

OSTEOPOROSIS

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO EN LA CLÍNICA
MÉDICA DE HOY

Introducción

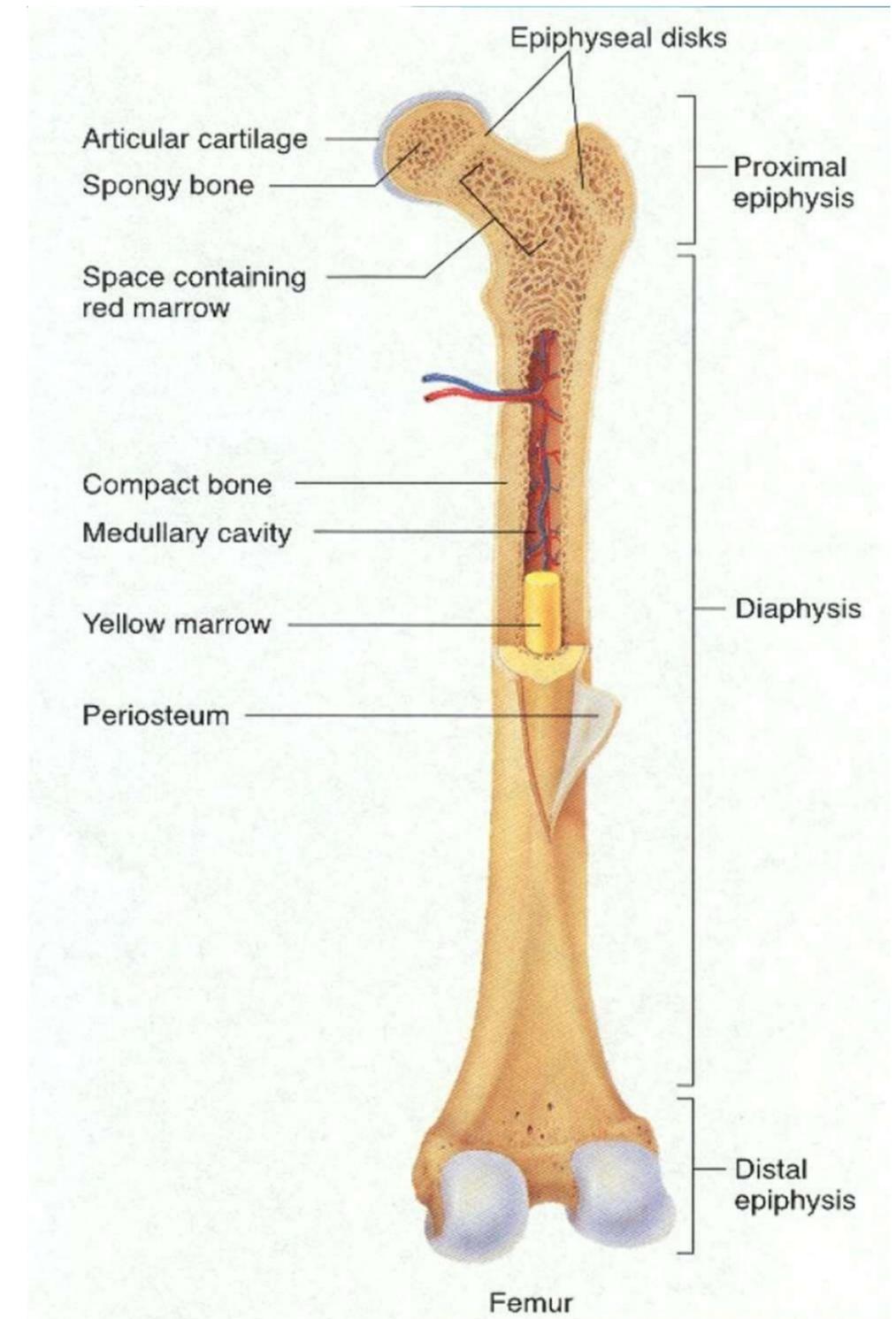
- El hueso es un **tejido conectivo especializado** en constante renovación.
- Cuando la masa ósea se estabiliza, el remodelado se mantiene estrechamente regulado, acoplado la resorción del hueso viejo dañado y la formación del nuevo.

ESTRUCTURA ÓSEA

Hay **dos tipos** básicos de hueso:

Cortical: (80% del esqueleto).
Funciones mecánicas y estructurales.
80-90% calcificado.

Trabecular: actividad metabólica
relativamente alta y menor densidad.
5-20% calcificado.



Hueso = matriz orgánica mineralizada por depósitos de sales de **calcio**

Los niveles de estos marcadores son un reflejo dinámico de las tasas de remodelamiento óseo.



OSTEOPOROSIS

- Pérdida neta de hueso.
- Incremento en la fragilidad del hueso
- Susceptibilidad a riesgo de fractura (diminución de DMO y de la calidad del hueso)

LOS MARCADORES BIOQUÍMICOS **NO INFORMAN SOBRE EL NIVEL DE DMO**
POR LO TANTO NO CONFIRMAN PRESENCIA O AUSENCIA DE
OSTEOPOROSIS .

SON ESTUDIOS COMPLEMENTARIOS

Principales causas de Osteoporosis

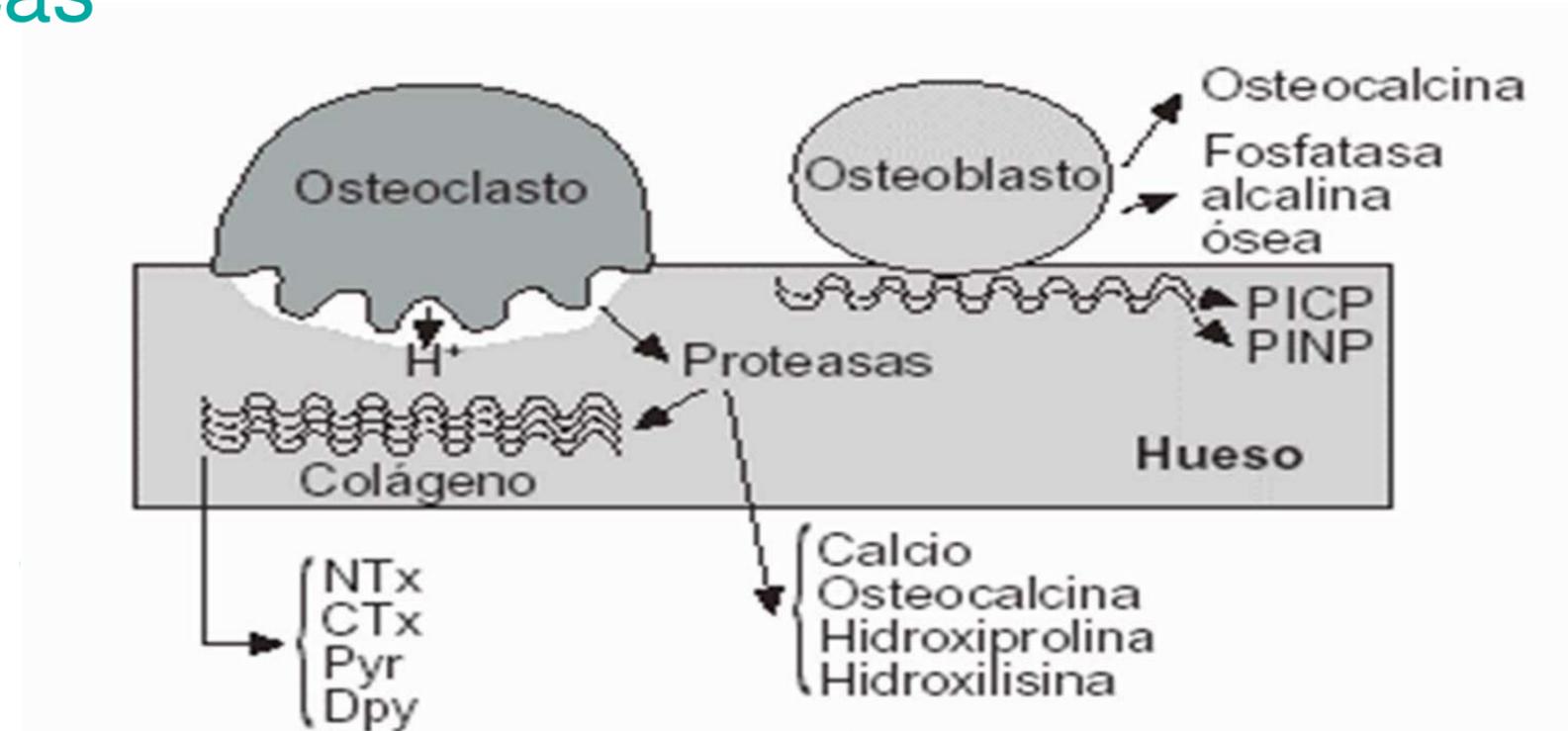
- ✓ Menopausia
- ✓ Edad avanzada
- ✓ Factores genéticos (estos determinan las variaciones en la densidad ósea)
- ✓ Otros factores no genéticos como : actividad física, nutrición, consumo de alcohol, cigarrillo u algunos medicamentos.



