparaciones entre fumadores y controles fueron ajustadas por las diferencias en edad existentes entre los dos grupos, así como por las diferencias en el consumo de café.

Tal como está descrito en la literatura, las mujeres tenían significativamente mayores niveles séricos de leptina que los varones. Los fumadores de ambos sexos tuvieron mayores concentraciones de leptina que los no fumadores, con diferencias estadísticamente significativas en el caso de las mujeres. En algunos trabajos previos, al contrario que en nuestro caso, el hábito de fumar se había asociado a descensos en sus concentraciones séricas (Wei et al., 1997; Mantzoros et al., 1998; Donahue et al., 1999), aunque otros autores no habían encontrado relación con el tabaco (Lagiou et al., 1999), y otros, al igual que nosotros, describen un aumento de estos niveles (Eliasson et al., 1999). Las diferencias existentes en los resultados de estos trabajos pueden deberse a diferencias en la selección de los sujetos en cuanto a grado de obesidad u otros factores, o en la distinta prevalencia de fumadores de cada estudio. Por otro lado, los niveles de los ex-fumadores tienden a estar situados en un punto intermedio entre fumadores y no fumadores (Wei et al., 1997), o a tender a igualarse con los de los no fumadores

(Nicklas et al., 1999). En nuestro trabajo, en cambio, observamos un ligero aumento no significativo de los niveles de leptina tras el mes de abstinencia. Este hecho, que a primera vista parece paradójico, también se produce en otro reciente trabajo (Eliasson et al., 1999), habiéndose atribuido al aumento de peso y grasa corporal que se produce al abandonar el hábito tabáquico. En este trabajo, la segunda determinación de leptina se realizó a las ocho semanas, mientras que en nuestro caso se realizó al mes del abandono del hábito, por lo que es probable que el aumento de peso que se hubiera podido producir en nuestros voluntarios no sea tan importante como en el estudio de Eliasson y col., con el consiguiente menor aumento de los niveles séricos de leptina, que no son suficientes para producir significación estadística.

En el análisis de regresión múltiple, la leptina no se correlacionó con la masa ósea ni en hombres ni en mujeres. Este hecho está en desacuerdo con los resultados de algunos autores que sí habían encontrado esta relación en varones adultos (Sato et al., 2001) y en mujeres de distintas edades (Goulding et al., 1998; Iwamoto et al., 2000; Ibañez et al., 2000; Pasco et al.; 2001), y coincide con las observaciones de otros investigadores que no la encuentran (Rauch et al., 1998; Martini et al., 2001; Klein et al., 1998). Por otro lado, un trabajo que estudió 50 mujeres postmenopáusicas con osteoporosis y las comparó con 30 mujeres postmenopáusicas sin osteoporosis solo encontró una correlación positiva entre leptina y DMO en las mujeres con osteoporosis, aunque de pequeña cuantía (Odabasi et al., 2000), lo que sugiere que los niveles circulantes de leptina no tienen una gran influencia sobre la masa ósea en mujeres postmenopáusicas. En nuestro trabajo tampoco encontramos correlación entre los niveles de leptina y el consumo de tabaco.

En resumen, en nuestro trabajo los niveles de leptina se ven influenciados por el consumo de tabaco en mujeres jóvenes. Esto, junto a la probable relación existente entre leptina y DMO descrita en algunos estudios, puede significar que el tabaco podría jugar un papel en la patogenia de la osteoporosis a través de modificaciones en la leptina.

5. Eje PTH-Vitamina D

Los resultados de nuestro trabajo muestran que los fumadores tienen unas concentraciones séricas de PTH intacta y de 25-hidroxivitamina D significativamente inferiores a los no fumadores. No se encontraron diferencias en los niveles de 1,25 dihidroxivitamina D. Las diferencias encontradas se producen a expensas de los varones en el caso de la PTH intacta, y de las mujeres en el caso de la 25 hidroxivitamina D. En la fase longitudinal del estudio, el efecto de la abstinencia se tradujo en un aumento no significativo de los niveles de 1,25 D en mujeres, sin que se produjeran cambios en los varones. En cambio, los niveles de 25 D descendieron de forma significativa en los abstinentes, diferencias que al analizar ambos sexos por separado se observó que se producían a expensas de los varones, sin que existieran diferencias en las mujeres.

La vitamina D está directamente relacionada con el hueso. El déficit franco de vitamina D produce osteomalacia en los adultos y raquitismo en los niños, pero los déficits de menor cuantía se han relacionado con la osteoporosis. La hipovitaminosis D en sus fases iniciales produce una disminución en la absorción intestinal de calcio, lo cual conduce a un hiperparatiroidismo secundario que facilita la pérdida de masa ósea y predispone al riesgo de fracturas (Parfitt,1990). Los pacientes con déficit de vitamina D tienen un descenso de los niveles de 25-hidroxivitamina D y un aumento de los niveles de parathormona, pero mantienen normales los niveles de 1,25-dihidroxivitamina D. Aunque el verdadero papel del déficit de vitamina D en la patogenia de la osteoporosis está aún por establecer de forma definitiva, se puede aceptar que ésta podría tener un papel en la patogénesis de la osteoporosis senil (González Macías y Riancho Moral, 1996).

Al realizar estudios sobre vitamina D deben tomarse en consideración diversos factores que pueden influir en sus resultados, como la existencia de poblaciones de riesgo de hipovitaminosis D, la edad de los participantes en el estudio o la estación del año en la que se realiza su determinación.

Los niveles séricos de vitamina D disminuyen con la edad. Ello se debe a que la síntesis de 7-dehidrocolesterol en la piel está disminuida (McLaughlin et Holick, 1985). Además, los individuos ancianos, en particular aquellos con limitaciones funcionales que pasan una gran parte del tiempo en su domicilio o en instituciones cerradas, suelen recibir una menor exposición solar (Reid et al., 1986), y tienen reducida la absorción de

calcio intestinal (Alevizaki et al., 1965) y la síntesis renal de 1,25 D (Tsai et al., 1984). La disminución de 1,25 D estimularía aún más la secreción de PTH (Riggs et Melton, 1983).

Las poblaciones de riesgo para la hipovitaminosis D son los recién nacidos, los inmigrantes de países cálidos a países de Europa Occidental, los ancianos (Bouillon et al., 1995), los portadores de enfermedades como la ferropenia que puede disminuir la absorción de vitamina D en el intestino delgado (Heldenberg et al., 1992), la enfermedad celiaca en el momento del diagnóstico o la resistente al tratamiento con gluten (Keaveny et al., 1996), o la enfermedad de Parkinson, debido a la inmovilidad que produce en los enfermos que, por tanto, disminuyen el tiempo de exposición solar (Sato et al., 1997). Se han descrito también diferencias raciales con un predominio de deficiencia de vitamina D en ancianos afroamericanos (Perry et al., 1993).

La prevalencia de la hipovitaminosis D es elevada. En los países occidentales se sitúa entre el 3 y el 28% de Norteamérica y entre el 70 y el 100% descrito en los ancianos institucionalizados de países europeos (Mc Kenna, 1992). Estas diferencias podrían explicarse por las distintas dietas con mayor o menor cantidad de vitamina D y por la mayor tendencia a suplementarlas en Norteamérica. Además, las concentraciones de 25-hidroxivitamina D varían con la estación del año, siendo más bajas en invierno en Europa que en Norteamérica y en los países escandinavos. En una revisión europea en la que se analizan 41 estudios (Bouillon et al., 1995), los niveles séricos de 25-hidroxivitamina D en ancianos fueron inferiores o iguales a 15 ng/ml en 33 estudios, e inferiores a 10 ng/ml en 16. Los déficits severos (< 5 ng/ml) alcanzaron hasta el 25-90% en algunos de los estudios revisados. En pacientes menores de 65 años que requieren hospitalización, la prevalencia de hipovitaminosis D se ha valorado en el 42% (Thomas et al., 1998).

En nuestro país, la prevalencia de hipovitaminosis D se sitúa entre el 20% en los ancianos cordobeses afectados de enfermedades crónicas (Quesada et al., 1985, Quesada et al., 1989), y el 70% de los ancianos de Madrid (Martínez et al., 1996), cifra que alcanza el 91% en los que han sufrido una fractura de cadera. En mujeres postmenopáusicas, la prevalencia se sitúa entre el 35,3 % si se cogen como corte valores de 25-hidroxivitamina D inferiores a 10 ng/ml, y el 87,1% si el corte se realiza en los 20 ng/ml (Aguado et al., 2000). Pero la hipovitaminosis D no es solo un problema de los ancianos, sino que también en niños sanos se ha encontrado que en los meses invernales

existe hasta un 80% de casos con valores de 25 D inferiores a 20 ng/ml (Docio et al., 1998).

Otros grupos con riesgo de déficit de vitamina D son los niños que reciben tratamiento anticonvulsivante (Riancho et al., 1989) y los enfermos afectados de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (Riancho et al., 1987).

Los voluntarios que han participado en nuestro estudio son todos de raza blanca, jóvenes en edad laboral activa, y con un hábito dietético normal. Ninguno de ellos se encontraba afecto de alguna enfermedad que alterara la absorción de vitamina D, no se encontraban en situación de inmovilidad, ni recibían ningún tipo de tratamiento médico que afectara el metabolismo de la hormona. Con esto se obvian las posibles diferencias en los niveles séricos de vitamina D que pudieran haber existido por los motivos mencionados.

En nuestro trabajo, los fumadores tenían unas concentraciones séricas de 25 hidroxivitamina D significativamente inferiores a los no fumadores. Estas diferencias se mantenían en las mujeres, mientras que en los varones no se encontraron diferencias significativas. No se encontraron diferencias en los niveles de 1,25 dihidroxivitamina D. Estos resultados coinciden con los de otros autores que han estudiado el efecto del tabaco sobre el eje PTH-vitamina D en mujeres postmenopáusicas con osteoporosis (Chapurlat et al., 2001), y en mujeres perimenopáusicas (Brot et al., 1999; Hermann et al., 2000). En el primero de estos trabajos, se describe también un descenso en los niveles de 1,25 dihidroxivitamina D y de PTH. Previamente a estos estudios se habían descrito disminuciones de 25 D en mujeres postmenopáusicas sanas americanas, aunque con diferencias no significativas (Krall et Dawson-Hughes, 1991b). En otros trabajos, en cambio, no se encontraron diferencias en los niveles de vitamina D entre fumadores y no fumadores en adultos varones jóvenes (Scragg et al., 1992) ni en mujeres de edad avanzada (Scragg et al., 1995).

Los niveles de PTH se han encontrado disminuidos en (Mellström et al., 1993; Brot et al., 1999), así como en jóvenes mujeres fumadoras (Gudmundsson et al., 1987), en un estudio poblacional sueco (Landin-Wilhelmsen et al., 1995), en un estudio en gemelas (Hopper y Seeman, 1994) y en el estudio de las mujeres postmenopáusicas osteoporóticas (Chapurlat et al., 2001). Nosotros encontramos un descenso de PTHi en fumadores varones, pero no en mujeres, lo que no se corresponde con los resultados de los trabajos anteriores. En nuestro país, dos trabajos realizados en mujeres y varones

jóvenes no encuentran diferencias en los niveles de PTH entre fumadores y no fumadores en ninguno de los dos sexos (Ortego Centeno et al., 1994; Ortego Centeno et al., 1997).

El mecanismo por el cual el hábito tabáquico disminuye los niveles de 25 D es incierto. Se ha apuntado a que el incremento de la actividad de distintas enzimas hepáticas producido por el tabaco juegue un papel en ello (Hermann et al., 2000). Las variaciones en las concentraciones de PTH producidas por el tabaco son difíciles de explicar. La respuesta lógica al descenso en los niveles de 25 D sería la aparición de un hiperparatiroidismo secundario. En cambio, en muchos de los estudios mencionados se observa un descenso en los niveles de PTH en fumadores. Tampoco en nuestro trabajo se encuentra una relación PTHi/25 D, ya que los varones fumadores tienen un descenso de PTHi sin modificaciones en la 25 D, y las mujeres fumadoras tienen un descenso de los niveles de 25 D y no se modifican los de PTHi. En el trabajo de Hooper y Seeman, las diferencias en los niveles de PTH pueden atribuirse a las diferencias en las concentraciones séricas de calcio y al efecto negativo del tabaco sobre el metabolismo estrogénico (Hooper y Seeman, 1994). No obstante, estas explicaciones no son válidas para Brot y col. (Brot et al., 1999), ya que el descenso en los niveles séricos de PTH en fumadoras no puede explicarse por las diferencias en las concentraciones de calcio o fósforo ionizados, ni por la afectación estrogénica del tabaco, puesto que aunque no determinan niveles de estrógenos, las concentraciones de FSH y LH no muestran diferencias entre fumadoras y no fumadoras. En nuestro trabajo tampoco existían diferencias en las concentraciones de Ca sérico en varones fumadores, aunque sí se encontró un efecto sobre el metabolismo estrogénico al estar aumentados los niveles de estrona en fumadores. El descenso de PTHi tampoco puede explicarse por las diferencias que pudieran existir en algunos aspectos del estilo de vida, como el consumo de café, la ingesta de calcio y vitamina D o la exposición solar, o por diferencias en el IMC entre fumadores y no fumadores (Brot et al., 1999). Por tanto, queda abierta la puerta a futuros estudios sobre un posible efecto directo del tabaco sobre el eje hipotálamo-hipofisario.

Es de destacar que la respuesta al tabaco observada en nuestro estudio es distinta en hombres y en mujeres, puesto que las mujeres presentan un descenso significativo de 25 D, mientras que en los varones, los niveles de 25 D permanecen prácticamente sin variación.

