

## PAPEL DEL HUESO EN LA FISIOPATOLOGIA DE LA HIPERCALCIURIA IDIOPATICA

## EFECTO DEL AMINOBISFOSFONATO ALENDRONATO

JOSÉ R. WEISINGER, EVELYN ALONZO, CARMEN MACHADO, RAÚL CARLINI, RUBI MARTINIS,  
VIRGILIO PAZ-MARTÍNEZ, EZEQUIEL BELLORÍN-FONT

*Servicio de Nefrología y Trasplante Renal, Hospital Universitario de Caracas; Sección de Investigación, Centro Nacional de Diálisis y Trasplante Renal, Ministerio de Sanidad y Asistencia Social; Unidad de Osteoporosis, Policlínica Metropolitana, Caracas, Venezuela.*

**Resumen:** Estudios previos de nuestro laboratorio han demostrado una disminución del contenido mineral del hueso y una correlación entre la disminución del contenido mineral y la producción de distintas citoquinas que intervienen en el proceso de resorción ósea. Al mismo tiempo, observamos que el tratamiento a corto plazo con alendronato produce una disminución del calcio urinario en pacientes con hipercalcemia idiopática. En el presente estudio analizamos los efectos del alendronato a largo plazo (10 mg/día por un año) sobre el calcio y la hidroxiprolina urinaria y el contenido mineral óseo en 18 hipercalcémicos y 8 normocalcémicos con litiasis urinaria. Las características clínicas, así como la distribución por edades y sexo fue similar en ambos grupos. El calcio urinario disminuyó significativamente al final del primer mes y continuó bajo posteriormente ( $277 \pm 28$ , antes vs.  $202 \pm 26$  mg/g creatinina, después de 12 meses con alendronato,  $p < 0.01$ ). La hidroxiprolina urinaria disminuyó significativamente durante el estudio ( $125.5 \pm 32.1$  vs.  $39.66 \pm 17.5$  mg/g creatinina,  $p < 0.05$ ). El calcio sérico, la filtración glomerular y el sodio urinario no se modificaron durante el estudio. La densidad mineral ósea en columna lumbar, determinada por densitometría por rayos X, se incrementó significativamente al primer año de  $1.162 \pm 0.231$  a  $1.197 \pm 0.248$  g/cm<sup>2</sup> ( $p < 0.01$ ). No se observaron cambios en la densidad mineral del cuello de fémur. Estos cambios se asociaron a una disminución en la transcripción del mRNA para IL-1 $\alpha$ , determinados por la reacción en cadena de polimerasa (PCR), en células mononucleares no estimuladas. Los sujetos normocalcémicos no demostraron cambios significativos en la excreción urinaria de calcio. En resumen, los cambios observados en el calcio urinario y otros parámetros metabólicos óseos sugieren un papel importante del hueso en la fisiopatología de la hipercalcemia idiopática.

**Palabras claves:** hipercalcemia, osteoporosis, alendronato, bisfosfonato, litiasis

Los países ubicados en el área del Caribe y norte de Sudamérica presentan una incidencia de litiasis urinaria superior a 4 por mil habitantes<sup>1</sup>. La mayoría de los centros que practican evalua-

ciones metabólicas en pacientes con litiasis renal recurrente han encontrado que cerca de la mitad de los pacientes presentan evidencia de hipercalcemia idiopática (excreción urinaria de calcio mayor a 4 mg/Kg de peso corporal o mayor de 140 mg de calcio por gramo de creatinina urinaria). Sin embargo, es frecuente observar que aún sin evaluación metabólica, la mayoría de los

---  
Dirección: Dr. José R. Weisinger, Apartado Postal 020010 (M-229), Miami, Florida 33102-0010, USA.

médicos y prácticamente el público en general recomiendan iniciar en todos estos sujetos una restricción de calcio en la dieta. En este sentido, se ha demostrado que la restricción de calcio no disminuye el calcio en la orina de muchos pacientes y peor aún, incrementa la incidencia de litiasis posiblemente por aumento en la absorción intestinal de oxalato<sup>2</sup>.