MARCADORES BIOQUIMICOS

Clasificación de Marcadores Bioquímicos de remodelado óseo.

- ✓ Pruebas de laboratorio no específicas
- ✓ **Formación Ósea:** proteínas sintetizadas por los osteoblastos
- ✓ **Resorción Ósea:** productos de la síntesis de los osteoclastos, de la matriz mineral y del colágeno.



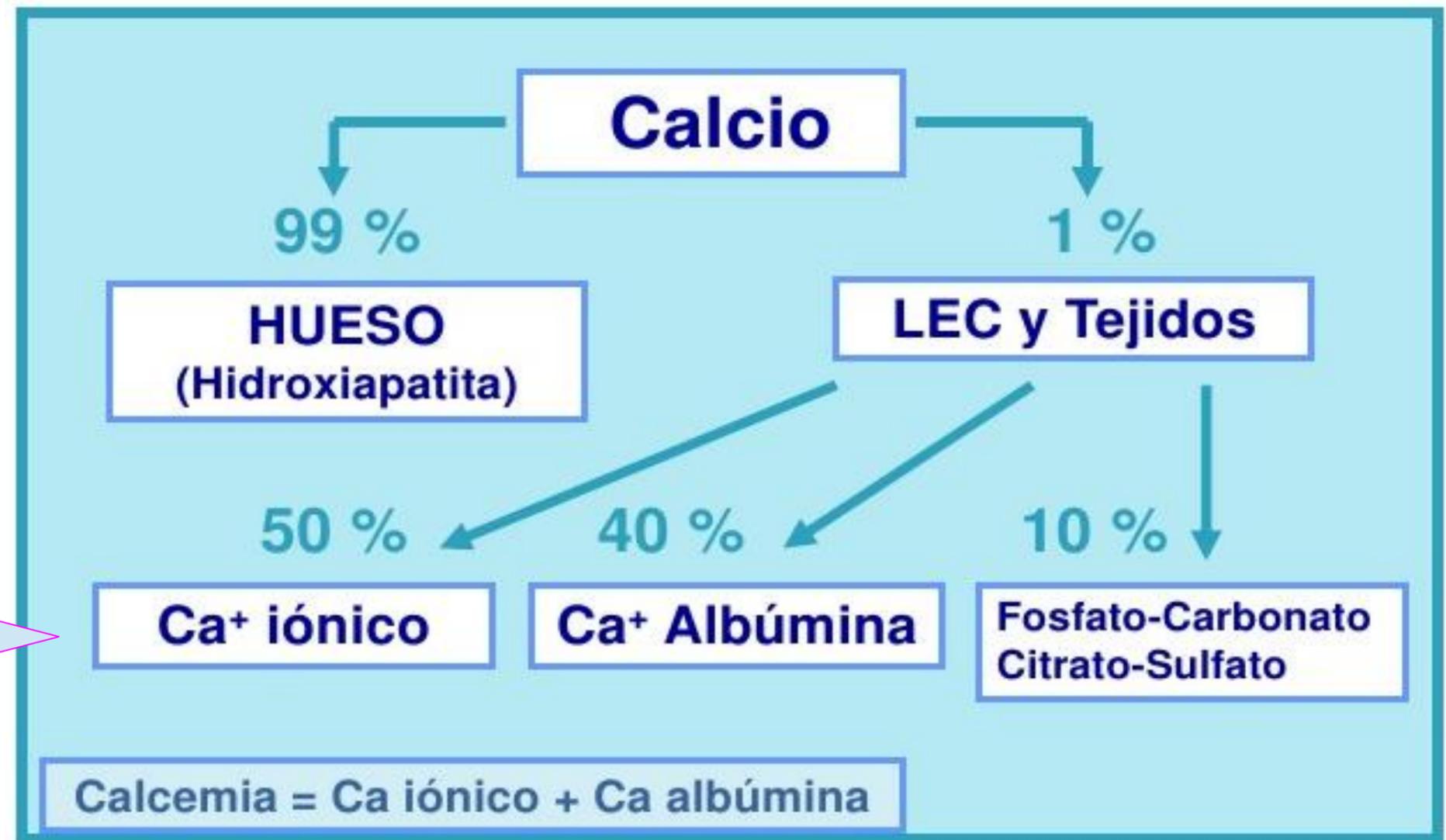
Pruebas de laboratorio no específicas

- 1) HEMOGRAMA
- 2) ERITROSEDIMENTACION Y PCR
- 3) UREA Y CREATININA (EVALUACION DE LA FUNCION RENAL)
- 4) HEPATOGRAMA
- 5) 25 OH VITAMINA D
- 6) TSH Y HORMONAS TIROIDEAS (EVALUACION DE LA FUNCION TIROIDEA)
- 7) PARATHORMONA
- 8) FOSFATEMIA
- 9) LDH
- 10) CALCEMIA/CALCIURIA (Considerado un marcador de resorción)
- 11) MAGNESEMIA

MARCADORES DE FORMACIÓN Y RESORCIÓN OSEA

FORMACIÓN	RESORCIÓN
FOSFATASA ALCALINA	HIDROXIPROLINA
OSTEOCALCINA	PIRIDINOLINA
PICP (PROPÉPTIDO CARBOXITERMINAL DEL PROCOLÁGENO TIPO I)	DEOXYPIRIDINOLINA
PINP (PROPÉPTIDO AMINOTERMINAL DEL PROCOLÁGENO TIPO I)	C- TELOPÉPTIDO (BETA CROSS LAPS)

ASPECTOS A TENER EN CUENTA



El calcio iónico es el que se regula a través de la PTH y la vitamina D

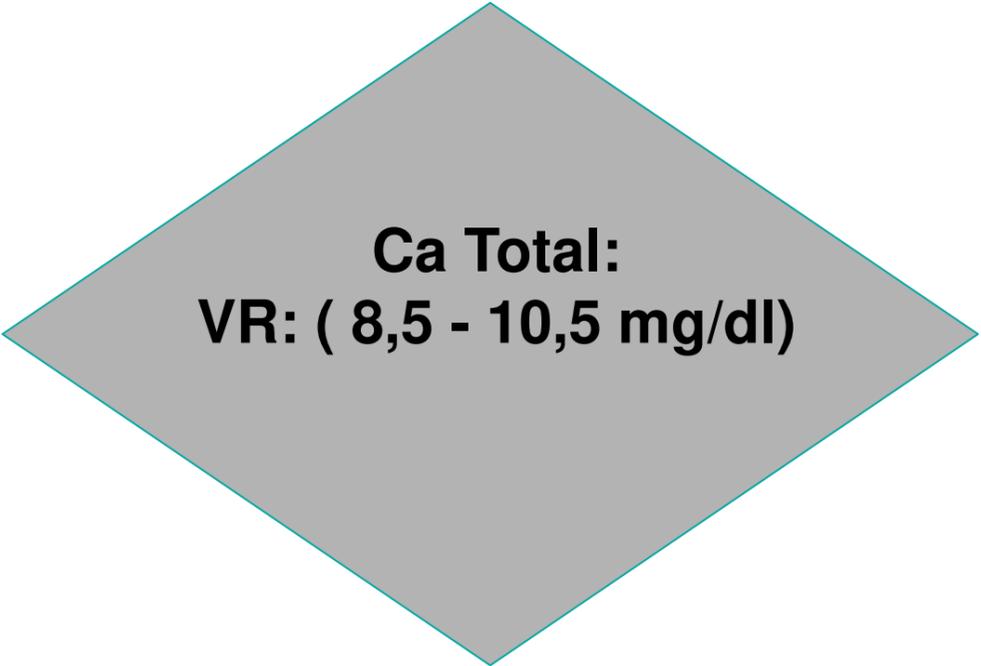
Dosaje de Calcio

Método de Referencia

Espectrometría de Absorción atómica

De uso rutinario:

- Espectrofotométricos automatizados
- Complejimétricos manuales
- Electrodo ion selectivo



Ca Total:
VR: (8,5 - 10,5 mg/dl)

FACTORES QUE CAUSAN DISMINUCIÓN DEL CaT:

- Hipoalbuminemias: Calcemia corregida = calcemia medida + [0,8 x (4 – albuminemia)]
- Alcalosis
- Síndromes de Malabsorción
- Deficiencia de Vitamina D

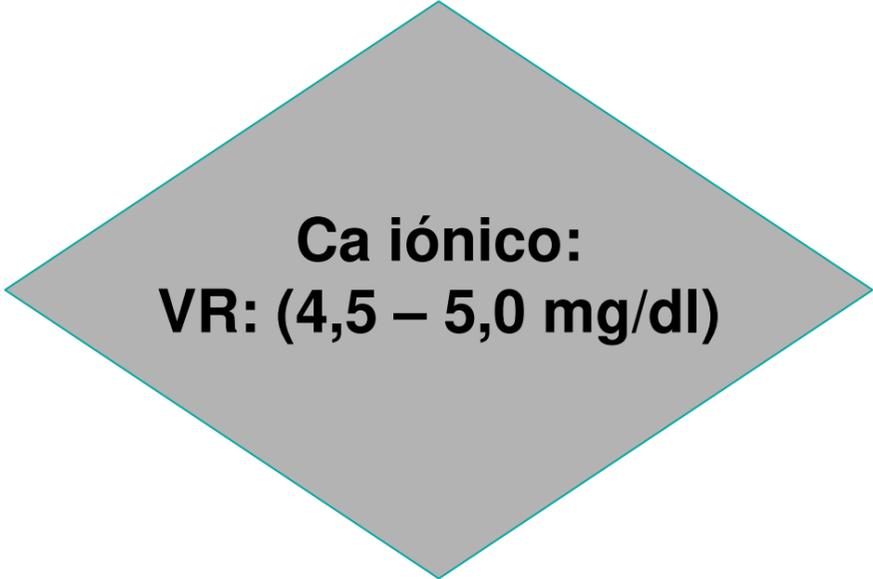
FACTORES QUE CAUSAN AUMENTO DEL CaT:

- Fármacos (ej: diuréticos tiazídicos)
- Acidosis
- Hiperparatiroidismo

Ca iónico

RESPONSABLE DEL EFECTO BIOLÓGICO

- Método: electrodo de ión selectivo
- Afectado por PH
- Debe mantenerse en anaerobiosis
- Tiene valor diagnóstico



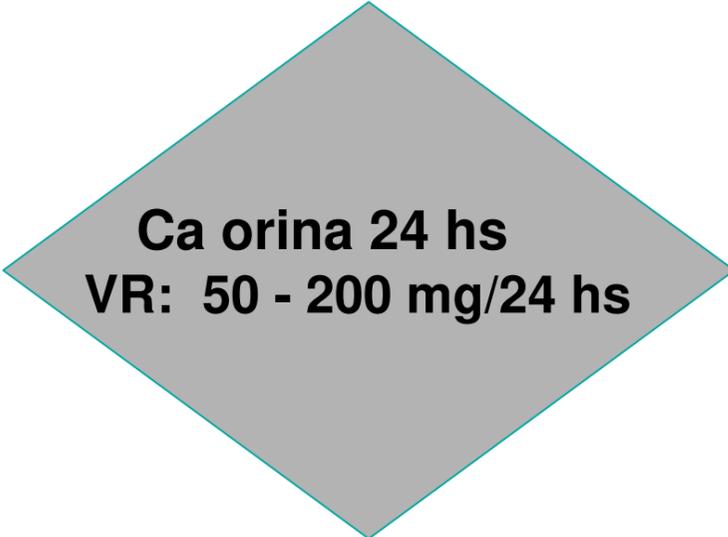
**Ca iónico:
VR: (4,5 – 5,0 mg/dl)**

Calcio en Orina 24 hs

Depende de:

- Absorción intestinal.
- Remodelación Ósea.
- Manejo renal.

- **AUMENTA:** en estados de sobrecarga salina, hipercalcemia, intoxicación por VIT D, tubulopatías, hipertiroidismo, tratamiento con furosemida.
- **DISMINUYE:** en procesos que cursan con retención salina, hipocalcemia, déficit de VIT D, insuficiencia renal, hipotiroidismo, y tratamiento con tiazidas.



Ca orina 24 hs
VR: 50 - 200 mg/24 hs

Condiciones de Recolección

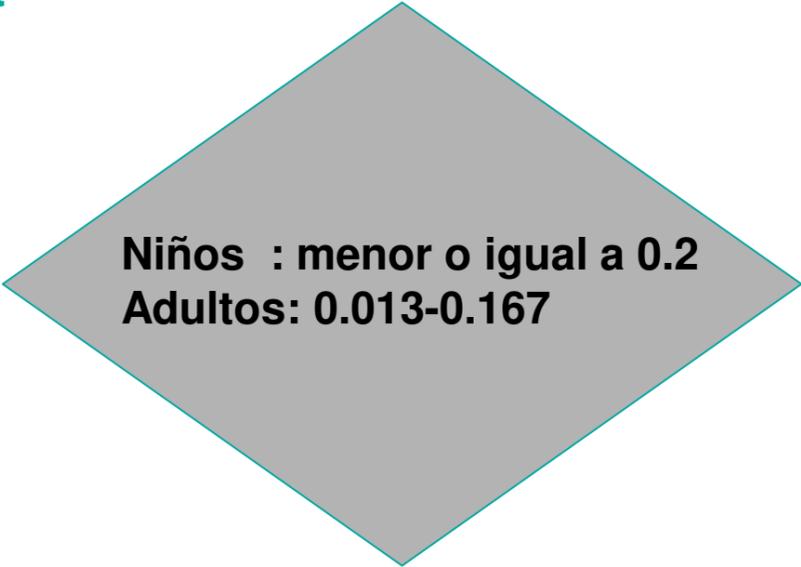
Muestra:

Dieta: Se sugiere **reducir la ingesta de lácteos y sus derivados** (quesos, manteca, crema, yogurt, etc.) durante tres (3) días previos a la recolección de la orina. Al cuarto día comenzar a recolectar la muestra. Modo de recolección: Descartar la primera orina de la mañana, y a partir de ahí recolectar **TODA LA CANTIDAD DE ORINA (SIN DESCARTAR NINGUNA)** incluyendo la primera de la mañana del día siguiente.

Relación Ca/ Creatinina en orina ocasional

Se ha utilizado el índice **Ca/Cr** en muestra de orina tomada al azar como estimador de hipercalciuria, especialmente en infantes, en los que la recogida de orina de 24 horas es particularmente engorrosa

La **relación Ca/Cr** obtenida con una muestra matutina de orina puede escalarse hasta un estimado confiable de la excreción urinaria de calcio (calciuria) de 24 horas.



Niños : menor o igual a 0.2
Adultos: 0.013-0.167

Fósforo Sérico

- Varía con el aporte de la dieta y tiene ritmo circadiano.
- La mayoría circula libre y un pequeño porcentaje unido a P.
- Se observan cc mayores en los primeros años de vida. (RN hasta 6,1 mg/dl)
- Las muestras no tienen que estar hemolizadas, ya que sale el fósforo del interior del GR y pueden dar falsos aumentos.
- Métodos de determinación: Técnicas enzimáticas



VR: 2,5-4,5 mg/dl
Fósforo Sérico

PARATHORMONA

- Péptido secretado por la paratiroides cuando hay hipocalcemia.
- Genera un aumento de Ca y una disminución de P en el plasma.