En la fase longitudinal del estudio, el efecto de la abstinencia se tradujo en un aumento no significativo de los niveles de 1,25 D en mujeres, sin que se produjeran cambios en los varones. En cambio, los niveles de 25 D descendieron de forma significativa en los varones, sin existir diferencias en las mujeres. No observamos diferencias en los niveles de PTHi. Ello implica una vez más un distinto comportamiento en ambos sexos, a la vez que se confirma la influencia del tabaco sobre el metabolismo de la vitamina D. El aumento en 1,25 D al cesar el consumo de tabaco es consecuente con las observaciones previas de que el tabaco disminuye la absorción intestinal de calcio (Krall et Dawson-Hugues, 1991). Aunque en este trabajo no se pudo constatar una alteración significativa en los niveles de calcio sérico ni en la fase transversal ni en la longitudinal del estudio, el aumento de 1,25 D al abandonar el hábito tabáquico, podría ser consecuencia de un aumento de la capacidad absorbente de calcio por el intestino, lo que apoyaría los resultados de Krall y Dawson-Hugues. El porque no se encuentran diferencias en las concentraciones séricas de calcio puede ser debido a que el tamaño de la muestra no es lo suficientemente grande. Otra posible explicación sería por un efecto directo del hueso, el cual, al cesar el estímulo nocivo del tabaco, estaría ávido de calcio, con lo que el incremento en la absorción de calcio no se traduciría a nivel plasmático, e incluso podría explicar el leve descenso no significativo observado al dejar de fumar.

En el análisis de regresión múltiple, no encontramos ninguna asociación estadísticamente significativa entre los niveles séricos de 25 D, 1,25 D y PTHi con la DMO en ninguna de las tres localizaciones evaluadas, si bien se ha detectado una débil asociación negativa con la 25 D y la 1,25 D tanto en varones como en mujeres.

No obstante, en otros estudios se han descrito asociaciones entre 25 D y DMO (Khaw et al., 1992; Martínez et al., 1994; Brot et al., 1999a). En el primero de estos trabajos, realizado sobre 138 mujeres de 45 a 65 años sin osteoporosis, se describe una correlación positiva entre los niveles de 25 D y la DMO lumbar y de cuello femoral y trocánter. Martínez y col., realizan un estudio en 150 mujeres postmenopáusicas con un índice Z lumbar por debajo de 0, a las que dividen en subgrupos de mayores y menores de 60 años, y agrupan también según el valor de Z. Para las comparaciones hormonales utilizan un grupo control de 25 mujeres premenopáusicas. Las mujeres postmenopáusicas con Z inferior a -2 tenían mayores niveles de PTH y de 1,25 D que las mujeres premenopáusicas, mientras que los niveles de 25 D fueron mayores en las mujeres premenopáusicas y en las postmenopáusicas con índice Z mayor a -2 que en

aquellas con índice Z inferior a -2 . Los niveles de 25 D se correlacionaron positivamente con la DMO lumbar en todas las mujeres postmenopáusicas, y con la DMO de cuello femoral, trocánter y triángulo de Ward en el grupo de mayor edad. Brot y col., describen una asociación positiva entre 25 D y DMO lumbar en un grupo de 510 mujeres perimenopáusicas. Estas asociaciones siempre se han descrito en mujeres peri o postmenopáusicas

En otros estudios se encuentra una correlación inversa entre los niveles de 1,25 D y la masa ósea (Sowers et al., 1990; Prince et al., 1993; Brot et al., 1999). En el primero de estos trabajos se evalúa la masa ósea radial en 373 mujeres de 20 a 80 años de edad. Los niveles de 1,25 D se asociaron con la masa ósea radial tanto en mujeres premenopáusicas como en postmenopáusicas en un modelo bivariado. Esta asociación se mantuvo en las mujeres postmenopáusicas tras realizar el análisis ajustado por diversos factores confusionales, pero se perdía en un subgrupo de mujeres que recibían tratamiento con tiazidas. El segundo estudio se realizó en 196 mujeres postmenopáusicas, encontrando una correlación inversa entre los niveles 1,25 D y la DMO medida en tobillo y en cadera. No se encontró correlación con la columna. En el tercero de estos trabajos, realizado en 510 mujeres perimenopáusicas, el estudio de regresión se realiza en fumadores y no fumadores, viendo que las rectas de regresión no difiereían entre ellos, pero que a un valor sérico determinado de 1,25 D, los fumadores tenían menor DMO que los no fumadores. En esta misma población se encuentra una correlación inversa entre los niveles séricos de 1,25 D y la DMO en columna y cuello femoral, y entre 1,25 D y el contenido mineral óseo corporal total (Brot et al., 1999a). Una posible explicación a esta asociación, es que los individuos con baja DMO aumentan los niveles de 1,25 D como un mecanismo compensatorio con el fin de aumentar la absorción intestinal de calcio (Prince et al., 1993). Ello es consistente con la pérdida de correlación cuando se toman tiazidas, fármaco que ahorra el calcio eliminado por el riñón (Sowers et al., 1990).

Una correlación positiva entre PTH y DMO en cuello femoral, región intertrocantérea y triángulo de Ward ha sido descrita en varones jóvenes (Ortego Centeno et al., 1997). En nuestro trabajo, en cambio, y al igual que en otros trabajos realizados en población de mayor edad no se encuentra esta relación. En mujeres postmenopáusicas no existe relación entre los niveles de PTH y la DMO medida en columna, tobillo ni cadera (Prince et al., 1993), y en mujeres perimenopáusicas tampoco se encuentra ninguna

correlación entre PTH y DMO lumbar y femoral (Brot et al., 1999a). Nosotros tampoco encontramos ninguna correlación entre DMO y PTH en mujeres premenopáusicas.

Por otro lado, en un estudio en gemelas, fumar se asoció inversamente con la PTH (Hopper et Seeman, 1994), al igual que en un grupo de mujeres de 45 a 65 años sin osteoporosis (Khaw et al., 1992). Esta relación se contrapone a nuestros resultados, en los que el tabaco se correlacionó positivamente con los niveles de PTH en mujeres.

En conclusión, tanto los datos existentes en la literatura como los obtenidos en nuestro estudio muestran una influencia del tabaco sobre el eje PTH-vitamina D. Ello puede significar que el efecto del hábito tabáquico sobre el hueso se produzca en parte a través de alteraciones en este eje.

6. Marcadores bioquímicos de remodelado óseo

Los resultados obtenidos en nuestro estudio muestran variaciones en los niveles urinarios de NTx en mujeres fumadoras con respecto a no fumadoras. Concretamente se encuentra un aumento significativo en la concentración urinaria de este marcador en fumadoras. No se encontraron variaciones en los varones, así como tampoco se encontraron diferencias en ninguno de ambos sexos en los niveles plasmáticos de osteocalcina y fosfatasa ácida tartrato-resistente. Tampoco se han hallado cambios al comparar los valores obtenidos tras el mes de abstinencia tabáquica en el grupo que dejó de fumar. Estos resultados nos permiten sustentar la hipótesis de que la pérdida de masa ósea producida por el tabaco puede deberse en parte a una afectación del remodelado óseo, concretamente a través de un aumento de la resorción ósea. Si bien, esto no ha podido demostrarse en los varones, sí se produce en las mujeres premenopáusicas.

Al analizar los resultados de los marcadores de remodelado deben tenerse en cuenta varias consideraciones (Hannon et Eastell, 2000). Existe una variabilidad preanalítica que incluye factores no controlables como la edad, sexo, etnia, gestación y lactancia, menopausia, enfermedad, ingesta de fármacos, fractura reciente, estancia en cama e inmovilidad. En este trabajo hemos podido comprobar la importancia de uno de estos factores, al ser los voluntarios fumadores de más edad que los no fumadores. Otro tipo de factores, como las variaciones debidas al ritmo circadiano, el ciclo menstrual y la realización de ejercicio, son controlables. En este trabajo todos los pacientes eran jóvenes sanos, de raza blanca, no tenían enfermedades que pudieran alterar el metabolismo óseo, no tomaban ningún tipo de medicación y no habían sufrido fracturas recientes, por lo que creemos que estos factores no han influido en los resultados obtenidos. Las mujeres participantes eran todas premenopáusicas y no estaban embarazadas ni en periodo de lactancia.

Las variaciones secundarias al ritmo circadiano son mayores para los marcadores de resorción que para los de formación. La medición de NTx puede variar hasta en un 50% si la muestra se recoge a las 7 horas de la mañana o a las tres de la tarde. Por ello, las extracciones se realizaron siempre a la misma hora de la mañana, tras un periodo de reposo nocturno de al menos 7 horas. Las variaciones debidas al ciclo menstrual se minimizaron realizando la extracción en los primeros cinco días de la menstruación. La influencia del ejercicio es más difícil de controlar, aunque la encuesta realizada previa a la extracción de muestras no muestra grandes diferencias en el número de horas

semanales dedicadas al ejercicio entre ambos grupos. Existe también una variabilidad estacional, habiéndose descrito variaciones en los valores de los marcadores de remodelado de hasta un 20% entre invierno y verano, aunque en otros estudios no se encuentran variaciones significativas. Por lo general, las variaciones estacionales son pequeñas y no suponen un cambio significativo en la variabilidad preanalítica de un paciente individual (Hannon et Eastell, 2000). Estas posibles diferencias se han obviado realizando las extracciones de forma que no predomine una determinada época del año en el momento de la extracción en ninguno de los dos grupos. La comparación entre fumadores se realiza con un mes de diferencia, con lo cual no es probable que se produzcan variaciones por este motivo.

La influencia de la edad en los resultados obtenidos ha sido determinante. Las comparaciones basales no habían mostrado diferencias entre los dos grupos, pero al realizar los ajustes por edad, las mujeres fumadoras tenían un aumento en las concentraciones urinarias de NTx. Este hecho puede explicarse porque en las mujeres los valores de NTx se correlacionan inversamente con la edad, con lo que al ser de mayor edad las mujeres fumadoras, las diferencias producidas por el tabaco quedan enmascaradas con el descenso en los niveles urinarios producidos por efecto de la edad. Esta correlación inversa se produce tanto en fumadoras como en no fumadoras, es decir, que la disminución de NTx atribuible a la edad es independiente del efecto del tabaco. En los varones, en cambio, no se observó ninguna correlación con la edad, y tampoco se produjeron cambios en los niveles de NTx por efecto del tabaco, lo cual podría significar un distinto comportamiento de ambos sexos en relación al efecto tóxico del tabaco sobre el metabolismo óseo. Los cambios en las concentraciones de los marcadores de remodelado con la edad son hechos conocidos y descritos con anterioridad (Delmas et al., 2000; Hannon et Eastell, 2000). Los valores de los marcadores de remodelado son significativamente más altos en niños que en adultos. Tras la pubertad, los niveles descienden paulativamente hasta alcanzar los niveles de la edad adulta, lo cual se consigue alrededor de la cuarta década de la vida. Desde este momento, en los varones no se producen cambios en los años subsiguientes, mientras que en las mujeres se produce un incremento al llegar la menopausia.

La existencia de una menor DMO en fumadores, incluidos sujetos jóvenes, es un hecho ampliamente recogido en la literatura. Este descenso en la DMO podría hacer suponer que los marcadores de remodelado óseo estuvieran alterados. En individuos jóvenes,

Ortego-Centeno y col. no encuentran diferencias en los niveles séricos de osteocalcina ni en la excreción de hidroxiprolina urinaria entre fumadores y no fumadores de ambos sexos (Ortego Centeno et al., 1994; Ortego Centeno et al., 1997). Estos mismos resultados se encuentran también en un estudio realizado en gemelas (Hopper et Seeman 1994), aunque en este trabajo, las diferencias halladas en las concentraciones de calcio sérico en 17 pares de gemelas se asociaron positivamente con diferencias en la excreción urinaria de hidroxiprolina, lo que es consistente con un incremento de la resorción ósea, hecho que coincide con nuestros resultados.

Posteriormente se han comunicado alteraciones en los marcadores de formación ósea en individuos fumadores. Así, en un trabajo que evaluó las relaciones entre la DMO apendicular y distintos marcadores bioquímicos (Mariconda et al., 1997), el tabaco no se asoció a cambios en la DMO medida a nivel radial, pero se demostró una asociación positiva con los niveles séricos de osteocalcina. Un descenso en los niveles de marcadores de formación en mujeres fumadoras se ha encontrado también en otros estudios (Brot et al., 1999; Hermann et al., 2000; Bjarnason et Christiansen, 2000; Chapurlat et al., 2001), con diferencias de hasta un 10% en un estudio realizado en 153 mujeres (Bjarnason et Christiansen, 2000). En estos trabajos, salvo en el último de ellos, que encuentra un incremento en los niveles urinarios de CTx en fumadoras, no se hallaron diferencias en los marcadores de resorción ósea.

Por tanto, los estudios realizados hasta ahora parecen mostrar una posible alteración en los marcadores de formación en individuos fumadores. En el presente trabajo, no se encuentran modificaciones en los niveles séricos de los marcadores de formación, pero sí se encuentran en los niveles urinarios de un marcador de resorción ósea como el NTx. No obstante, sus niveles no se modifican intraindividuo tras un mes de abstinencia tabáquica. Este hecho puede ser discutible, puesto que en estudios previos se ha demostrado que los marcadores de remodelado óseo son susceptibles de cambio en periodos de tiempo inferiores a un mes. Así, un estudio en animales de experimentación encontró que tras administrar una dosis de alcohol se producen de forma precoz cambios en los parámetros histomorfométricos de resorción y formación, que se siguen a las pocas horas de cambios correspondientes en los parámetros bioquímicos de remodelado óseo (Díez et al., 1997). En otro se demostró que la estancia en cama durante cinco días ya induce cambios detectables en los mismos (Pedersen et al., 1995), y en períodos aún más cortos, de tan sólo 24 horas o menos se han comprobado variaciones en la osteocalcina tras ingerir alcohol (Rico et al., 1985). Una posible

explicación de no encontrar variaciones en ninguno de los tres marcadores evaluados puede ser la falta de tamaño muestral suficiente.