El efecto de un balance persistentemente negativo de calcio puede ocasionar pérdida de masa ósea. En un estudio retrospectivo demostramos que el contenido mineral óseo de mujeres postmenopáusicas con antecedentes de litiasis renal era menor que el de mujeres postmenopáusicas normales. Al mismo tiempo evaluamos prospectivamente a un grupo de niños hipercalcémicos, sin evidencia de acidosis tubular y los comparamos con niños sanos de edades, sexo y talla similares<sup>3</sup>. Los niños hipercalcémicos presentaban una disminución del contenido mineral trabecular, mientras que el contenido mineral cortical y total no presentó diferencia significativa. Estos resultados sugieren que los pacientes hipercalcémicos presentan una disminución del contenido mineral que comienza en edades tempranas de la vida.

Recientemente hemos encontrado una relación entre la disminución de masa ósea y la producción de distintas citoquinas (interleukina-1 $\alpha$ , interleukina-6 y TNF- $\alpha$ )<sup>4</sup>, por lo que pensamos que además de un incremento en la absorción intestinal de calcio o una pérdida tubular renal, el hueso pueda estar involucrado en la patogénesis de la hipercalcemia<sup>5</sup>. De hecho, algunos estudios anteriores, especialmente los efectuados en biopsias óseas de pacientes con hipercalcemia han demostrado alteraciones en la resorción y formación ósea, en ocasiones con resultados de tipo controversial. Algunos han señalado aumento de la reabsorción osteoclástica acompañada de disminución de la superficie osteoblástica<sup>6</sup>. Otros han encontrado una resorción ósea normal o hasta disminuida, asociada a disminución de la formación ósea y mineralización<sup>7</sup>. Mas recientemente, Pfeferman y colaboradores reportaron disminución de la formación ósea, aumento de la resorción ósea y un defecto en la mineralización ósea<sup>8</sup>.

En el presente trabajo examinamos el efecto del alendronato, una droga que inhibe la reab-

sorción osteoclástica del hueso sobre la calciuria, marcadores de resorción ósea y densitometría ósea.

## Material y métodos

Se estudiaron 26 pacientes con litiasis renal recurrente, 18 de ellos con hipercalcemia idiopática como única anomalía metabólica y 8 pacientes con cifras normales de excreción urinaria de calcio (normocalcemia). Después de obtenido un consentimiento informado los pacientes recibieron 10 mg por día de alendronato, administrado una hora antes del desayuno. Las características clínicas así como el promedio de edades y sexo fue similar en ambos grupos.

Antes de la administración del alendronato y posteriormente cada mes, durante un año se obtuvieron muestras de sangre y orina de 24 horas para determinaciones de calcio, fósforo, ácido úrico, creatinina y sodio. La excreción de hidroxiprolina urinaria como marcador de reabsorción osteoclástica del hueso fue practicada cada 3 meses. Se determinó la densidad mineral del hueso por densitometría dual por rayos X utilizando un densitómetro Lunar DPX-L (Lunar Corporation, Madison, WI). Los resultados son expresados como el promedio  $\pm$  error standard. Las comparaciones entre grupo fue efectuada con el test de t Student para datos apareados (dos colas).

## Resultados

En los pacientes con evidencia de hipercalcemia el calcio urinario descendió significativamente a partir del primer mes y continuo por debajo del valor inicial en los meses subsiguientes. (Tabla 1). A pesar de este descenso en la calciuria, la excreción urinaria de calcio nunca llegó a valores normales (menos de 140 mg/gramo de creatinina urinaria o menor de 4 mg/Kg de peso corporal). La excreción urinaria de hidroxiprolina en los pacientes hipercalcémicos también descendió significativamente durante el estudio ( $125.5 \pm 32.1$  vs.  $39.66 \pm 17.5$  mg/g creatinina,  $p < 0.05$ ). Las cifras de calcio sérico, filtración glomerular y sodio urinario no se modificaron durante el estudio. La densidad mineral trabecular determinada en la columna lumbar se incrementó significativamente en los pacientes con hipercalcemia a cabo de un año con cambios de  $1,162 \pm 0,231$  a  $1,197 \pm 0,248$  g/cm<sup>2</sup> ( $p < 0,01$ ). No se observaron cambios en el contenido mineral cortical determi-