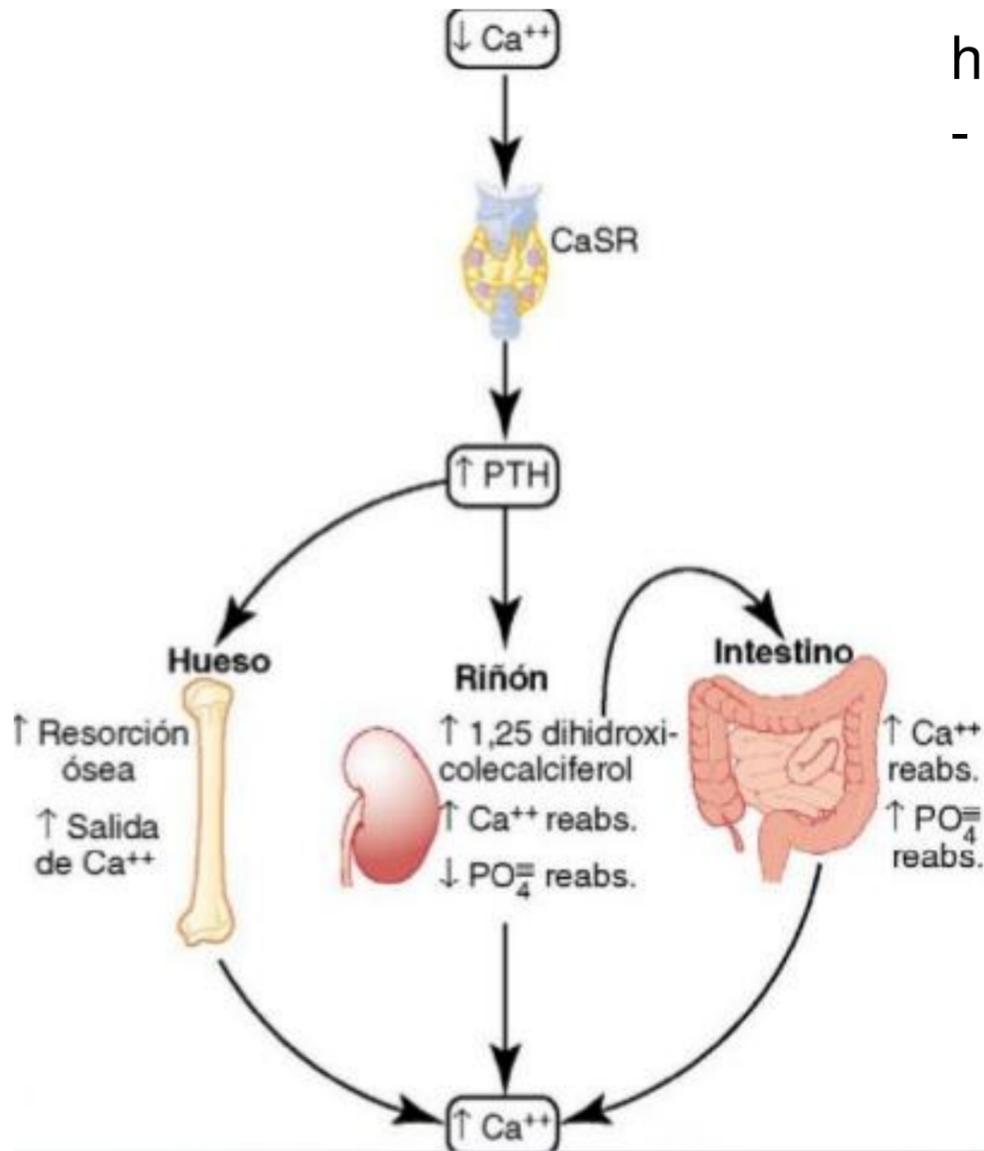
Hueso: Aumenta la remodelación ósea (aumenta el Nº de osteoclastos y la osteólisis)

Riñón: Aumenta la reabsorción de Ca y disminuye la de P.

Acelera la formación de metabolitos de la Vit D.

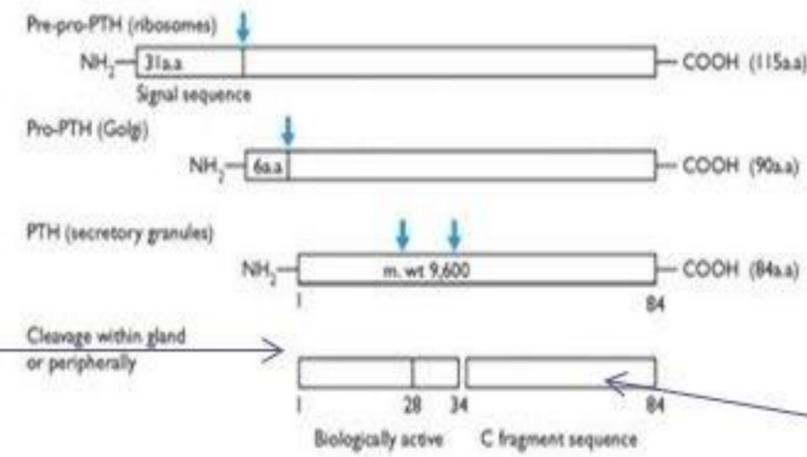
Intestino: Estimula indirectamente la absorción de Ca.

Parathormona
VR: 15 - 65 pg/ml



Los métodos generalmente utilizados son los que dosan ambos fragmentos de molécula, si el método dosara la molécula completa, al ir clivándose no se encontrarían valores reales de PTH.

PARATHORMONA



Pre-pro PTH (ribosomas)

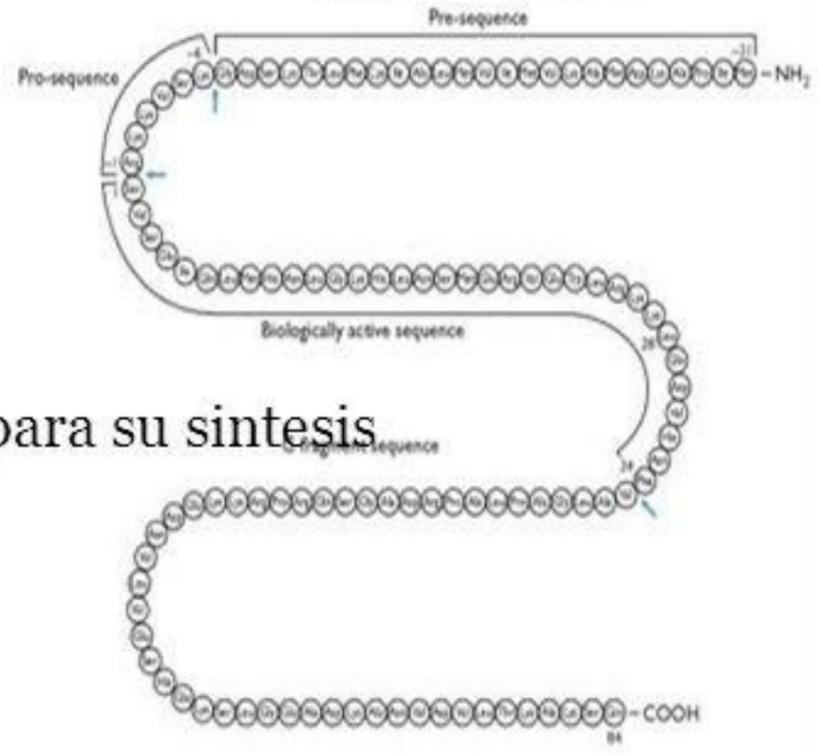
Pro-PTH (Golgi)

PTH (Glándulas secretoras)

Porción inactiva y marcador de secreción de PTH (excepto en insuf renal)

Durante la síntesis de la PTH se producen distintas modificaciones en la molécula hasta su liberación por las glándulas secretoras de la paratiroides

Porción activa



La PTH en sangre no se une a ningún transportador y por ello su vida media es de unos 4 minutos.

El hígado y el riñón son los principales lugares de degradación, dando lugar a productos sin actividad biológica pero que modifican las medidas inmunológicas de esta hormona.

Se necesita Mg para su síntesis

TOMA DE MUESTRA Y MÉTODOS DE DETERMINACIÓN PARA PTH

Los métodos generalmente utilizados son los que dosan ambos fragmentos de molécula, si el método dosara la molécula completa, al ir clivándose no se encontrarían valores reales de PTH.

(Inmunoensayo de electroquimioluminiscencia : se utilizan ac monoclonales para detectar el extremo amino y carboxilo terminal y así detectar la molécula entera)



Para evitar la fragmentación de la misma

Luego de realizar la extracción se debe separar del paquete globular lo más rápido posible y mantener refrigerada hasta su procesamiento.