En el estudio de regresión lineal no encontramos una correlación entre los marcadores analizados y la DMO. Por otro lado, los niveles de FATR se asociaron positivamente con el tabaco en mujeres, lo que apoya la hipótesis de que el tabaco aumenta la resorción ósea en fumadoras. En la literatura existen pruebas de que el tabaco afecta a los marcadores de remodelado óseo en edades más avanzadas. En mujeres perimenopáusicas se ha descrito una correlación negativa entre tabaco y osteocalcina, así como una correlación también negativa entre osteocalcina y DMO (Hermann et al., 2000). En otros trabajos, en cambio, la correlación entre tabaco y osteocalcina en mujeres perimenopáusicas fue positiva, y no se encontró relación entre DMO y osteocalcina o piridolinas (Mariconda et al., 1997). En mujeres postmenopáusicas se ha descrito una correlación negativa entre la DMO medida en columna, tobillo y cadera y el índice hidroxiprolina/creatinina (Prince et al., 1993), indicando que en mujeres ancianas, la resorción ósea es un importante mecanismo en la pérdida de masa ósea. Parece pues, que existe una relación entre tabaco y marcadores de remodelado, sobre todo con la osteocalcina, lo que junto a los resultados obtenidos en nuestro trabajo hacen pensar en una acción real del tabaco sobre el metabolismo óseo. No obstante, la disparidad de resultados existentes en la literatura nos obliga a ser prudentes en la formulación de teorías, y hace que sean necesarios estudios de mayor amplitud.

CONCLUSIONES

Según los resultados obtenidos en este trabajo se pueden extraer las siguientes conclusiones:

- 1- El hábito tabáquico afecta el metabolismo hormonal y óseo, efecto que se evidencia ya en edades jóvenes de la vida.
- 2- El tabaco afecta la masa ósea en todas las localizaciones estudiadas. En varones jóvenes existe una pérdida significativa de masa ósea en columna lumbar.
- 3- El tabaco influye en el metabolismo estrogénico. Los varones fumadores tienen mayores niveles séricos de estrona que los no fumadores. El abandono del hábito tabáquico produce una disminución de los niveles de SHBG en mujeres jóvenes.
- 4- El hábito tabáquico aumenta los niveles séricos de leptina en mujeres jóvenes.
- 5- Existe una alteración del metabolismo de la vitamina D en personas jóvenes. Las mujeres fumadoras tienen menores concentraciones séricas de 25 hidroxivitamina D que las no fumadoras, y los varones fumadores tienen menores niveles de PTH intacta.
- 6- El abandono del hábito tabáquico produce un descenso en los niveles de 25 hidroxivitamina D en varones. Los niveles de 1,25 dihidroxivitamina D tienden a aumentar en mujeres.
- 7- Fumar produce un aumento de la resorción ósea. Las mujeres fumadoras tienen aumentada la excreción urinaria de N-telopéptido.
- 8- La afectación ósea del tabaco puede producirse a través de alteraciones en el metabolismo estrogénico, y también a través de alteraciones en el metabolismo del eje PTH-vitamina D.

BIBLIOGRAFIA

1. Aguado P, Garcés MV, González Casaús ML, del Campo MT, Richi P, Coya J, et al. (2000) Alta prevalencia de deficiencia de vitamina D en mujeres posmenopáusicas de una consulta reumatológica en Madrid. Evaluación de dos pautas de prescripción de vitamina D. *Med Clin (Barc)*; 114: 326-330.
2. Alevizaki CC, Ikkos DG, Singhelakis P (1965) Progressive decrease of true intestinal calcium absorption with age in normal man. *J Nucl Med*; 14: 760-762.
3. Altadill A (1993) Incidencia de fractura osteoporótica de cadera en Asturias. *Rev Esp Enf Metab Oseas*; 2 (suppl. B): 22.
4. Anderson FH, Francis RM, Selby PL, Cooper C (1998) Sex hormones and osteoporosis in men. *Calcif Tissue Int*; 62: 185-188.
5. Anónimo (1997) Consensus development statement. Who are candidates for prevention and treatment for osteoporosis? *Osteoporosis Int*; 7: 1-6.
6. Anónimo (1997b) Ministerio de Sanidad y Consumo. Encuesta Nacional de Salud, 1997.
7. Anónimo (1998) Department of Health. Smokink kills. A white paper on tobacco. Londres: Stationery Office, 1998.
8. Andersen FS, Transbøl I, Christiansen C (1982) Is cigarette smoking a promotor of the menopause? *Acta Med Scand*; 212: 137-139.
9. Anderson FH, Francis RM, Peaston RT, Wastell HJ (1997) Androgen supplementation in eugonadal men with osteoporosis: effects of six months' treatment on markers of bone formation and resorption. *J Bone Miner Res*; 12: 472-478.
10. Austin H, Drews C, Partridge EE (1993) A case-control study of endometrial cancer in relation to cigarette smoking, serum estrogen levels, and alcohol use. *Am J Obstet Gynecol*; 169: 1086-1091.
11. Barbieri RL, Gochberg J, Ryan KJ (1986) Nicotine, cotinine and, anabasine inhibit aromatase in human trophoblast in vitro. *J Clin Invest*; 77: 1727-1733.
12. Barbieri RL, McShane PM, Ryan KJ (1986b) Constituents of cigarette smoke inhibit human granulosa cell aromatase. *Fertil Steril*; 46: 232-236.
13. Barbieri RL, York CM, Cherry ML, Ryan KJ (1987) The effects of nicotine, cotinine and anabasine on rat adrenal 11 β -hydroxylase and 21 hidroxilase. *J Steroid Biochem*; 24: 1-4.

14. Baron JA (1984) Smoking and estrogen-related disease. *Am J Epidemiol*; 119: 9-22.
15. Baron JA, Greenberg ER, Cummings KM, Swanson M (1986) Cigarette smoking in women with cancers of the breast and reproductive organs. *J Natl Cancer Inst*; 77: 677-801.
16. Baron JA, La Vecchia C, Levi F (1990) The antiestrogenic effect of cigarette smoking in women. *Am J Obstet Gynecol*; 162: 502-514.
17. Barrett-Connor E (1995) The economic and human cost of osteoporotic fracture. *Am J Med*; 98 (Suppl 2A): 3s-8s.
18. Barrett-Connor E, Khaw KT, Yen SSC (1986) A prospective study of dehydroepiandrosterone sulfate, mortality, and cardiovascular disease. *N Eng J Med*; 315: 1519-1524.
19. Barrett-Connor E, Khaw KT (1987) Cigarette smoking and increased endogenous estrogen in men. *Am J Epidemiol*; 126: 187-192.
20. Bauer DC, Browner WS, Cauley JA, Orwoll ES, Scott J, Black DM, et al. (1993) Factors associated with appendicular bone mass in older women. *Ann Intern Med*; 118: 657-665.
21. Bell NH, Shary J, Stevens J, Garza M, Gordon L, Edwards J (1991) Demonstration that bone mass is greater in black than in white children. *J Bone Miner Res*; 6: 719-723.
22. Benowitz NL, Kuyt F, Jacob P III (1984) Influence of nicotine on cardiovascular and hormonal effects of cigarette smoking. *Clin Pharmacol Ther*; 36: 74-81.
23. Bertelsen JB, Hegedüs L (1994) Cigarette smoking and the thyroid. *Thyroid*; 4: 327-331.
24. Bjarnason NH, Christiansen C (2000) The influence of thinness and smoking on bone loss and response to hormone replacement therapy in early postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*; 85: 590-596.
25. Black DM (1995) Why elderly women should be screened and treated to prevent osteoporosis. *Am J Med*; 98 (S2A): 67S-75S.
26. Bonati M, Fellin G (1991) Changes in smoking and drinking behaviour before and during pregnancy in Italian mothers: implications for public health intervention. *Int J Epidemiol*; 20: 927-932.

27. Bouillon R, Pelemans W, Quesada JM. Vitamin D deficiency in the elderly (1995) En: Burckhardt P, Heaney RP, (eds). Nutricional aspects of osteoporosis, pp 245-256. Serono Symposia Publications from Raven Press, Vol 85. New York, U.S.A.
28. Boyce WJ, Vessey MP (1985) Rising incidence of fracture of the proximal femur. *Lancet*; 1: 150-151.
29. Britto JM, Fenton AJ, Holloway WR, Nicholson GC (1994) Osteoblast mediated thyroid hormone stimulation of osteoclastic bone resorption. *Endocrinology*; 134: 169-176.
30. Brot C, Jensen LB, Sorensen OH (1997) Bone mass and risk factors for bone loss in perimenopausal Danish women. *J Intern Med*; 242: 505-511.
31. Brot C, Jorgensen NR, Sorensen OH (1999) The influence of smoking on vitamin D status and calcium metabolism. *Eur J Clin Nutr* 53: 920-926.
32. Brot C, Jorgensen NR, Madsen OR, Jensen LB, Sorensen OH (1999a) Relationships between bone mineral density, serum vitamin D metabolites and calcium:phosphorus intake in healthy perimenopausal women. *J Int Med*; 245: 509-516.
33. Broulik PD, Jaráb J (1993) The effect of chronic nicotine administration on bone mineral content in mice. *Horm Metab Res*; 25: 219-221.
34. Brown JP, Delmas PD, Malaval L, Edouard C, Chapuy MC, Meunier PJ (1984) Serum Bone Gla-protein: a specific marker for bone formation in postmenopausal osteoporosis. *Lancet*; i: 1091-1093.
35. Burger H, de Laet CEDH, van Daele PLA, Weel AEAM, Witteman JCM, Hofman A, et al. (1998) Risk factors for increased bone loss in an elderly population. The Rotterdam Study. *Am J Epidemiol*; 147: 871-879.
36. Burns DM (1991) Cigarettes and cigarette smoking. *Clin Chest Med*; 12: 631-642.
37. Canalis E (1996) Regulation of bone remodeling. In: Farrus MJ (ed). *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*, pp 29-34. Lippincott-Raven, New York.
38. Canalis E, Hock JM, Raisz LG (1994) Parathyroid hormone: anabolic and catabolic effects on bone and interactions with growth factors. In: Bilezikian JP, Marcus R, Levine MA (eds). *The parathyroids*, pp 65-82. Raven Press, New York.

39. Canalis E, Centrella M, Burch W, McCarthy TL (1989) Insulin-like growth factor I mediates selective anabolic effects of parathyroid hormone in bone cultures. *J Clin Invest*; 83: 60-65.
40. Candau E, De la Fuente B, Pozo A, Alvarez JI, Nieto C (1993) Incidencia de las fracturas de cadera en la provincia de Valladolid durante 1991. *Rev Esp Enf Metab Oseas*; 2: 73-74.
41. Cannata JB, Naves ML, Virgós MJ, Gómez Alonso J, Díaz López JB (1993) Epidemiología de las fracturas vertebrales. *Rev Esp Enf Metab Oseas*; 2 (suppl. B): 2.
42. Carstensen JM, Pershagen G, Eklund G (1987) Mortality in relation to cigarette and pipe smoking: 16 years' observation of 25.000 Swedish men. *J Epidemiol Community Health*; 41: 166-172.
43. Chapurlat RD, Ewing SK, Bauer DC, Cummings SR (2001) Influence of smoking on the antiosteoporotic efficacy of raloxifene. *J Clin Endocrinol Metab*; 86: 4178-4182.
44. Chesnut CH (1991) Theoretical overview: bone development, peak bone mass bone loss and fracture risk. *Am J Med*; 91(Suppl 5B): 2s-4s.
45. Chesnut CH, Bell NH, Clark GS, Drinkwater BL, Engglish SC, Johnston CC, et al. (1997) Hormone replacement therapy in postmenopausal women: Urinary N-telopeptide of type I collagen monitors therapeutic effect and predicts response of bone mineral density. *Am J Med*; 102: 29-37.
46. Chollat-Traquet C (1992) Women and tobacco. Ginebra: WHO.
47. Christen WG, Glynn RJ, Manson JE, Ajani UA, Buring JE (1996) A prospective study of cigarette smoking and risk factors of age-related macular degeneration in men. *J Am Med Assoc*; 276: 1147-1151.
48. Christensen SB, Ericsson UB, Janzon L, Tibblin S, Melander A (1984) Influence of cigarette smoking on goitre formation, thyroglobulin and thyroid hormone levels in women. *J Clin Endocrinol Metab*; 58: 615-618.
49. Clark K, Sowers MF (1996) Alcohol dependence, smoking status, reproductive characteristics, and bone mineral density in premenopausal women. *Res Nur Health*; 19: 399-408.
50. Cooper C, Campion G, Melton LJ (1992) Hip fractures in the elderly: a world-wide projection. *Osteoporosis Int*; 2: 285-289.