**Tabla 1.** Excreción urinaria de calcio (mg/g creatinina/día) en pacientes formadores de cálculos renales hipercalcémicos y normocalcémicos, antes (mes 0) o después de tratamiento con alendronato.

| Mes | Excreción Urinaria de Calcio<br>(mg/g creatinina/día) |                 |
|-----|---|-----------------|
|     | Hipercalcémicos                                       | Normocalcémicos |
| 0   | 277 ± 28  | 108 ± 9         |
| 1   | 235 ± 30 *  | 129 ± 19        |
| 2   | 189 ± 23 *  | 139 ± 37        |
| 3   | 210 ± 23 *  | 121 ± 17        |
| 4   | 193 ± 20 *  | 132 ± 49        |
| 5   | 194 ± 22 *  | 139 ± 9         |
| 6   | 200 ± 17 *  | 145 ± 16        |
| 7   | 210 ± 37 **   | 134 ± 19        |
| 8   | 261 ± 31 *  | 127 ± 28        |
| 9   | 195 ± 24 *  | 146 ± 39        |
| 10  | 221 ± 47  | 144 ± 6         |
| 11  | 205 ± 36 *  | 134 ± 12        |
| 12  | 202 ± 26 *  | 110 ± 10        |

Los datos son expresados como el promedio ± error standard de la media.

\*  $p < 0.01$  vs mes 0, \*\*  $p < 0.05$  vs mes 0.

nado en cuello de fémur. Los pacientes normocalcémicos no demostraron cambios significativos en la excreción urinaria de calcio o de hidroxiprolina urinaria después del alendronato por un año.

## Discusión

Los cambios observados en las cifras de calcio urinario y los parámetros metabólicos óseos después de la administración de alendronato sugieren un papel importante del hueso en la fisiopatología de la hipercalcemia idiopática. Los bisfosfonatos son análogos del pirofosfato que se unen en forma intensa al mineral del hueso (hidroxiapatita). La disminución en la reabsorción osteoclástica es básicamente debida a una inhibición del reclutamiento de los osteoclastos y a una disminución de la actividad osteoclástica en la superficie del hueso. Además se ha demostrado que esta droga aparentemente disminuye la vida media del osteoclasto por intervención en el proceso de apoptosis celular<sup>9</sup>.

El hecho de que el alendronato disminuya significativamente la excreción urinaria de calcio en los pacientes hipercalcémicos y no lo haga en los normocalcémicos puede indicarnos que el hueso posiblemente tenga un papel en el origen de la hipercalcemia. Sin embargo, el hecho de que la hipercalcemia no se corrija completamente después de la administración de alendronato puede indicar que otros factores además del hueso están interviniendo en el proceso fisiopatológico de esta enfermedad. Datos recientes de Krieger y colaboradores en ratas genéticamente hipercalcémicas demuestran un incremento en la sensibilidad y aumento de los receptores para calcitriol ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ) en el hueso<sup>10</sup>.

Si la hipercalcemia es resultado de un trastorno primario del hueso o la disminución del contenido mineral del hueso es una consecuencia de la hipercalcemia debido a un balance persistentemente negativo de calcio todavía queda por determinarse.

**Agradecimientos:** Este trabajo fue efectuado parcialmente con las subvenciones S1-1223 y RP-IV-C139 del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Venezuela (CONICIT), y Fundareal-HUC. El alendronato (Marvil®) fue gentilmente suplido por Laboratorios Gador SA, Buenos Aires, Argentina.