25 (OH) Vit D

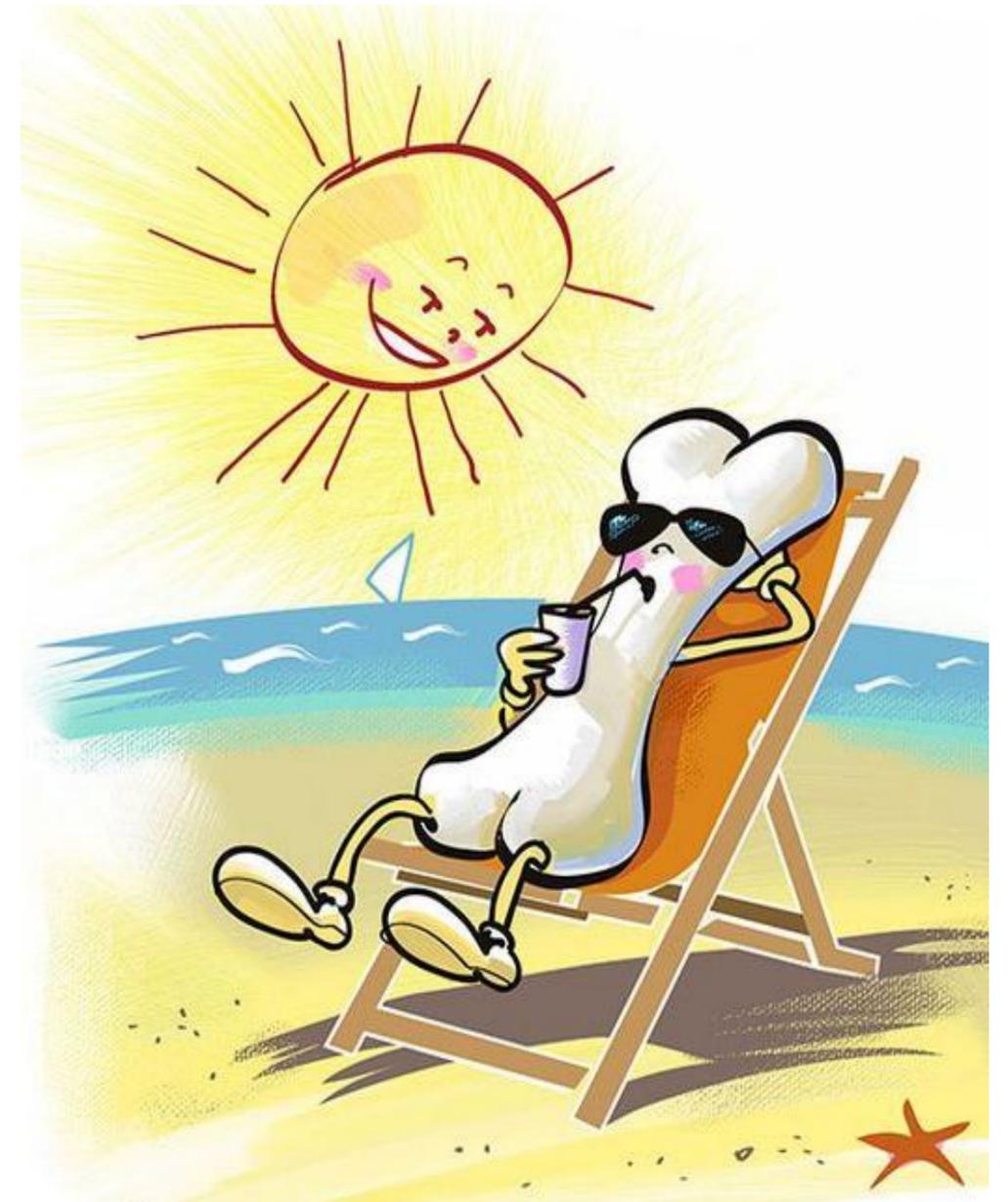
Su concentración está determinada por la exposición solar y su aporte a través de la dieta.

Variación estacional.

Niveles < 8 ng/ml ---- Déficit de Vit D (RAQUITISMO)

Circula unida a una globulina.

25 (OH) 2 Vit D
VR: 10-50 ng/ml



METABOLISMO DE LA VITAMINA D

La vitamina D, para llegar a ser una H activa debe hidroxilarse dos veces, la primera vez lo hace en hígado y la segunda en riñón (allí se genera el metabolito activo ---- **CALCITRIOL**)

Formación de Calcitriol:
Regulada por PTH, acción sobre la C1 hidroxilasa renal

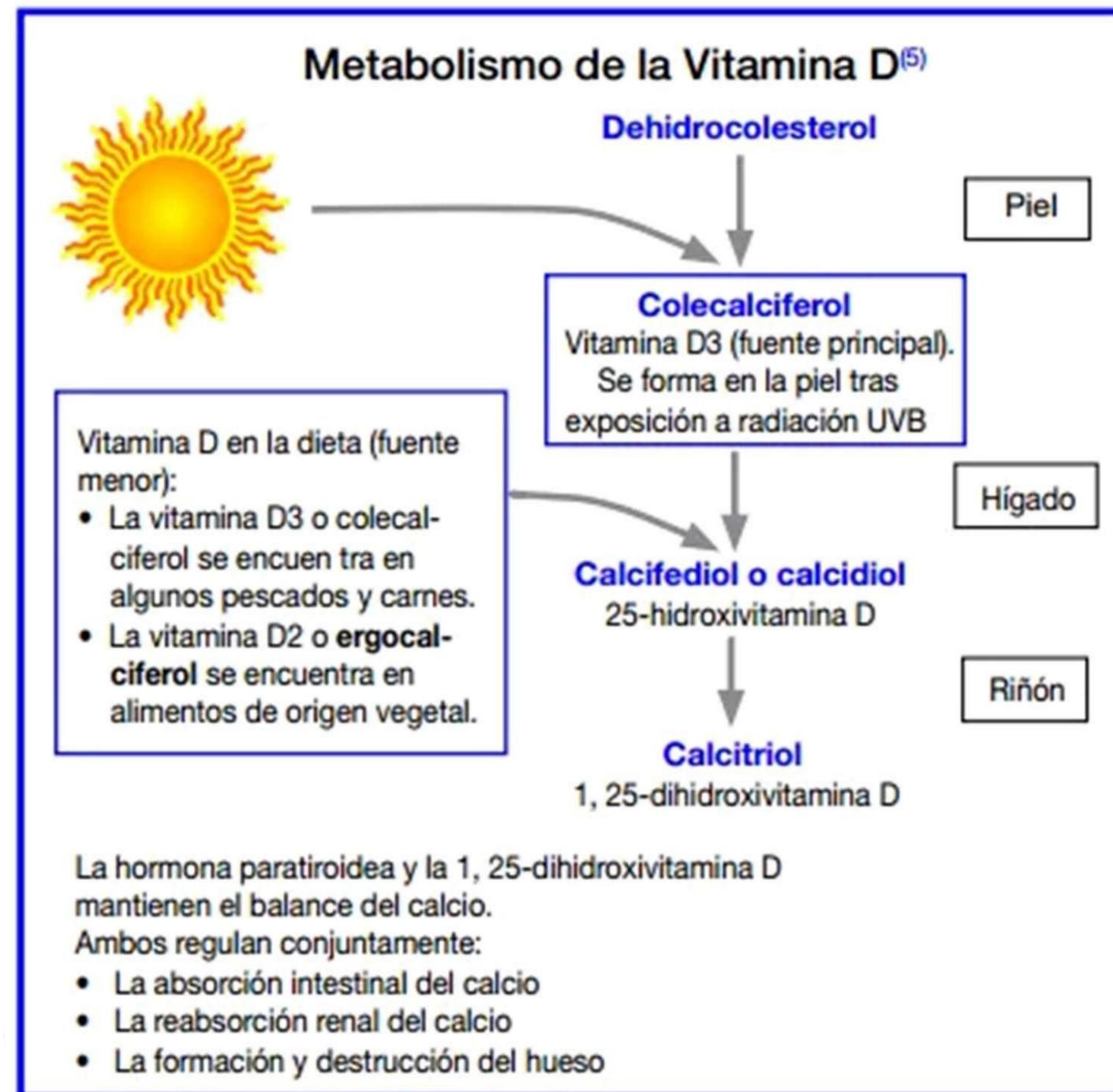
Técnica utilizada: electroquimioluminiscencia

VR: <15 ng/ml: Deficiencia.

15-30 ng/ml: Insuficiencia.

30-100 ng/ml: Suficiencia.

>100 ng/ml: Toxicidad.