51. Cooper GS, Baird DB, Hulka BS, Weinberg CR, Savitz DA, Hughes CL (1995) Follicle-stimulating hormone concentrations in relation to active and passive smoking. *Obstet Gynecol*; 85: 407-411.
52. Cornuz J, Feskanich D, Willett W, Colditz GA (1999) Smoking, smoking cessation, and risk of hip fracture in women. *Am J Med*; 106: 311-314.
53. Cox ML, Khan SA, Gau DW, Cox SAL, Hodgkinson HM (1991) Determinants of forearm bone density in premenopausal women: a study in one general practice. *Br J Gen Pract*; 41: 194-196.
54. Cubrilo-Turek M, Stavljenic-Rukavina A, Turek S, Kusec V, Durakovic Z (1999) The usefulness of biochemical bone markers in predicting the response of hormone replacement therapy in perimenopausal cigarette smoking healthy women. *Coll Antropol*; 1: 195-201.
55. Cummings SR, Black DM, Nevitt MC, Browner W, Cauley J, Ensrud K, et al. (1993) Bone density at various sites for prediction of hip fractures. The Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Lancet*; 341: 72-75.
56. Cummings SR, Cauley JA, Palermo L, Ross PD, Wasnich RD, Black D, et al. (1994) Racial differences in hip axis lengths might explain racial differences in rates of hip fracture. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Osteoporos Int*; 4: 226-229.
57. Cummings SR, Black D (1995) Bone mass measurements and risk of fractures in Caucasian women: a review of findings from prospective studies. *Am J Med*; 98 (suppl. 2A): 24s-28s.
58. Daftari TK, Whitesides TE, Heller JG, Goodrich AC, McCarey BE, Hutton WC (1994) Nicotine on the revascularization of bone graft: an experimental study in rabbits. *Spine*; 19: 904-911.
59. Dai WS, Gutai JP, Kuller LH, Cauley JA (1988) Cigarette smoking and serum sex hormones in men. *Am J Epidemiol*; 128: 796-805.
60. Daniel M, Martin AD, Drinkwater DT (1992) Cigarette smoking, steroid hormones, and bone mineral density in young women. *Calcif Tissue Int*; 50: 300-305.
61. Daniell HW (1972) Osteoporosis and smoking. *JAMA*; 221: 509.
62. Daniel HW (1976) Osteoporosis of the slender smoking. Vertebral compression fractures and loss of metacarpal cortex in relation to postmenopausal cigarette smoking and lack of obesity. *Arch Intern Med*; 136: 298-304.

63. Daniell HW (1978) Smoking, obesity, and the menopause. *Lancet*; 2: 373.
64. Daniell HW (1983) Postmenopausal tooth loss. Contributions to edentulism by osteoporosis and cigarette smoking. *Arch Intern Med*; 143: 1678-1682.
65. De la Piedra C, Traba ML, Domínguez C, Sosa M (1997) New biochemical markers of bone resorption in the study of postmenopausal osteoporosis. *Clinica Chimica Acta*; 265: 225-234.
66. Del Pino Montes J, Corral Gudino L, Fernández Puente M, Pérez Rodríguez M, Velasco I (2000) Papel de la vitamina D en la patogenia y la fisiopatología de la osteoporosis. En: Rapado Errazti A, Díaz Curiel M (eds). *Hipovitaminosis D en España*, pp 65-75. FHOEMO, Madrid.
67. Delany AM, Pash JM, Canalis E (1994) Cellular and clinical perspectives on skeletal insulin-like growth factor I. *J Cell Biochem*; 55: 1-6.
68. Delany AM, Dong Y, Canalis E (1994b) Mechanism of glucocorticoid action in bone cells. *J Cell Biochem*; 56: 295-302.
69. Delmas PD (1995) Biochemical markers for the assessment of bone turnover. In: Riggs BL, Melton LJ III (eds). *Osteoporosis: etiology, diagnosis, and management*, pp 319-333. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia.
70. Delmas PD, Schlemmer A, Gineyts E, Riis B, Christiansen C (1991) Urinary excretion of pyridoline crosslinks correlates with bone turnover measured on iliac crest biopsy in patients with vertebral osteoporosis. *J Bone Miner Res*; 6: 639-644.
71. Delmas PD, Eastell R, Garnero P, Seibel MJ, Stepan J (2000) The use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. *Osteoporosis Int*; Suppl. 6: S2-S17.
72. Dequeker J, Nijs N, Verstraeten A, Geusens P, Gevers G (1987) Genetic determinants of bone mineral content at the spine and radius: a twin study. *Bone*; 8: 207-209.
73. Díaz Curiel M (1996) Prevalencia de la osteoporosis densitométrica en la población española. En: Rhône-Poulenc Rorer (eds). *Nuevas fronteras en el estudio de la densidad ósea en la población española*, pp 95-117. Edimsa, Madrid.
74. Díaz Diego EM, Guerrero R, De la Piedra C (1994) Six osteocalcin assays compared. *Clin Chemis*; 40: 2071-2077.

75. Díez A, Puig J, Martínez MT, Díez JL, Aubía J, Vivancos J (1989) Epidemiology of fractures of the proximal femur associated with osteoporosis in Barcelona, Spain. *Calcif Tissue Int*; 44: 382-386.
76. Díez A, Puig J, Martínez MT, Guelar A, Cucurull J, Mellibovsky L, et al. (1989b) Aproximación a los costes de la fractura osteoprótica de fémur en España. *Med Clin (Barc)*; 92: 721-723.
77. Díez A, Puig J, Serrano S, Mariñoso ML, Bosch J, Marrugat J, et al. (1994) Alcohol-induced bone disease in absence of severe chronic liver damage. *J Bone Miner Res.*; 9: 825-831.
78. Díez A, Serrano S, Cucurull J, Mariñoso ML, Bosch J, Puig J, et al. (1997) Acute effects of ethanol on mineral metabolism and trabecular bone in Sprague-Dawley rats. *Calcif Tissue Int*; 61: 168-171.
79. Díez Pérez A (1996) Evolución de la masa ósea en la población española. Análisis preliminar. En: Rhône-Poulenc Rorer (eds). *Nuevas fronteras en el estudio de la densidad ósea en la población española*, pp 119-135. Edimsa, Madrid.
80. Docio S, Riancho JA, Pérez A, Olmos JM, Amado JA, González Macías J (1998) Seasonal deficiency of vitamin D in children: a potential target for osteoporosis-preventing strategies?. *J Bone Miner Res*; 13: 544-548.
81. Domínguez C, Sosa M, Traba ML, Alvarez E, De la Piedra C (1998) Biochemical markers of bone formation in the study of postmenopausal osteoporosis. *Osteoporosis Int*; 8: 147-151.
82. Donahue RP, Zimmet P, Bean JA, Decourten M, Decarlo Donahue RA, Collier G, et al. (1999) Cigarette smoking, alcohol use, and physical activity in relation to serum leptin levels in a multiethnic population: the Miami community health study. *Ann Epidemiol*; 9: 108-113.
83. Ducey P, Amling M, Takeda S, Priemel M, Schilling AF, Beil FT, et al. (2000) Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass. *Cell*; 100: 197-207.
84. Duthie GG, Arthur JR, James WP (1991) Effects of smoking and vitamin E on blood antioxidant status. *Am J Clin Nutr*; 53 (Suppl.): 1061S-1063S.
85. Eastell R, Mallinak N, Weiss S, Ettinger M, Pettinger M, Cain D, et al. (2000) Biological variability of serum and urinary N-telopeptides of type I collagen in postmenopausal women. *J Bone Miner Res*; 15: 594-598.

86. Eden S, Jagenburg R, Lindstedt G, Lundberg PA, Mellström D (1984) Thyroregulatory changes associated with smoking in 70 year old men. *Clin Endocrinol (Oxford)*; 21: 605-610.
87. Egger P, Duggleby S, Hobbs R, Fall C, Cooper C (1996) Cigarette smoking and bone mineral density in the elderly. *J Epidemiol Community Health*; 50: 47-50.
88. Eisman JA, Kelly PJ, Morrison NA, Pocock NA, Yeoman R, Birmingham J, Sambrook PN (1993) Peak bone mass and osteoporosis prevention. *Osteoporosis Int*; 3 (suppl. 1): 56s-60s.
89. Eisman JA, Sambrook PN, Kelly PJ, Pocock NA (1991) Exercise and its interaction with genetic influences in the determination of bone mineral density. *Am J Med*; 91 (Suppl. 5B): 5-9.
90. Elders PJM, Netelenbos JC, Lips P, van Ginkel FC, van der Stelt PF (1988) Accelerated vertebral bone loss in relation to the menopause: a cross-sectional study on lumbar bone density in 286 women of 46 to 55 years of age. *Bone*; 5: 11-19.
91. Elders PJM, Netelenbos JC, Lips P, Khoe E, van Ginkel FC, Hulshof KFAM, et al. (1989) Perimenopausal bone mass and risk factors. *Bone Miner*; 7: 289-299.
92. Elffors I, Allander E, Kanis JA, Gullberg B, Johnell O, Dequeker J, et al. (1994) The variable incidence of hip fracture in southern Europe: the MEDOS Study. *Osteoporosis Int*; 4: 253-263.
93. Eliasson B, Smith U (1999) Leptin levels in smokers and long-term users of nicotine gum. *Eur J Clin Invest*; 29: 145-152.
94. Erdsieck RJ, Pols HAP, Algra D, Kooy PPM, Birkenhäger JC (1994) Bone mineral density in healthy Dutch women: spine, and hip measurements using dual-energy X-ray absorciometry. *Neth J Med*; 45: 198-205.
95. Eriksen EF, Charles P, Melsen F, Mosekilde L, Risteli L, Risteli J (1993) Serum markers of type I collagen formation and degradation in metabolic bone disease: correlation with bone histomorphometry. *J Bone Miner Res*; 8: 127-132.
96. Evans RA, Marel GM, Lancaster EK, Kos S, Evans M, Wong SYP (1988) Bone mass is low in relatives of osteoporotic patients. *Ann Intern Med*; 109: 870-873.
97. Everett Koop C (1992) The effects of cigarette smoking. A global perspective. *Am J Med*; 93 (suppl. 1A): 1.

98. Falch JA, Ilebekk A, Slungaard U (1985) Epidemiology of hip fractures in Norway. *Acta Orthop Scand*; 56: 12-16.
99. Falch JA, Sandvik LL (1990) Perimenopausal appendicular bone loss: a 10-year prospective study. *Bone*; 11: 425-428.
100. Fang MA, Frost PJ, Iida-Klein A, Hahn TJ (1991) Effects of nicotine on cellular function in UMR 106-01 osteoblast-like cells. *Bone*; 12: 283-286.
101. Fernández L, Hernández J, González-Orus A, Devesa F, Ceinos M (1992) Hip fracture in the elderly in Spain. Incidence 1977-88 in the province of Salamanca. *Acta Orthop Scand*; 63: 386-388.
102. Fisher CL, Mannino D, Herman WH, Frumkin H (1997) Cigarette smoking and thyroid hormone levels in males. *Int J Epidemiol*; 26: 972-977.
103. Fisher ES, Baron JA, Malenka DJ, Barret JA, Kniffin WD, Whaley FS, et al. (1991) Hip fracture incidence and mortality in New England. *Epidemiology*; 2: 116-122.
104. Flodeurs B, Caderlöf R, Friberg L (1988) Smoking and mortality: a 21-year follow-up based on the Swedish twin registry. *Int J Epidemiol*; 17: 332-340.
105. Fox EM, Cummings SR, Threats K (1994) Family history and risk of osteoporotic fracture. *J Bone Miner Res*; 9 (suppl. 1): 153s.
106. Franceschi S, Schinella D, Bidoli E, Dal Maso L, La Vecchia C, Parazzini F, et al. (1996) The influence of body size, smoking, and diet on bone density in pre and postmenopausal women. *Epidemiology*; 7: 411-414.
107. Frandsen PA, Kruse T (1983) Hip fractures in the county of Funen, Denmark. *Acta Orthop Scand*; 54: 681-686.
108. Fung YK, Mendlik MG, Haven MC, Akhter MP, Kimmel DB (1998) Short-term effects of nicotine on bone and calciotropic hormones in adult female rats. *Pharmacol Toxicol*; 82: 243-249.
109. Fung YK, Iwaniec U, Cullen DM, Akhter MP, Haven MC, Timmins P (1999) Long-term effects of nicotine on bone and calciotropic hormones in adult female rats. *Pharmacol Toxicol*; 85: 181-187.
110. Gallagher JC, Melton LJ, Riggs BL, Bergstrath E (1980) Epidemiology of fractures of the proximal femur in Rochester, Minnesota. *Clin Orthop Rel Res*; 150: 223-225.
111. Galvin RJ, Ramp WK, Lenz LG (1988) Smokeless tobacco contains a non-nicotine inhibitor of bone metabolism. *Toxicol Appl Pharm*; 95: 292-300.

112. Galvin RJ, Lenz LG, Ramp WK (1990) Effects of smokeless tobacco extracts on DNA and collagen synthesis in fibroblast and osteoblast. *J Bone Miner Res*; 5: S159.
113. Garnero P (2000) Markers of bone turnover for the prediction of fracture risk. *Osteoporosis Int*; 6(Suppl.): S55-S65.
114. Gasparoni A, Autelli M, Ravagni Privizer MF, Bartoli A, Regazzi Bonora M, Chirico G, et al. (1998) Effect of passive smoking on thyroid function in infants. *Eur J Endocrinol*; 138: 379-382.
115. Gertz BJ, Shao P, Hanson DA, Quan H, Harris ST, Genant HK, et al. (1994) Monitoring bone resorption in early postmenopausal women by an immunoassay for cross-linked collagen peptides in urine. *J Bone Miner Res*; 9: 135-142.
116. Gilbert DG, Meliska CJ, Williams CL, Jensen RA (1992) Subjective correlates of cigarette-smoking-induced elevations of peripheral beta-endorphin and cortisol. *Psychopharmacol*; 106: 275-281.
117. Gilsanz V, Roe TF, Mora S, Costin G, Goodman WG (1991) Changes in vertebral bone density in black girls and white girls during childhood and puberty. *N Eng J Med*; 325: 1597-1600.
118. Glynn NW, Meilahn EN, Charron M, Anderson SJ, Kuller LH, Cauley JA (1995) Determinants of bone mineral density in older men. *J Bone Miner Res*; 10: 1769-1777.
119. Godfrey K, Walker-Bone K, Robinson S, Taylor P, Shore S, Wheeler T, et al. (2001) Neonatal bone mass: influence of parental birthweight, maternal smoking, body composition, and activity during pregnancy. *J Bone Miner Res*; 16: 1694-1703.
120. González Dominguez J, Caracuel Ruíz MA, Martínez de la Concha D, González Pérez I, Gala M, Quesada JM (1993) Incidencia de fracturas de cadera durante el bienio 1991-1992 en Córdoba (España). *Rev Esp Enf Metab Oseas*; 2 (suppl. B): 5.
121. González Macías J, Riancho Moral JA (1996) El sol, la vitamina D, la osteoporosis y la cara oculta de la luna. *Med Clin (Barc)*; 106: 60-62.
122. González Macías J, Amado Señaris JA (1999) Otros factores hormonales que regulan la masa ósea. In: Blanch Rubió J, Ciria Recasens M (eds). *Osteoporosis del varón*, pp 77-85. IM&C, Madrid.