## Summary

*Role of the bone in the physiopathology of idiopathic hypercalcemia. Effect of aminobisphosphonate alendronate*

Previous studies from our laboratory demonstrated that bone mineral content is affected in patients with idiopathic hypercalcemia and that there is a correlation between bone mineral loss and in-vitro cytokine production. At the same time we found that short term treatment with alendronate decreased urinary calcium in these subjects. In the present study we have examined the long-term effects of alendronate treatment (10 mg/day for one year) on urinary calcium, urinary hydroxyproline and bone mineral content in 18 idiopathic hypercalcemic and 8 normocalcemic stone formers. Clinical characteristics, as well as gender and age distribution were similar in both groups. Urinary calcium and hydroxyproline, were measured monthly. Calcium excretion decreased

significantly at the end of the first month, and remained lower thereafter ( $277 \pm 28$ , before vs.  $202 \pm 26$  mg/g creatinine, after 12 months on alendronate,  $p < 0.01$ ). Urinary hydroxyproline decreased significantly during the study ( $125.5 \pm 32.1$  vs.  $39.66 \pm 17.5$  mg/g creatinine,  $p < 0.05$ ). Serum calcium, glomerular filtration rate, and urinary sodium, did not change during the study. Lumbar spine bone density (trabecular bone) obtained with X ray absorptiometry revealed a significant increase from  $1.162 \pm 0.231$  to  $1.197 \pm 0.248$  g/cm<sup>2</sup> ( $p < 0.01$ ). These changes were associated with a significant decrease in IL-1 $\alpha$  mRNA transcription by unstimulated and lipopolysaccharide stimulated blood mononuclear cells, as tested by the reverse transcriptase polymerase chain reaction. No changes were observed in bone cortical sites (femoral neck). Normocalciuric subjects showed no significant changes in urinary calcium. In summary, the changes observed in urinary calcium excretion and different bone metabolic parameters, suggest a role of bone in the pathophysiology of idiopathic hypercalciuria.

## Bibliografía

1. Weisinger JR, Bellorín-Font E. Experiencia Latinoamericana em Litiase Renal: Venezuela. En *Calculose Renal*. Schor N and Pfeferman-Heilberg I, Editores. Sao Paulo: Editorial Sarvier, 1995; 354-359.
2. Curhan GC, Willett WC, Rimm EB, Stampfer MJ. A prospective study of dietary calcium and other nutrients and the risk of symptomatic kidney stones. *N Engl J Med* 1993; 328: 833-838.
3. Garcia L, Bercowsky A, Caviades N, Barilla B, Cardona Y, Martinis R, Bellorín-Font E, Paz-Martínez V, Weisinger JR. Comparison of bone mineral content in hypercalciuric and normal children. *Kidney Int* 1993, 44: 1421-1422.
4. Weisinger JR, Alonzo E, Bellorín-Font Ezequiel, Blasini AM, Rodriguez MA, Paz-Martínez V, Martinis R. Possible role of cytokines on the bone mineral loss in idiopathic hypercalciuria. *Kidney Int* 1996; 49:244-250.
5. Weisinger J.R.: New insights into the pathophysiology of hypercalciuria: Role of the bone. *Kidney Int* 1996; 49: 1507-18.
6. Bordier P, Ryckewart A, Guerin J. On the pathogenesis of so-called hypercalciuria. *Am J Med* , 1977; 63:398-409.
7. Malluche HH, Tschoeppe W, Ritz E, Meyer-Sabellek W, Massry SG. Abnormal bone histology in idiopathic hypercalciuria. *J Clin Endocrinol Metab*, 1980; 50:654-658.
8. Pfeferman-Heilberg I, Martini LA, Szejnfeld VL, Carvalho AB, Draibe SA, Ajzen H, et al. Bone disease in calcium stone forming patients. *Clin Nephrol* 1994; 42: 175-182.
9. Rodan GA, Fleisch HA. Bisphosphonates: Mechanisms of action. *J Clin Invest* 1996; 97:2692-2696.
10. Krieger NS, Stathopoulos VM, Bushinsky DA. Bone from genetic hypercalciuric rats exhibits increased sensitivity and receptors to 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>. *J Am Soc Nephrol* 1995; 6: 965.