CALCITRIOL/ 1, 25 (OH)₂ VIT D

No varía en relación a la exposición solar.

Su producción esta regulada por la PTH, el Ca iónico, el fósforo inorgánico y por la concentración del mismo metabolito.

Aumenta la absorción de Ca iónico desde el lumen intestinal (principalmente, no tanto a nivel óseo)

No informa sobre reservas de Vit. D

Las técnicas dosan 25 (OH) VIT D, la detección de calcitriol es muy engorrosa.

Calcitonina

Hormona secretada por las células C de tiroides.

Acción opuesta a la PTH (*Reduce la actividad resorptiva y la formación de osteoclastos, aumenta la calciuria y la fosfaturia y disminuye la calcemia y la fosfatemia*)

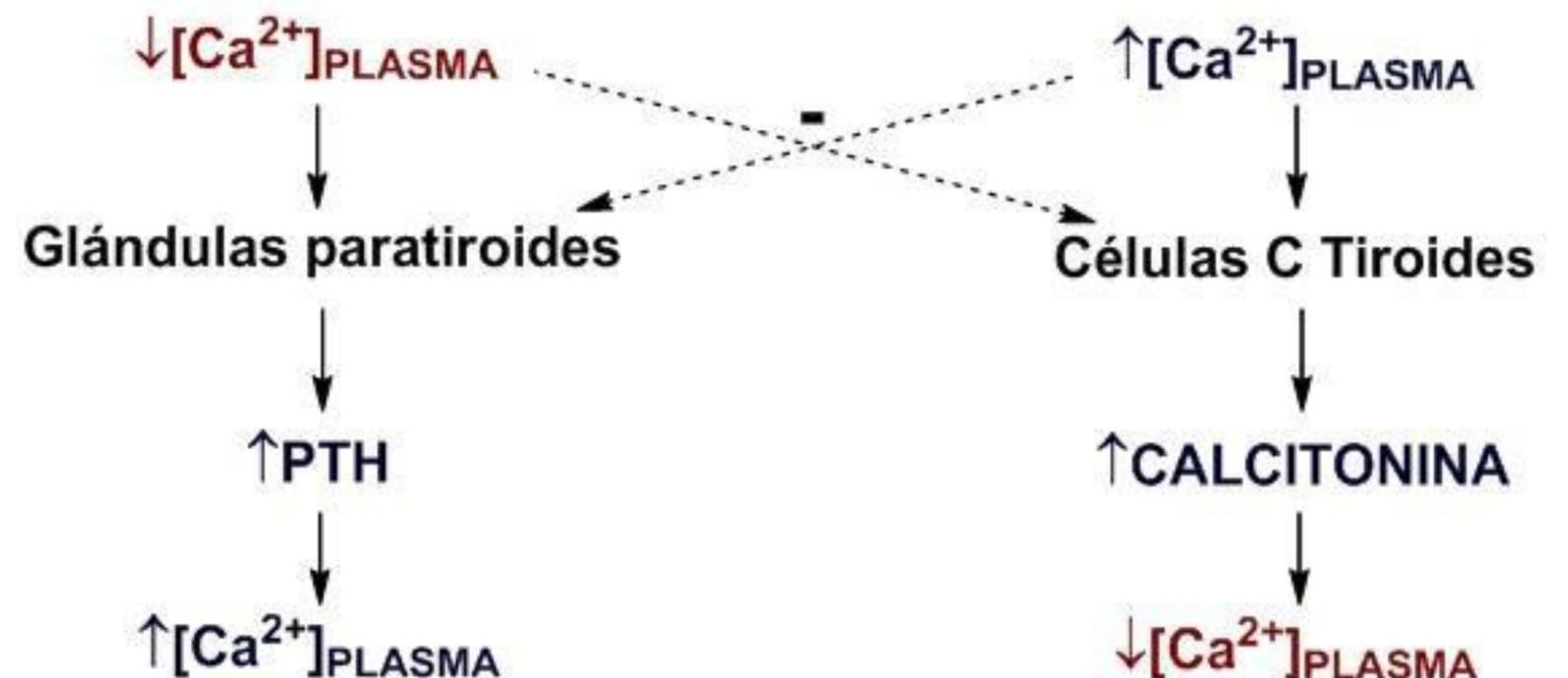
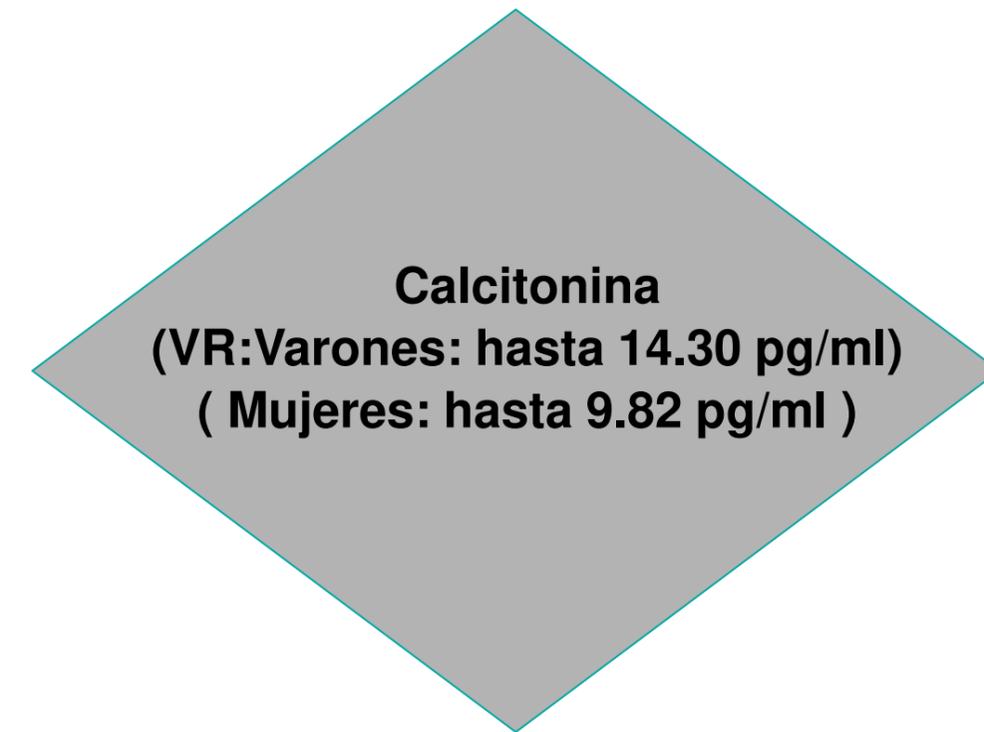
Útil en control de carcinoma medular de tiroides.

Niveles elevados en RN, durante la gestación, y la lactancia.

Sus niveles disminuyen hasta la edad adulta

Muestra: SUERO o PLASMA CON HEPARINA

Método: *electroquimioluminiscencia*



**MARCADORES DE
FORMACIÓN ÓSEA O DE
ACTIVIDAD
OSTEOBLÁSTICA**

FOSFATASA ALCALINA

FAL SÉRICA:

Isoenzimas: 60% hepática – 40 % ósea

Presente en membrana de **OSTEOBLASTOS**

No es específica, ya que también se encuentra en placenta, intestino, hígado, riñón, leucocitos y próstata.

Su concentración es más alta en niños.

Pico en adolescencia, y ligero incremento con los años.

Se ve aumentada en: *PAGET, OSTEOMALACIA, HIPERPARATIROIDISMO PRIMARIO Y OSTEODISTROFIA RENAL.*

Método utilizado: CINÉTICO (UV)



FOSFATASA ALCALINA

VR: H : de 40 a 130 UI/L

M : de 35 a 105 UI/L

ISOENZIMAS DE LA FOSFATASA ALCALINA

FOSFATASA

VR DE ISOENZIMAS	HEPÁTICA	ÓSEA
Niños y adolescentes	< 25%	(70-90)%
Adultos	(45-80)%	(20-40)%
Lugar de síntesis	Células epiteliales del conducto biliar.	Producida por los osteoblastos
Aplicación Clínica	Enfermedad obstructiva hepática	Enfermedad metabólica ósea, asociada a incremento de la actividad osteoblástica



Las isoenzimas se diferencian por su estructura molecular, propiedades físicoquímicas, antigénicas y catalíticas.