123. Goulding A, Taylor RW (1998) Plasma leptin values in relation to bone mass and density and to dynamic biochemical markers of bone resorption and formation in postmenopausal women. *Calcif Tissue Int*; 63: 456-458.
124. Greendale A, Edelstein S, Barret-Connor E (1997) Endogenous sex esterooids and bone mineral density in older women and men: the Rancho Bernardo study. *J Bone Miner Res*; 12: 1833-1843.
125. Greenspan SL, Maitland LA, Myers ER, Krasnow Kido TH (1994) Femoral bone loss progresses with age: a longitudinal study in women over age 65. *J Bone Miner Res*; 9: 1959-1965.
126. Grupo de trabajo en osteoporosis (GTO) (1992) Estudio de la densidad ósea de la población española. Rhône-Poulenc Rorer, ed. Edimsa, Madrid.
127. Gudmundsson JA, Ljunghall S, Bergquist C, Wide L, Nillius SJ (1987) Increased bone turnover during gonadotropin-releasing hormone superagonist induced ovulation inhibition. *J Clin Endocrinol Metab*; 65: 159-163.
128. Gunasegaram R, Loganath A, Peh KL, Karim SL, Ratnam SS (1982) Cigarette smoke-induced cholesterol C-20,22-desmolase inhibition in pregnancy. *Ann Acad Med*; 11: 580-586.
129. Hadley MN, Reddy SV (1997) Smoking and the human vertebral column: a review of the impact of cigarette use on vertebral bone metabolism and spinal fusion. *Neurosurgery*; 41: 116-124.
130. Halioua L, Anderson J (1989) Lifetime calcium intake and physical activity habits: independent and combined effects of the radial bone of healthy premenopausal caucasian women. *Am J Clin Nutr*; 49: 534-541.
131. Hammond EC, Seidman H (1980) Smoking and cancer in the United States. *Prev Med*; 9: 169-173.
132. Hannan MT, Felson DT, Dawson-Hughes B, Tucker KL, Cupples LA, Wilson PWF, et al. (2000) Risk factors for longitudinal bone loss in elderly men and women: the Framingham Osteoporosis Study. *J Bone Miner Res*; 15: 710-720.
133. Hannon R, Eastell R (2000) Preanalytical variability of biochemical markers of bone turnover. *Osteoporosis Int*; 6 (Suppl.): S30-S44.
134. Hansen MA, Overgaard K, Riis BJ, Christiansen C (1991) Potencial risk factors for development of postmenopausal osteoporosis-examined over a 12-year period. *Osteoporosis Int*; 1: 95-102.

135. Hansen MA, Hassager G, Jensen S, Christiansen C (1992) Is heretability a risk factor for postmenopausal osteoporosis? *J bone Miner Res*; 7: 1037-1043.
136. Hanson DA, Weis MAE, Bollen AM, Maslan SL, Singer FR, Eyre DR (1992) A specific immunoassay for monitoring human bone resorption: quantitation of type I collagen cross-linked N-teleopeptides in urine. *J Bone Miner Res*; 7: 1251-1258.
137. Hasdai D, Garrat KN, Grill DE, Lerman A, Holmes DR Jr. (1997) Effect of smoking status on the long-term outcome after successful percutaneous coronary revascularization. *N Eng J Med*; 336: 755-761.
138. Haverstock BD, Mandracchia VJ (1998) Cigarette smoking and bone healing: implications in foot and ankle surgery. *J Foot Ankle Surg*; 37: 69-74.
139. Heldenberg D, Tenenbaum G, Weisman Y (1992) Effect of iron on serum 25-hydroxivitamin D and 24,25-dihydroxivitamin D concentrations. *Am J Clin Nutr*; 56: 533-566.
140. Hedlund R, Ahlbom A, Lindgren U (1985) Hip fractures incidence in Stockholm (1972-1981). *Acta Orthop Scand*; 57: 30-34.
141. Hemenway D, Colditz GA, Willett WC, Stampfer MJ, Speizer FE (1988) Fractures and lifestyle: effect of cigarette smoking, alcohol intake, and relative weigth on the risk of hip and forearm fractures in middle-aged women. *Am J Public Health*; 78: 1554-1558.
142. Hermann AP, Brot C, Gram J, Kolthoff N, Mosekilde L (2000) Premenopausal smoking and bone density in 2015 perimenopausal women. *J Bone Miner Res*; 15: 780-787.
143. Higgins MW, Keller JB, Becker M, Howatt W, Landis JR, Rotman H, et al. (1982) An index of risk for obstructive airwais disease. *Am Rev Respir Dis*; 125: 144-151.
144. Hirota Y, Hirohata T, Fukuda K, Mori M, Yanagawa H, Ohno Y, et al. (1993) Association of alcohol intake, cigarette smoking, and occupational status with the risk of idiopathic osteonecrosis of the femoral head. *Am J Epidemiol*; 137: 530-538.
145. Hoidrup S, Prescott E, Sorensen T, Gottschau A, Lauritzen JB, Schroll et al. (2000) Tobacco smoking and risk of hip fracture in men and women. *Int J Epidemiol*; 29: 253-259.

146. Hollenbach KA, Barret-Connor E, Edelstein SL, Holbrook T (1993) Cigarette smoking and bone mineral density in older men and women. *Am J Public Health*; 83: 1265-1270.
147. Holló I, Gergely I, Boross M (1979) Influence of heavy smoking upon the bone mineral content of the radius of the aged and effect of tobacco smoke on the sensitivity to calcitonin of rats. *Akt Gerontol*; 9: 365-368.
148. Honkanen R, Tuppurainen M, Kröger H, Alhava E, Saarikoski S (1998) Relationships between risk factors and fractures differ by type of fracture: a population-based study of 12192 perimenopausal women. *Osteoporos Int*; 8: 25-31.
149. Hopper JLI, Seeman E (1994) The bone density of female twins discordant for tobacco use. *N Eng J Med*; 330: 387-392.
150. Hughson WG, Mann JI (1978) Intermittent claudication; prevalence and risk factors. *Br Med J*; 1: 1379-1381.
151. Hui SL, Slemenda CW, Johnston CC, Jr (1990) The contribution of rapid bone loss to postmenopausal osteoporosis. *Osteoporosis Int*; 1: 30-34.
152. Huopio J, Kröger H, Honkanen R, Saarikoski S, Alhava E (2000) Risk factors for perimenopausal fractures: a prospective study. *Osteoporosis Int*; 11: 219-227.
153. Ibañez L, Potau N, Ong K, Dunger DB, De Zegher F (2000) Increased bone mineral density and serum leptin in non-obese girls with precocious pubarche: relation to low birthweight and hyperinsulinism. *Horm Res*; 54: 192-197.
154. Ill PO, Alexandre C (1993) Le tabac facteur de risque de l'ostéoporose. Mythe ou réalité?. *Rev Rhum (De Fr)*; 60: 245-250.
155. Iwamoto I, Douchi T, Kosha S, Murakami M, Fujino T, Nagata Y (2000) Relationships between serum leptin level and regional bone mineral density, bone metabolic markers in healthy women. *Acta Obstet Gynecol Scand*; 79; 1060-1064.
156. Jané M, Nebot M, Badí M, Berjano B, Muñoz M, Rodríguez MC, et al. (2000) Factores determinantes del abandono del tabaquismo durante el embarazo. *Med Clin (Barc)*; 114: 132-135.
157. Jensen J, Christiansen C, Rodbro P (1985) Cigarette smoking, serum estrogens and bone loss during hormone-replacement therapy early after menopause. *N Eng J Med*; 313: 973-975.

158. Jensen J, Christiansen C (1988) Effects of smoking on serum lipoproteins and bone mineral content during postmenopausal hormone replacement therapy. *Am J Obstet Gynecol*; 159: 820-825.
159. Jick H, Porter J, Morrison AS (1977) Relation between smoking and age of natural menopause. *Lancet*; 1: 1354-1355.
160. Johansson C, Mellström D (1996) An earlier fracture as a risk factor for new fracture and its association with smoking and menopausal age in women. *Maturitas*; 24: 97-106.
161. Johnell O, Nilsson BE (1984) Life-style and bone mineral mass in perimenopausal women. *Calcif Tissue Int*; 36: 354-356.
162. Johnell O, Gullberg B, Kanis JA, Allander E, Elffors L, Dequeker J, et al. (1995) Risk factors for hip fracture in european women: the MEDOS study. *J Bone Miner Res*; 10: 1802-1815.
163. Johnston CC, Norton J, Khairi MRA, Kernec C, Edouard C, Arlot M, et al. (1985) Heterogeneity of fracture syndromes in postmenopausal women. *J Clin Endocr Metab*; 61: 551-556.
164. Johnston CC Jr., Slemenda CW (1993) Determinants of peak bone mass. *Osteoporosis Int*; 3 (suppl 1): 54s-55s.
165. Jones G, Riley M, Dwyer T (1999) Maternal smoking during pregnancy, Growth, and bone mass in prepuberal children. *J Bone Miner Res*; 14: 146-151.
166. Kanis JA (1991) Epidemiología de la fractura de cadera en Europa: el estudio MEDOS. *Rev Clin Esp*; 188: 16-19.
167. Kanis JA, Pitt J (1992) Epidemiology of osteoporosis. *Bone*; 13 (suppl 1): 7s-15s.
168. Kanis JA (1994) Pathogenesis of osteoporosis and fracture. In: Kanis JA (ed). *Osteoporosis*, pp 22-55. Onsey Mead, Oxford.
169. Kanis JA (1994b) Osteoporosis and its consequences. In: Kanis JA (ed). *Osteoporosis*, pp 1-21. Onsey Mead, Oxford.
170. Kaufman DW, Palmer JR, Rosenberg L, Stolley P, Warshauer E, Shapiro S (1989) Tar contents of cigarettes in relation to lung cancer. *Am J Epidemiol*; 129: 703-711.
171. Keaveny AP, Freaney R, McKenna MJ, Masterson J, O'Donoghue DP (1996) Bone remodeling indices and secondary hyperparathyroidism in celiac disease. *Am J Gastroenterol*; 91: 1226-1231.

- 172.Kenzora JE, McCarthy RE, Lowell JD, Sledge CB (1984) Hip fracture mortality. Relation to age, treatment, preoperative illness, time of surgery, and complications. *Clin Orthop*; 186: 45-56.
- 173.Khaw KT, Tazuke S, Barrett-Connor E (1988) Cigarette smoking and levels of adrenal androgens in postmenopausal women. *N Eng J Med*; 318: 1705-1709.
- 174.Khaw KT, Sneyd MJ, Compston J (1992) Bone density, parathyroid hormone and 25-hydroxyvitamin D concentrations in middle-aged women. *Br Med J*; 305: 273-277.
- 175.Kiel DP, Baron JA, Anderson JJ, Hannan MT, Felson DT (1992) Smoking eliminates the protective effect of oral estrogens on the risk for hip fracture among women. *An Inetrn Med*; 116: 716-721.
- 176.Kiel DP, Zhang Y, Hannan MT, Anderson JJ, Baron JA, Felson DT (1996) The effect of smoking at different life stages on bone mineral density in elderly men and women. *Osteoporosis Int*; 6: 240-248.
- 177.Klaiber E, Broverman DM, Dalen JE (1984) Serum estradiol levels in male cigarette smokers. *Am J Med*; 77: 858-862.
- 178.Klaiber EL, Broverman DM (1988) Dynamics of estradiol and testosterone and seminal fluid indexes in smokers and nonsmokers. *Fertil Steril*; 50: 630-634.
- 179.Klein KO, Larmore KA, de Lancey E, Brown JM, Considine RV, Hassink SG (1998) Effect of obesity on estradiol level, and its relationship to leptin, bone maturation, and bone mineral density in children. *J Clin Endocrinol Metab*; 83: 3469-3475.
- 180.Knobel H, Díez A, Arnau D, Alier A, Ibañez J, Campodarve I, et al. (1992) Secuelas de la fractura osteoporótica de fémur en Barcelona. *Med Clin (Barc)*; 98: 441-444.
- 181.Krall EA, Dawson-Hughes B (1991) Smoking and bone loss among postmenopausal women. *J Bone Miner Res*; 6: 331-337.
- 182.Krall EA, Dawson-Hughes B (1991b) Relation of fractional ⁴⁷Ca retention to season and rates of bone loss in healthy postmenopausal women. *J Bone Miner Res*; 6: 1323-1329.
- 183.Krall EA, Garvey AJ, Garcia RI (1999) Alveolar bone loss and tooth loss in male cigar and pipe smokers. *J Am Dent Assoc*; 130: 57-64.

184. Kreiger N, Kelsey JL, Holford TR, O'Connor T (1982) An epidemiologic study of hip fracture in postmenopausal women. *Am J Epidemiol*; 116: 141-148.
185. Krolner B, Nielsen SP (1982) Bone mineral content of the lumbar spine in normal and osteoporotic women: cross-sectional and longitudinal studies. *Clin Sci*; 62: 329-336.
186. Kung A, Pun K (1991) Bone mineral density in premenopausal women receiving long-term physiological doses of levothyroxine. *JAMA*; 265: 2688-2691.
187. LaCroix AZ, Katsuhiko Y, Reed DM (1990) Is dehydroepiandrosterone sulfate a risk factor for coronary heart disease and atherosclerosis? *Circulation*; 81: 7 (Abstract).
188. Lagiou P, Signorello LB, Mantzoros CS, Trichopoulos D, Hsieh CC, Trichopoulou A (1999) Hormonal, lifestyle, and dietary factors in relation to leptin among elderly men. *Ann Nutr Metab*; 43: 23-29.
189. Landin-Wilhelmsen K, Wilhelmsen L, Lappas G, Rosén T, Lindstedt G, Lundberg PA, et al. (1995) Serum intact parathyroid hormone in a random population sample of men and women: relationship to anthropometry, life-style factors, blood pressure, and vitamin D. *Calcif Tissue Int*; 56: 104-108.
190. Lau EMC, Chan YH, Chan M, Woo J, Griffith J, Chan HHL, et al. (2000) Vertebral deformity in chinese men: prevalence, risk factors, bone mineral density, and body composition measurements. *Calcif Tissue Int*; 66: 47-52.
191. Lauritzen JB, Petersen MM, Lund B (1993) Effect of external hip protectors on hip fractures. *Lancet*; 341: 11-13.
192. Law MR, Hackshaw AK (1997) A meta-analysis of cigarette smoking, bone mineral density and risk of hip fracture: recognition of a major effect. *Br Med J*; 315: 841-846.
193. Lee Cassidenti D, Vijod AG, Vijod MA, Stanczyk FZ, Lobo RA (1990) Short-term effects of smoking on the pharmacokinetic profiles of micronized estradiol in postmenopausal women. *Am J Obstet Gynecol*; 163: 1953-1960.
194. Lee Cassidenti D, Pike MC, Vijod AG, Stanczyk FZ, Lobo RA (1992) A reevaluation of estrogen status in postmenopausal women who smoke. *Am J Obstet Gynecol*; 166: 1444-1448.

195. Lenz LG, Galvin RJ, Ramp WK (1990) Nicotine inhibits collagen synthesis and alkaline phosphatase activity but stimulates DNA synthesis in osteoblast-like cells. *J Bone Miner Res*; 5: S159.
196. Levine S, Making M, Menckel J, Robin G, Naor E, Steinberg R (1970) Incidence of fractures of the proximal end of the femur in Jerusalem. A study of ethnics factors. *J Bone Joint Surg*; 52-A: 1193-1202.
197. Lian JB, Coutts M, Canalis E (1985) Studies of hormonal regulation of osteocalcin synthesis in cultured fetal rat calvariae. *J Biol Chem*; 260: 8706-8710.
198. Lindholm J, Winkel P, Brodthagen U, Gyntelberg F (1982) Coronary risk factors and plasma sex hormones. *Am J Med*; 73: 648-651.
199. Lindquist O, Bengtsson C (1979) Menopausal age in relation to smoking. *Acta Med Scand*; 205: 73-77.
200. Lindquist O, Bengtsson C, Hansson T, Ross B (1981) Bone mineral content in relation to age and menopause in middle-aged women. *Scand J Clin Labor Invest*; 41: 215-223.
201. Lindsay R (1995) The burden of osteoporosis: cost. *Am J Med*; 98 (suppl 2A): 9s-11s.
202. Lips P, Netelenbos JC, Jongen MJ, van Ginkel FC, Althuis AL, van Schaik CL, et al. (1982) Histomorphometric profile and vitamin D status in patients with femoral neck fracture. *Metab Bone Dis Rel Res*; 4: 85-93.
203. Liu XD, Zhu YK, Spurzem JR, Romberger DJ, Wang H, Reed E, et al. (2001) Cigarette smoke inhibits osteogenic differentiation and proliferation of human progenitor cells in monolayer and three-dimensional collagen cell culture. *J Lab Clin Med*; 137: 208-219.
204. Lobel SM, Barbieri RL, Walsh BW, Yeh J (1993) Acute adrenocorticotropin stimulation of postmenopausal cigarette smokers and nonsmokers: effects on steroidogenesis. *Fertil Steril*; 59: 229-231.
205. Longcope C, Jonhston CC (1988) Androgen and estrogen dynamics in pre and postmenopausal women: a comparison between smokers and nonsmokers. *J Clin Endocrinol Metab*; 67: 379-383.
206. Luukkaa V, Pesonen U, Huhtaniemi I, Lehtonen A, Tilvis R, Tuomilehto J, et al. (1998) Inverse correlation between serum testosterone and leptin in men. *J Clin Endocrinol Metab*; 83: 3243-3246.

207. Mac Mahon B, Trichopoulos D, Cole P, Brow J (1982) Cigarette smoking and urinary strogens. *N Eng J Med*; 307: 1062-1065.
208. Maffei M, Halaas E, Ravussin E, Pratley RE, Lee GH, Zhang Y, et al. (1994) Leptin level in human and rodent: Measurement of plasma leptin and ob DNA in obese and weight-reduced subjects. *Nature Med*; 377: 1155-1161.
209. Mannino DM, Klevens RM, Flanders WD (1994) Cigarette smoking: An independent risk factor for impotence. *Am J Epidemiol*; 140: 1003.
210. Mantzoros CS, Liolios AD, Tritos NA, Kaklamani VG, Doulgerakis DE, Griveas I, et al., (1998) Circulating insulin concentrations, smoking, and alcohol intake are important independent predictors of leptin in young healthy men. *Obesity Res*; 6: 179-186.
211. Mariconda M, Pavia M, Colonna A, Angelillo IF, Marsico O, Sanzo F, et al. (1997) Appendicular bone density, biochemical markers of bone turnover and lifestyle in female teachers of Southern Italy. *Eur J Epidemiol*; 13: 909-917.
212. Martin CA, Logan TK, Portis C, Leukefeld CG, Lynam D, Staton M, et al. (2001) The association of testosterone with nicotine use in young adult females. *Add Behaviors*; 26: 279-283.
213. Martínez ME, del Campo MT, Sánchez-Cabezudo MJ, García JA, Sánchez Calvín MT, Torrijos A, et al. (1994) Relations between calcidiol serum levels and bone mineral density in postmenopausal women with low bone density. *Calcif Tissue Int*; 55: 253-256.
214. Martínez ME, del Campo MT, García JA, Sánchez-Cabezudo MJ, Medina S, García Cimbreló E, et al. (1996) Concentraciones de vitamina D en pacientes con fractura de cadera en Madrid. *Med Clin (Barc)*; 106: 41-44.
215. Martini G, Valenti R, Giovani S, Franci B, Campagna S, Nuti R (2001) Influence of insulin-like growth factor-1 and leptin on bone mass in healthy postmenopausal women. *Bone*; 28: 113-117.
216. Matkovic V, Kostial K, Simonovic Y, Buzina R, Brodarec A, Nordin BEC (1979) Bone status and fracture rates in two regions of Yugoslavia. *Am J Clin Nutr*; 32: 540-549.
217. Matkovic V, Fontana D, Tominac C, Goel P, Chesnut CH, III (1990) Factors that influence peak bone mass formation: a study of calcium balance and the inheritance of bone mass in adolescent females. *Am J Clin Nutr*; 52: 878-888.

218. Mazess RB, Bardem HS, Drinka PJ, Bauwens SF, Orwoll ES, Bell NH (1990) Influence of age and body weight on spine and femur bone mineral density in US white men. *J Bone Miner Res*; 5: 645-652.
219. McCloskey (1999) The epidemiology of osteoporosis. *Bone Depeche*; 5: 32-34.
220. McCulloch RG, Whiting SJ, Bailey DA, Houston CS (1991) The effect of cigarette smoking on trabecular bone density in premenopausal women, aged 20-35 years. *Can J Public Health*; 82: 434-435.
221. McDermott MT, Witte MC. Bone mineral content in smokers (1988) *South Med J*; 81: 477-480.
222. McKenna MJ (1992) Differences in vitamin D status between countries in young adults and the elderly. *Am J Med*; 93: 69-77.
223. MacLaughlin J, Holick MF (1985) Aging decreases the capacity of human skin to produce vitamin D₃. *J Clin Invest*; 76: 1536-1538.
224. McNair P, Christensen MS, Madsbad S, Christiansen C, Binder C, Transbol I (1980) Bone loss in patients with diabetes mellitus: effects of smoking. *Mineral Electrolyte Metab*; 3: 94-97.
225. Melander A, Nordenskjöld E, Lundh B, Thorell J (1981) Influence of smoking on thyroid activity. *Acta Med Scand*; 209: 41-43.
226. Melhus H, Michaëlson K, Holmberg L, Wolk A, Ljunghall (1999) Smoking, antioxidant vitamins, and the risk of hip fracture. *J Bone Miner Res*; 14: 129-135.
227. Meliska CJ, Gilbert DG (1991) Hormonal and subjective effects of smoking the first five cigarettes of the day: a comparison in males and females. *Pharmacol Biochem Behav*; 40: 229-235.
228. Mellibovsky L, Díez A, Campodarve I, Nogués X (1993) Transiliac bone biopsy. *Bone*; 14: 699.
229. Mellström D, Rundgren A, Jagenburg R, Steen B, Svanborg A (1982) Tobacco smoking, ageing and health among the elderly: a longitudinal population study of 70-year-old men and an age cohort comparison. *Age Ageing* 11: 45-58.
230. Mellström D, Johansson C, Johnell O, Lindstedt G, Lundberg PA, Obrant K, et al. (1993) Osteoporosis, metabolic aberrations, and increased risk for vertebral fractures after partial gastrectomy. *Calcif Tissue Int*; 53: 370-377.
231. Melton LJ (1993) Hip fractures: a worldwide problem today and tomorrow. *Bone*; 14 (suppl): 1-8.

232. Melton LJ III, Atkinson EJ, O'Connor MK, O'Fallon WM, Riggs BL (1998) Bone density and fracture risk in men. *J Bone Miner Res*; 13: 1915-1923.
233. Meunier PJ, Sellami S, Briancon D, et al. (1981) Histological heterogeneity of apparently idiopathic osteoporosis. En: De Luca HF, Frost HM, Jee WSS, Johnston CC, Parfitt M (eds). *Osteoporosis. Recent advances in pathogenesis and treatment*, pp 293-301. Universitary Park Press, Baltimore.
234. Michaëlsson K, Weiderpass E, Farahmand BY, Baron JA, Persson PG, Zidén L, et al. (1999) Differences in risk factor patterns between cervical and trochanteric hip fractures. *Osteoporos Int*; 10: 487-494.
235. Michnovicz JJ, Hershcopf RJ, Naganuma H, Bradlow HL, Fishman J (1986) Increased 2-hydroxylation of estradiol as a possible mechanism for the anti-estrogenic effect of cigarette smoking. *N Eng J Med*; 315: 1305-1309.
236. Michnovicz JJ, Hershcopf RJ, Haley NJ, Bradlow HL, Fishman J (1989) Cigarette smoking alters hepatic estrogen metabolism in men: implications for atherosclerosis. *Metabolism*; 38: 537-541.
237. Miller CW (1978) Survival and ambulation following hip fracture. *J Bone Joint Surg (Am)*; 60: 930-933.
238. Nelson HD, Nevitt MC, Scott JC, Stone KL, Cummings SR (1994) Smoking, alcohol, and neuromuscular and physical function of older women. *JAMA*; 272: 1825-1831.
239. Nevitt MC, Johnell O, Black DM, Ensrud K, Genant HK, Cummings R (1994) Bone mineral density predicts non-spine fractures in very elderly women. *Osteoporosis Int*; 4: 325-331.
240. Nguyen TV, Kelly PJ, Sambrook PN, Gilbert C, Pocock NA, Eisman JA (1994) Lifestyle factors and bone density in the elderly: implications for osteoporosis prevention. *J Bone Miner Res*; 9: 1339-1346.
241. Nguyen TV, Eisman JA, Kelly PJ, Sambrook PN (1996) Risk factors for osteoporosis fractures in elderly men. *Am J Epidemiol*; 144: 255-263.
242. Nicklas BJ, Tomoyasu N, Muir J, Goldberg AP (1999) Effects of cigarette smoking and its cessation on body weight and plasma leptin levels. *Metabolism*; 48: 804-808.