OSTEOCALCINA SÉRICA

Proteína no colágena mas importante de la matriz ósea.
Representa el *2% de proteínas totales de hueso*

Sintetizado por los **osteoblastos**

Se deposita en el hueso como parte de las proteínas NO colágenas que se incorporan a la matriz ósea durante su maduración, durante esta incorporación algo pasa a sangre, por lo que se la considera un **índice de actividad sintética osteoblástica**.

Su función es fijar el calcio

Concentración elevada en la infancia - Pico en la pubertad.

Su forma incompletamente descarboxilada ha mostrado ser predictiva del riesgo de fracturas en cadera.

Método utilizado para su medición:**ELECTROQUIMIOLUMINISCENCIA**



Osteocalcina:

Tiene *ritmo circadiano* (pico 4 am), declinando en la mañana.

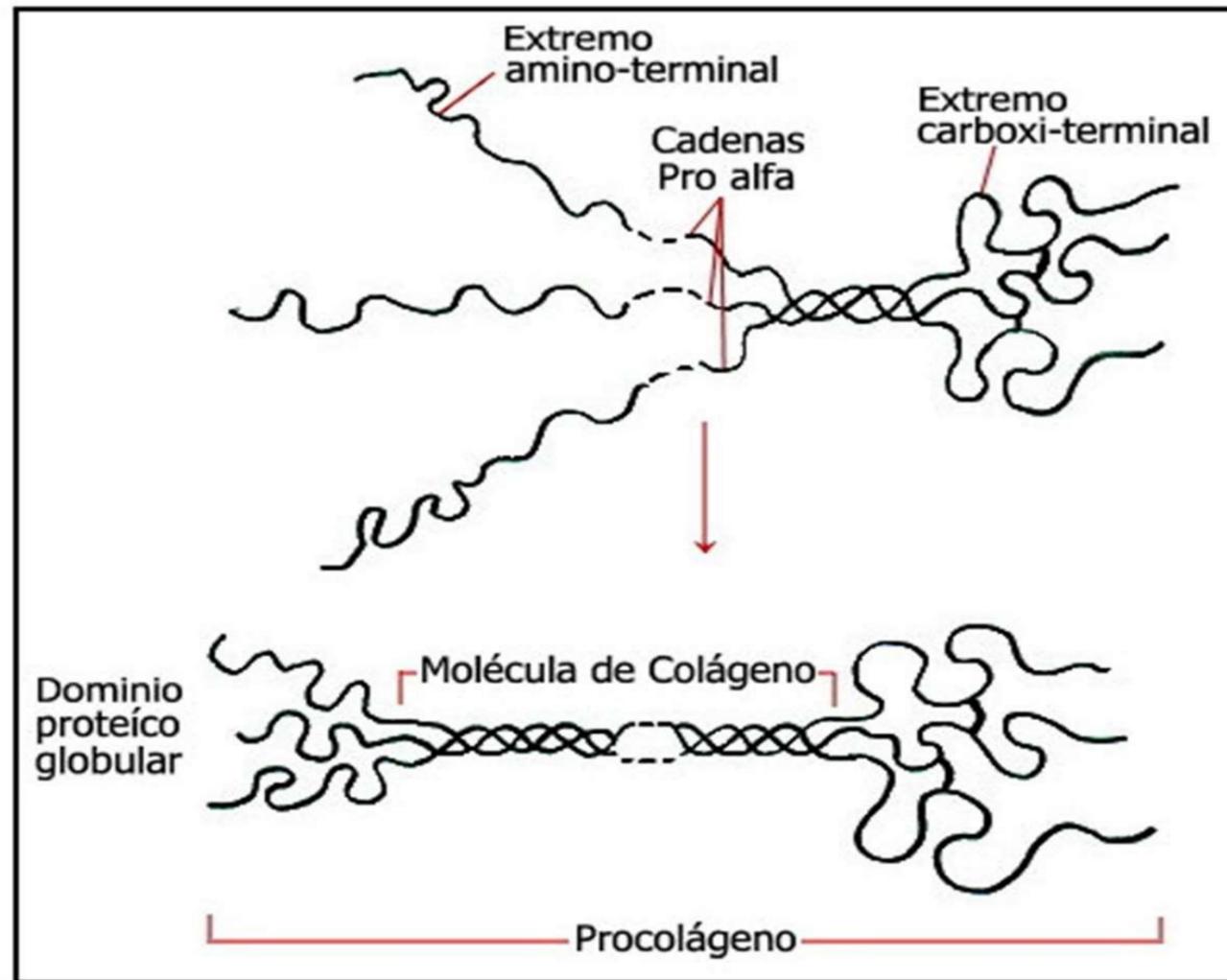
Aumentos en la fase lútea, y durante el embarazo, retornando a valores normales antes del parto.

El estado de la Vit K también afecta el % de carboxilación por lo tanto a su actividad.

Como ocurre con la PTH es **INESTABLE**, por lo que se debe procesar de manera rápida y conservar en frío.

Su valor disminuye en el tratamiento con corticoides.

PROPÉPTIDOS DE COLÁGENO TIPO I (CARBOXI Y AMINO TERMINAL)



El procolágeno tipo I (precursor del colágeno tipo I) es sintetizado por los osteoblastos.

Los fragmentos PICP y PINP son propéptidos eliminados del procolágeno tipo I durante la formación de la fibra de colágeno.

Son evaluados con inmunoensayos.

PINP	PICP
VR: M (19-84) Ug/L H (20-76) Ug/L	VR : M (50-170) ug/L H (38-202) ug/L

**MARCADORES DE
RESORCIÓN ÓSEA O DE
ACTIVIDAD
OSTEOCLÁSTICA**

HIDROXIPROLINA

Es el aminoácido más abundante de las fibras de colágeno, en plasma esta presente de tres maneras : **LIBRE, UNIDO A PÉPTIDOS Y A PROTEÍNAS** (éestas últimas no se eliminan por riñón)

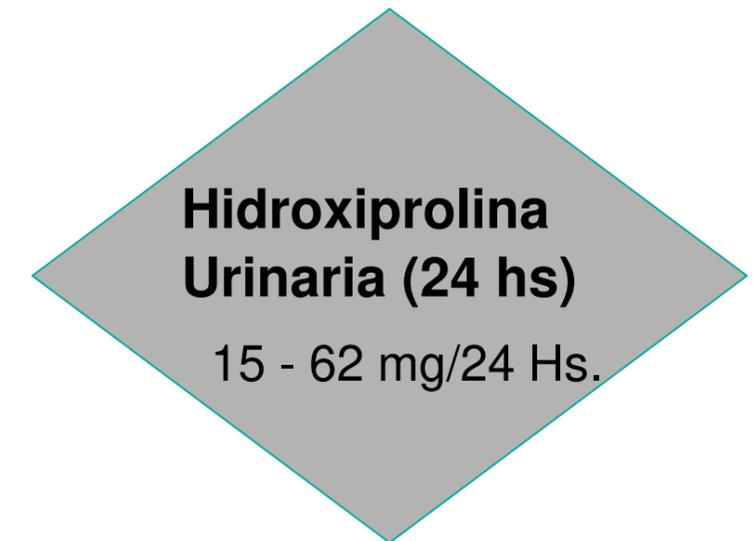
Su excreción urinaria (10% total) es principalmente un índice de la actividad de resorción ósea, pero también de formación, por ello, su **excreción es mayor en los niños que en adultos.**

Presenta un pico secundario de eliminación en la pubertad.

Su eliminación urinaria está influida por la dieta (evitar ingesta de gelatinas durante las 48 hs previas al estudio).

Métodos disponibles colorimétricos y por HPLC.

INDICADOR POCO SENSIBLE Y ESPECÍFICO.