243. Nogués X, Díez A, Puig J, Martínez MT, Cucurull J, Supervía A, et al. (1997) Cambios en los índices de hospitalización por fractura femoral osteoporótica en Barcelona durante el periodo 1984-1989. *Rev Esp Enf Metab Oseas*; 6: 41-44.
244. Norimatsu H, Mori S, Uesato T, Yosikawa T, Katsuyama N (1989) Bone mineral density of the spine and proximal femur in normal and osteoporotic subjects in Japan. *Bone Miner*; 5: 213-222.
245. Nóvoa Mogollón FJ (1994) Hormona tiroidea y masa ósea. *Med Clin (Barc)*; 103: 695-696.
246. Nuorti JP, Butler JC, Farley MM, Harrison LH, McGeer A, Kolczak MS. et al. (2000) Cigarette smoking and invasive pneumococcal disease. *N Eng J Med*; 342: 681-689.
247. Nyström E, Bengtsson C, Lapidus L, Lindstedt G (1993) Smoking a risk factor for hypothyroidism. *J Endocrinol Invest*; 16: 129-131.
248. Odabasi E, Ozata M, Turan M, Bingöl N, Yönem A, Çakir B, et al. (2000) Plasma leptin concentration in postmenopausal women with osteoporosis. *Eur J Endocrinol*; 142: 170-173.
249. Olmos JM, Martínez J, García J, Matorras P, Moreno JJ, González-Macías J (1992) Incidencia de fractura de cadera en Cantabria. *Med Clin (Barc)*; 99: 729-731.
250. Ortego Centeno N, Muñoz Torres M, Hernández Quero J, Jurado Duce A, de la Higuera Torres Puchol J (1994) Bone mineral density, sex steroids, and mineral metabolism in premenopausal smokers. *Calcif Tissue Int*; 55: 403-407.
251. Ortego Centeno N, Muñoz Torres M, Jódar E, Hernández Quero J, Jurado Duce A, de la Higuera Torres Puchol J (1997) Effect of tobacco consumption on bone mineral density in healthy young males. *Calcif Tissue Int*; 60: 496-500.
252. Paganini-Hill A, Ross RK, Gerkins VR, Henderson BE, Arthur M, Mack TM (1981) Menopausal estrogen and hip fractures. *Ann Intern Med*; 95: 28-31.
253. Panasen M (1985) Human placental aromatase activity: use a C₁₈ reversed-phase cartridge for separation of tritiated water or steroid metabolites in placentas from both smoking and non-smoking mothers in vitro. *Biol Res Preg*; 6: 94-99.
254. Parfitt AM, Simon LS, Villanueva AR, Krane SM (1987) Procollagen type I carboxyterminal extension peptide in serum as a marker of collagen biosynthesis in bone: correlation with iliac bone formation rates and comparison with total alkaline phosphatase. *J Bone Miner Res*; 2: 427-436.

255. Parfitt AM (1990) Osteomalacia and related disorders. En: Avioli LV, Krane SM, (eds). *Metabolic bone disease and clinically related disorders*, pp 329-396. Saunders, Philadelphia.
256. Parrini M, Lazzaro F, Alfieri V, Gallazzi M, Taverna E (1990) Normal spine mineral density values for the Italian male population. En: Christiansen C, Overgaard K (eds). *Osteoporosis 1990*, pp 744. Osteopress ApS, Copenhagen, Denmark.
257. Pasco JA, Henry MJ, Kotowicz MA, Collier GR, Ball MJ, Ugoni AM, et al. (2001) Serum leptin levels are associated with bone mass in nonobese women. *J Clin Endocrinol Metab*; 86: 1884-1887.
258. Paulson RB, Shanfeld J, Sachs L, Price T, Paulson J (1989) Effects of smokeless tobacco on the development of the CD-1 mouse fetus. *Teratology*; 40: 483-494.
259. Paulson RB, Shanfeld J, Mullet D, Cole J, Paulson JO (1994) Prenatal smokeless tobacco effects on the rat fetus. *J Craniofac Genet Dev Biol*; 14: 16-25.
260. Pedersen BJ, Schlemmer A, Hassager C, Christiansen C (1995) Changes in the carboxyl-terminal propeptide of type I procollagen and other markers of bone formation upon five days of bed rest. *Bone*; 17: 91-95.
261. Peto R, López AD, Boreham J, Thun M, Heath C (1992) Mortality from tobacco in developed countries: indirect estimation from national vital statistics. *Lancet*; 339: 1268-1278.
262. Perry HM, Miller DK, Morley JE, Horowitz M, Kaiser FE, Perry HM Jr, et al (1993) A preliminary report of vitamin D and calcium metabolism in older African Americans. *J Am Geriatr Soc*; 41: 612-616.
263. Pocock NA, Eisman JA, Hopper JL, Yeates MG, Sambrook PN, Ebert S (1987) Genetic determinants of bone mass in adults: a twin study. *J Clin Invest*; 80: 706-710.
264. Pocock NA, Eisman JA, Kelly PJ, Sambrook PN, Yeates MG (1989) Effects of tobacco use on axial and appendicular bone mineral density. *Bone*; 10: 329-331.
265. Praemer A, Furner S, Rice DP (1992) *Musculoskeletal conditions in the United States*. Park Ridge, IL: American Academy of Orthopaedic Surgeons.
266. Prince R, Dick I, Devine A, Kerr D, Criddle RA, Price R, et al. (1993) Importance of bone resorption in the determination of bone density in women more than 10 years past the menopause. *J Bone Miner Res*; 8: 1273-1279.

267. Quesada JM, Alonso J, Bouillon R, Jans IK, Tan BK, Van Herck E, et al. (1985) Niveles descendidos de 25-hidroxivitamina D3 en la tercera edad (Abstract). *Endocrinologia*; 32: 112.
268. Quesada JM, Jans I, Benito P, Jimenez JA, Bouillon R (1989) Vitamin D status of elderly people in Spain. *Age Ageing*; 16: 392-397.
269. Rauch F, Blum WF, Klein K, Allolio R, Schönau E (1998) Does leptin have an effect on bone in adult women? *Calcif Tissue Int*; 63: 453-455.
270. Recker RR, Lappe JM, Davies KM, Kimmel DB (1992) Change in bone mass immediately before menopause. *J Bone Miner Res*; 8: 857-862.
271. Reid IR, Gallagher DJA, Bosworth J (1986) Prophylaxis against vitamin D deficiency in the elderly by regular sunlight exposure. *Age Ageing*; 15: 35-40.
272. Reseland JE, Syversen U, Bakke I, Qvigstad G, Eide LG, Hjertner O, et al. (2001) Leptin is expressed in and secreted from primary cultures of human osteoblast and promotes bone mineralization. *J Bone Miner Res*; 16: 1426-1433.
273. Riancho JA, Gonzalez-Macías J, del Arco C, Amado JA, Freijanes J, Antón MA (1987) Vertebral compression fractures and mineral metabolism in chronic lung disease. *Thorax*; 42: 962-966.
274. Riancho JA, del Arco C, Arteaga R, Herranz JL, Albajar M, Macías JG (1989) Influence of solar irradiation on vitamin D levels in children on anticonvulsant drugs. *Acta Neurol Scand*; 79: 296-299.
275. Ribot C, Tremollieres F, Pouilles JM (1995) Can we detect women with low bone mass using clinical risk factors? *Am J Med*; 98 (suppl 2A): 52s-55s.
276. Richmond DE, McCracken HE, Broad J (1996) Older adults and healthy lifestyle issues: results of a community study. *N Z Med J*; 109: 122-125.
277. Rico H, Cabranes JA, Cabello J, Gómez-Castresana F, Hernández ER (1987) Low serum osteocalcin in acute alcohol intoxication: A direct toxic effect of alcohol in osteoblasts. *Bone Miner*; 2: 221-225.
278. Riesenfeld A (1985) Growth-depressing effects of alcohol and nicotine in two strains of rats. *Acta Anal (Basel)*; 122: 18-24.
279. Riggs BL, Melton J (1983) Evidence for two distinct syndromes of involutional osteoporosis. *Am J Med*; 75: 899-901.
280. Riggs BL, Melton LJ III (1986) Involutional osteoporosis. *N Eng J Med*; 314: 1676-1686.

281. Riggs BL, Melton LJ (1992) The prevention and treatment of osteoporosis. *N Eng J Med*; 327: 620-627.
282. Rogot E, Murray JL (1980) Smoking and causes of death among U.S. veterans 16 years of observations. *Public Health Reports*; 3: 213-222.
283. Ross PD. Osteoporosis. Frequency, consequences, and risk factors. *Arch Intern Med* 1996; 156: 1399-1411.
284. Salvini S, Stampfer MJ, Barbieri RL, Hennekens CH (1992) Effects of age, smoking and vitamins on plasma DHEAS levels: a cross-sectional study in men. *J Clin Endocrinol Metab*; 74: 139-143.
285. Sandler RB, Slemenda CW, LaPorte RE, Cauley JA, Schramm MM, Barresi ML, et al. (1985) Postmenopausal bone density and milk consumption in childhood and adolescence. *Am J Clin Nutr*; 40: 270-274.
286. Sato M, Takeda N, Sarui H, Takami R, Takami K, Hayashi M, et al. (2001) Association between serum leptin concentrations and bone mineral density, and biochemical markers of bone turnover in adult men. *J Clin Endocrinol Metab*; 86: 5273-5276.
287. Sato Y, Kikuyama M, Oizumi K (1997) High prevalence of vitamin D deficiency and reducee bone mass in Parkinson's disease. *Neurology*; 49: 1273-1278.
288. Schneider J, Sassa S, Kappas A (1983) Metabolism of estradiol in liver cell culture: differential responses of C-2 and C-16 oxidations to drugs and others chemicals that induce selective species of cytochrome P-450. *J Clin Invest*; 72: 1420-1426.
289. Scragg R, Holdaway I, Jackson R, Lim T (1992) Serum 25-hydroxyvitamin D3 and its relation to physical activity and other heart disease risk factors in the general population. *Ann Epidemiol*; 2: 697-703.
290. Scragg R, Khaw KT, Murphy S (1995) Life-style factors associated with winter serum 25-hydroxyvitamin levels in elderly adults. *Age Ageing*; 24: 271-275.
291. Seeman E, Melton LJ III, O'Fallon WM, Riggs BL (1983) Risk factors for spinal osteoporosis in men. *Am J Med*; 75: 977-983.
292. Seeman E, Hopper JL, Bach LA, Cooper ME, Parkinson E, McKay J, et al. (1989) Reduced bone mass in daughters of women with osteoporosis. *N Eng J Med*; 320: 554-558.

293. Seibel MJ, Cosman F, Shen V, Gordon S, Dempster DW, Ratcliffe A, et al. (1993) Urinary hydroxypyridinium crosslinks of collagen as markers of bone resorption and estrogen efficacy in postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res*; 8: 881-889.
294. Sepkovic DW, Haley NJ, Wynder EL (1984) Thyroid activity in cigarette smokers. *Arch Intern Med*; 144: 501-503.
295. Sepkovic DW, Marshall MV, Rogers WR, Cronin PA, Colosimo SG, Haley NJ (1988) Thyroid hormone levels and cigarette smoking in baboons. *Proc Soc Exp Biol Med*; 187: 223-228.
296. Sherman CB (1991) Health effects of cigarette smoking. *Clin Chest Med*; 12: 643-658.
297. Shevelva GA, Kiriushchenov AP, Sheina NI, Silant'eva IV (1984) Characteristics of the effect of nicotine on the mother-fetus system in exposure over the course of the entire pregnancy. *Farmakol Toksikol*; 47: 78-83.
298. Shinton R, Beevers G (1989) Meta-analysis of relation between cigarette smoking and stroke. *Br Med J*; 298: 789-794.
299. Shopland DR, Eyre HJ, Pechacek TF (1991) Smoking-attributable cancer mortality in 1991: is lung cancer now the leading cause of death among smokers in the United States? *J Natl Cancer Inst*; 83: 16: 1142-1148.
300. Shu XO, Hatch MC, Mills J, Clemens J, Susser M (1995) Maternal smoking, alcohol drinking, caffeine consumption and fetal growth: results from a prospective study. *Epidemiology*; 6: 115-120.
301. Slemenda CW (1994) Cigarettes and the skeleton. *N Eng J Med*; 330: 430-431.
302. Slemenda CW, Hui SL, Longcope C, Johnston CC, Jr. (1989) Cigarette smoking, obesity, and bone mass. *J Bone Miner Res*; 4: 737-741.
303. Slemenda CW, Miller JZ, Hui SL, Reister TK, Johnston CC (1991) Role of physical activity in the development of skeletal mass in children. *J Bone Miner Res*; 6: 1227-1233.
304. Slemenda CW, Christian JC, Williams CJ, Norton JA, Johnston CC, Jr. (1991b) Genetic determinants of bone mass in adult women: a reevaluation of the twin model and the potential importance of gene interaction of heritability estimates. *J Bone Miner Res*; 6: 561-567.

305. Slemenda CW, Christian JC, Reed T, Reister TK, Williams CJ, Johnston CC (1992) Long-term bone loss in men: effects of genetic and environmental factors. *Ann Intern Med*; 117: 286-291.
306. Slemenda CW, Longcope C, Zhou L, Hui SL, Peacock M, Johnston CC (1997) Sex steroids and bone mass in older men. *J Clin Invest*; 100: 1755-1759.
307. Small M, Lowe GDO, Beastall GH, Beattie JM, McEachern M, Hutton I, et al. (1985) Serum oestradiol and ischaemic heart disease: relationship with myocardial infarction but not coronary atheroma or haemostasis. *Q J Med; New Series* 57: 775-782.
308. Smith CR, Fischer TH, Heavner DL, Rumple MA, Bowman DL, Brown BG, et al. (2001) Urinary thromboxane, prostacyclin, cortisol, and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in nonsmokers exposed and not exposed to environmental tobacco smoke. *Toxicol Sci*; 59: 316-323.
309. Smith DM, Nance WE, Kang KW, Christian JC, Johnston CC, Jr. (1973) Genetic factors in determining bone mass. *J Clin Invest*; 52: 2800-2808.
310. Sosa M, Segarra MC, Hernández D, González A, Limiñana JM, Betancor P (1993) Epidemiology of proximal femoral fracture in Gran Canaria (Canary Islands). *Age Ageing*; 22:285-288.
311. Sosa Henríquez M (1993) La fractura osteoporótica de cadera en España. *Rev Esp Enf Metab Oseas*; 2: 189-192.
312. Sowers MR, Wallace RB, Hollis BW (1990) The relationship of 1,25 dihydroxyvitamin D and radial bone mass. *Bone Miner*; 10: 139-148.
313. Sowers MFR, Boehnke M, Jannausch ML, Crutchfield M, Corton G, Burns TL (1992) Familiality and partitioning the variability of femoral bone mineral density in women of child bearing age. *Calcif Tissue Int*; 50: 110-114.
314. Sowers M, Randolph JF, Crutchfield M, Jannausch ML, Shapiro B, Zhang B, et al. (1998) Urinary ovarian and gonadotropin hormone levels in premenopausal women with low bone mass. *J Bone Miner Res*; 13: 1191-1202.
315. Stone K, Bauer DC, Black DM, Sklarin P, Ensrud KE, Cummings SR (1998) hormonal predictors of bone loss in elderly women: a prospective study. *J Bone Miner Res*; 13: 1167-1174.
316. Sutton DW, Schmid-Schonbein GW (1992) Elevation of organ resistance due to leucocyte perfusion. *Am J Physiol*; 262: H1646-H1650.

317. Talamini G, Bassi C, Falconi M, Frulloni L, Di Francesco V, Vaona B, et al., (1996) Cigarette smoking: an independent risk factor in alcoholic pancreatitis. *Pancreas*; 12: 131-137.
318. Tamini R, Mucci LA, Spanos E, Lagiou A, Benetou V, Trichopoulos D (2001) Testosterone and oestradiol in relation to tobacco smoking, body mass index, energy consumption and nutrient intake among adult men. *Eur J Cancer Prev*; 10: 275-280.
319. Taylor RG (1987) Smoking and the leukocyte count. *Eur J Respir Dis*; 71: 65-68.
320. Terashima T, Wiggs B, English D, Hogg JC, van Eeden SF (1997) The effect of cigarette smoking on the bone marrow. *Am J Respir Crit Care Med*; 155: 1021-1026.
321. Thomas EJ, Edridge W, Weddell A, McGill A, McGarrigle HHG (1993) The impact of cigarette smoking on the plasma concentrations of gonadotrophins, ovarian steroids and androgens and upon the metabolism of oestrogens in the human female. *Human Reproduction*; 8: 1187-1193.
322. Thomas MK, Lloyd-Jones DM, Thadhani RI, Shaw AC, Deraska DJ, Kitch BT, et al. (1998) Hypovitaminosis D in medical inpatients. *N Eng J Med*; 12: 777- 783.
323. Thomas T, Gori F, Sundeep K, Jensen MD, Burguera D, Riggs L (1999) Leptin acts on human marrow stromal cells to enhance differentiation to osteoblasts and to inhibit differentiation to adipocytes. *Endocrinology*; 140: 1630-1638.
324. Trichopoulos D, Brow J, Mac Mahon B (1987) Urine estrogens and breast cancer risk factors among postmenopausal women. *Int J Cancer*; 40: 721-725.
325. Tsai KS, Heath III H, Kumar R, Riggs BL (1984) Impaired vitamin D metabolism with aging in women. Possible role in pathogenesis of senile osteoporosis. *J Clin Invest*; 73: 1668-1672.
326. Tucci JR, Sode J (1972) Chronic cigarette smoking: effect on adrenocortical and sympathoadrenomedullary activity in man. *JAMA*; 221: 282-285.
327. Turner LW, Wang MQ, Fu Q (1998) Risk factors for hip fracture among Southern older women. *South Med J*; 91: 533-540.
328. Tylavsky FA, Bortz AD, Hancock RL, Anderson JB (1989) Familial resemblance of radial bone mass between premenopausal mothers and their college-age daughters. *Calcif Tissue Int*; 45: 265-272.

329. Ueng SWN, Lin SS, Wang ChR, Liu SJ, Tai ChL, Shih ChH (1999) Bone healing of tibial lengthening is delayed by cigarette smoking: study of bone mineral density and torsional strength on rabbits. *J Trauma*; 46: 110-115.
330. Välimäki MJ, Kärkkäinen M, Lamberg-Allardt C, Laitinen K, Alhava E, Heikkinen J, et al. (1994) Exercise, smoking, and calcium intake during adolescence and early adulthood as determinants of peak bone mass. *Br Med J*; 309: 230-235.
331. Vernejoul MC, Bielakoff J, Herve M, Gueris J, Hott M, Modrowski D, et al. (1983) Evidence for defective osteoblastic function. A role for alcohol and tobacco consumption in osteoporosis in middle-aged men. *Clin Orthop Rel Res*; (179): 107-115.
332. Vogel JM, Davis JW, Nomura A, Wasnich RD, Ross PD (1997) The effects of smoking on bone mass and the rates of bone loss among elderly Japanese-American men. *J Bone Miner Res*; 12: 1495-1501.
333. Vogt MT, Cauley JA, Scott JC, Kuller LH, Browner WS (1996) Smoking and mortality among older women: the study of osteoporotic fractures. *Arch Intern Med*; 156: 630-636.
334. Walker LM, Preston MR, Magnay JL, Thomas PBM, El Haj AJ (2001) Nicotinic regulation of *c-fos* and osteopontin expression in human-derived osteoblast-like cells and human trabecular bone organ culture. *Bone*; 28: 603-608.
335. Ward KD, Klesges RC (2001) A meta-analysis of the effects of cigarette smoking on bone mineral density. *Calcif Tissue Int*; 68: 259-270.
336. Waters D, Lesperance J, Gladstone P, Gladstone P, Boccuzzi SJ, Cook T, et al. (1996) Effects of cigarette smoking on the angiographic evolution of coronary atherosclerosis: a Canadian Coronary Atherosclerosis Intervention Trial (CCAIT) Substudy. *Circulation*; 94: 614-621.
337. Wauters M, Considine RV, Van Gaal LF (2000) Human leptin: from an adipocyte hormone to an endocrine mediator. *Eur J Endocrinol*; 143: 293-311.
338. Wei M, Stern MP, Haffner SM (1997) Serum leptin levels in Mexican Americans and non-Hispanic Whites: association with body mass index and cigarette smoking. *Ann Epidemiol*; 7: 81-86.
339. Whyte MP, Bergfeld MA, Murphy WA, Avioli LV, Teitelbaum SL (1982) Postmenopausal osteoporosis: a heterogeneous disorder as assessed by

- histomorphometric analysis of iliac crest bone from untreated patients. *Am J Med*; 72: 193-202.
340. Wilkins N, Carlson HE, Van Vunakis H, Hill MA, Gritz E, Jarvik ME (1982) Nicotine from cigarette smoking increases circulating levels of cortisol, growth hormone, and prolactin in male chronic smokers. *Psychopharmacology (Berlín)*; 78: 305-308.
341. Williams AR, Weiss NS, Ure CL, Ballard J, Daling Jr (1982) Effect of weight, smoking, and estrogen use on the risk of hip and forearm fractures in postmenopausal women. *Obstet Gynecol*; 60: 695-699.
342. Winternitz WW, Quillen D (1977) Acute hormonal response to cigarette smoking. *J Clin Pharmacol*; 17: 389-397.
343. Woitge HW, Pecherstorfer M, Li Y, Keck A-V, Horn E, Ziegler R et al. (1999) Novel serum markers of bone resorption: clinical assessment and comparison with established urinary indices. *J Bone Miner Res*; 14: 792-801.
344. World Health Organization (1994) Assessment of fracture risk its application to screening for postmenopausal osteoporosis. WHO technical report series 843, Geneva.
345. Yao M, Narita M, Baba S, Kudo M, Kudo T, Oyama T (1985) Effects of cigarette smoking on endocrine function in man. *Masui*; 34: 1105-1114.
346. Yardimci S, Atan A, Delibasi T, Sunguroglu K, Güven MC (1997) Long-term effects of cigarette-smoke exposure on plasma testosterone, luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone levels in male rats. *Br J Urol*; 79: 66-69.
347. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM (1994) Positional cloning of the mouse ob gene and its human homologue. *Nature*; 372: 425-432.

ANEXOS

ANEXO I

HOJA DE RECOGIDA DE DATOS

FILIACION

Nombre: _____ N° protocolo: _____
N° historia: _____ Edad: _____ Sexo: Mujer Grupo: Control
Varón Estudio
Peso: _____ Talla: _____ IMC: _____

ENCUESTA

Tabaco: Cigarrillos/día: _____ Ingesta de alcohol: gramos de alcohol/día: _____
Paquetes/año: _____ n° ingestas/semana: _____
Marca: _____
Ingesta diaria de Ca: _____
Anovulatorios: Sí Marca: _____ Otra medicación: Sí Cual: _____
No No
Tiempo (en meses): _____
Enfermedades subyacentes: Ninguna Hiperparatiroidismo Hipertiroidismo
Malabsorción intestinal Hipotiroidismo
Otra Cual: _____
Fecha de la menarquia: _____ Ciclos anovulatorios: _____ F.U.R.: _____
N° de hijos: _____
Ejercicio físico: Sí Horas/semana: _____ Cual: _____
No
Exposición solar activa: Sí
No
Historia familiar de osteoporosis: Sí Con fracturas
No
Canicie: Sí Canicie familiar precoz (< 35 años): Sí
No No

ANEXO II

CUESTIONARIO DE INGESTA DE CALCIO EN LA DIETA

Nombre	Fecha			
BEBIDAS		9. PASTA		
1. LECHE		Veces por semana	(x 2)	
Vasos de 100 ml/semana	(x 17)	Porciones: pequeña (50g)	(x 0.5)	
Vasos de 200ml/semana	(x 34)	media (100 g)	(x 1)	
Tazón de 250ml/semana	(x 42)	grande (150g)	(x 1.5)	
2. BEBIDAS		10. VERDURAS		
Agua mineral: litros por día	(x 100)	Veces por semana	(x 13)	
Agua del grifo: litros por día	(x 90)	Porciones: pequeña (100g)	(x 0.5)	
Otras bebidas (vino, cerveza, zumo de frutas, soda...): litros por día	(x 70)	media (200 g)	(x 1)	
		grande (300g)	(x 1.5)	
COMIDAS		11. LEGUMBRES		
3. YOGURTS/HELADOS		Veces por semana	(x 10)	
Número por semana	(x 21)	Porciones: pequeña (50g)	(x 0.5)	
4. QUESO		media (100 g)	(x 1)	
Veces por semana	(x 30)	grande (200g)	(x 1.5)	
Porciones: pequeña (15 g)	(x 0.5)	12. PAN		
media (30 g)	(x 1)	Cantidad por día (en g)	(x 0.25)	
grande (45 g)	(x 1.5)	13. FRUTAS		
5. CARNE/PESCADO		Número por semana	(x 4)	
Veces por semana	(x 2)	14. FRUTOS SECOS		
Porciones: pequeña (50g)	(x 0.5)	Veces por semana	(x 10)	
media (100 g)	(x 1)	Porciones: pequeña (15g)	(x 0.5)	
grande (150 g)	(x 1.5)	media (30 g)	(x 1)	
Pescado frito/sardina lata	(x 1.5)	grande (45g)	(x 1.5)	
6. HUEVOS		15. CHOCOLATE (en gramos)		
Número por semana	(x 4)	Cantidad sin leche/semana	(x 0.6)	
7. PATATAS (no fritas ni chips)		Cantidad con leche/semana	(x 2.1)	
Veces por semana	(x 3)	CANTIDAD DE CALCIO POR DIA (en mg)		
Porciones: pequeña (100g)	(x 0.5)	1.	7.	13.
media (200 g)	(x 1)	2.	8.	14.
grande (300 g)	(x 1.5)	3.	9.	15.
8. PATATAS FRITAS/ CHIPS		4.	10.	
Veces por semana	(x 14)	5.	11.	
Porciones: pequeña (75g)	(x 0.5)	6.	12.	TOTAL:
media (150 g)	(x 1)			
grande (225g)	(x 1.5)			

Adaptado de Fardellone P, Sebert M, Bouraya M, et al. Revue du Rhumatisme 1991; 58:99-103

ANEXO III

INFORMACIÓN A LOS PARTICIPANTES

El tabaco es una de las drogas legales que más influencia tiene en el gasto sanitario. Se ha demostrado su causalidad en las enfermedades pulmonares, cardiovasculares y su relación con diversas neoplasias. No obstante, su relación con la osteoporosis se basa en estudios epidemiológicos.

El objetivo del presente estudio consiste en evaluar la influencia del tabaquismo sobre los marcadores de remodelado óseo. Se quiere demostrar que el hábito de fumar produce una alteración en el proceso de remodelado óseo, favoreciendo la reabsorción, lo cual se traduciría en una pérdida de masa ósea que con el paso de los años producirá un aumento en la incidencia de osteoporosis.

Para ello se realizarán determinaciones analíticas en sangre y orina antes y un mes después de cesar el hábito de fumar. Si Ud. no es fumador, se realizará una sola determinación basal que servirá para compararla con los fumadores.

Las pruebas que se realizan están exentas de efectos secundarios, a excepción de las derivadas del proceso de extracción de muestras, como pueden ser hematomas en el lugar de punción.

Los resultados derivados del estudio, si bien no ofrecerán un beneficio inmediato a los participantes (excepto los beneficios obtenidos por cesar el hábito de fumar en los voluntarios fumadores), sí podrán repercutir y ser utilizados por las autoridades sanitarias como una prueba más de los efectos nocivos del tabaquismo.

Todos los resultados obtenidos serán confidenciales, y no podrán ser utilizados salvo autorización expresa del voluntario.

CONSENTIMIENTO

Yo,.....

He leído y comprendido los objetivos del estudio y acepto participar en el mismo.

Barcelona, a..... de..... de199