CROSS LINKS Piridinolina (Pyr) y Deoxipiridinolina (Dpyr)

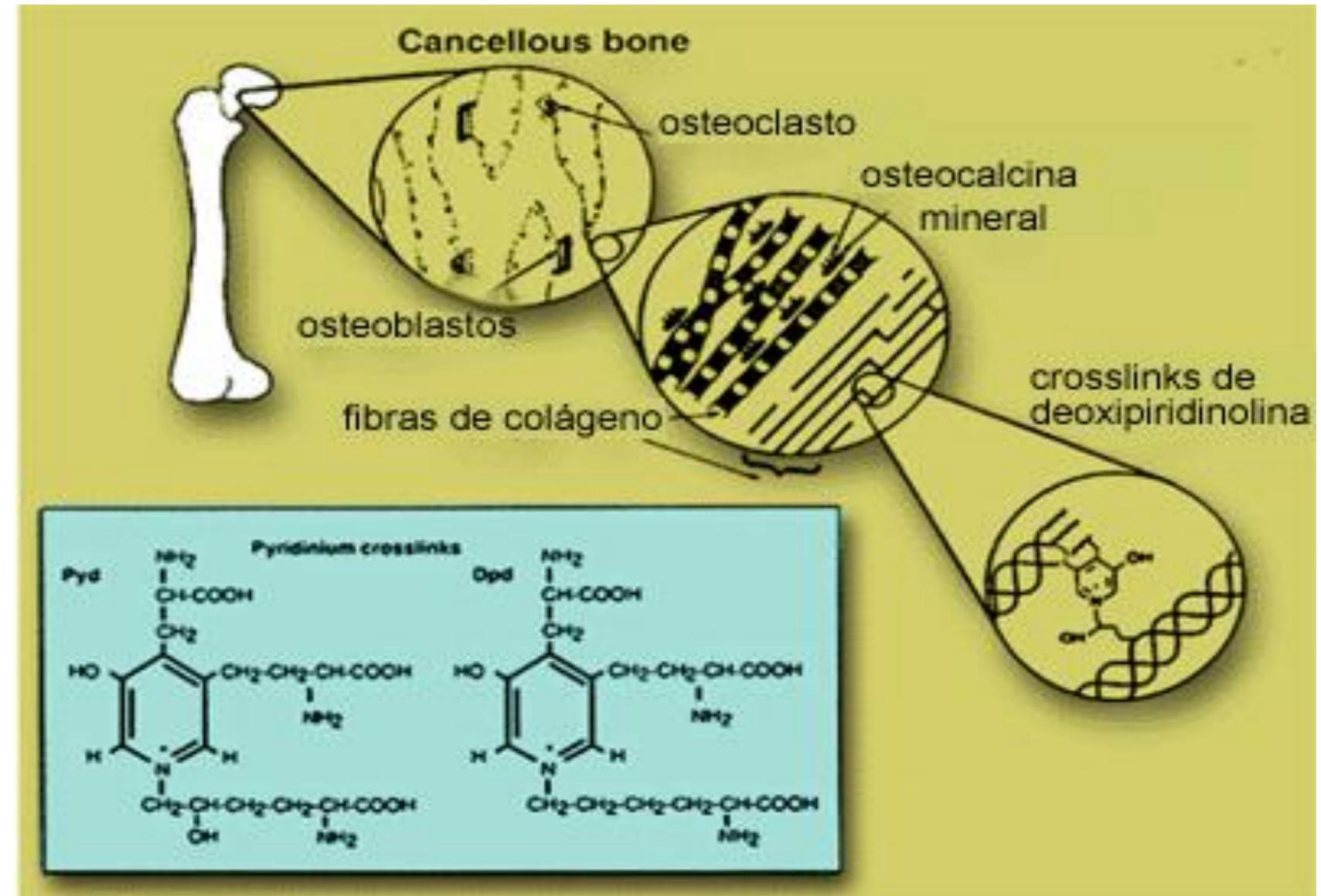
Cuando el colágeno se deposita sobre la matriz ósea, lo hace en forma de fibrillas longitudinales al contactarse entre ellas se van estabilizando entre aminoácidos mediante puentes llamados cross-links, así se van formando *estructuras cíclicas* llamadas de manera general **PIRIDINOLINAS**.

Cuando el residuo interactuante es :

HIDROXILISINA: PIRIDINOLINAS

LISINA: DEOXIPIRIDINOLINAS

Son indicadores de la destrucción del colágeno óseo **MADURO**.



CROSS LINKS Piridinolina (Pyr) y Deoxipiridinolina (Dpyr)

Aumentan en la sangre cuando el colágeno es degradado por los osteoclastos, y **sin metabolizar** se excretan por orina.

La Pyr además de hueso se encuentra en cartílago y otros tejidos conectivos, mientras que la D-pyr se ubica casi exclusivamente en hueso y dentina (por ello este último **marcador es mas específico como indicador de RO**)

Se excretan por orina en un 40% aproximadamente libres y un 60% unidos a péptidos pequeños.

Los valores en los adultos son estables y aumentan un 50 -100 % en las mujeres menopáusicas, por la disminución del estradiol.

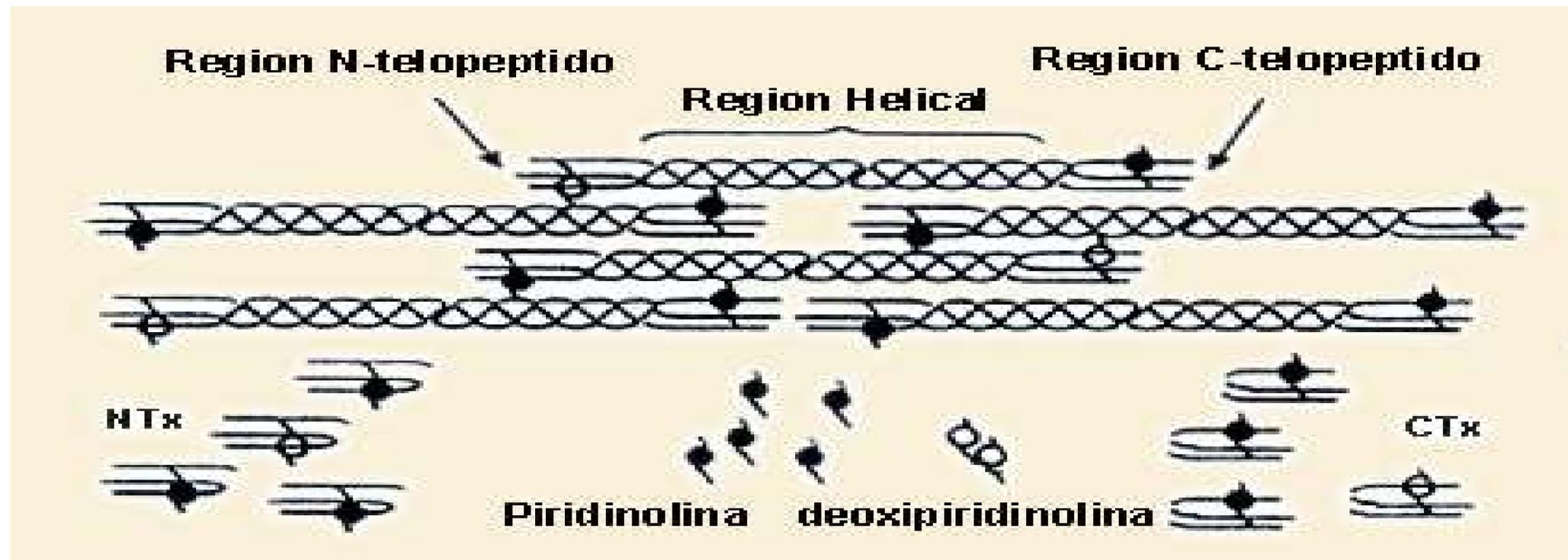
Se utilizan métodos de QUIMIOLUMINISCENCIA, sobre muestras de **orina ocasional** (también se realizan sobre muestras de 24 hrs)

VR: Dpyr Hombres: 2.30 - 5.40 nM/mM cr / Mujeres: 3.00 - 7.40nM/mM cr
Pyr: Hombres: 8.00 a 24.00 nmol/mmol / Mujeres: 10.00 a 37.00 nmol/mmol

TELOPÉPTIDOS

MARCADORES MÁS SENSIBLES Y ESPECÍFICOS DE RESORCIÓN ÓSEA.

- 1) N-TELOPÉPTIDOS (NTX)
- 2) *C-TELOPÉPTIDOS (CTX) o BETA CROSS LAPS*



BETA CROSS LAPS

Los fragmentos de C-telopéptidos (CTX), son liberados a la circulación por la ***degradación del colágeno tipo I*** mediado por los osteoclastos.

Utilidad en el diagnóstico

El ensayo B- CrossLaps es capaz de detectar el aumento de la resorción ósea.

Se realiza en suero, es **sensible y altamente reproducible**.

Resulta más útil que otras técnicas ya que mejora la sensibilidad y la especificidad.

Es **preciso** y predice el riesgo de fractura en mujeres peri y postmenopáusicas.

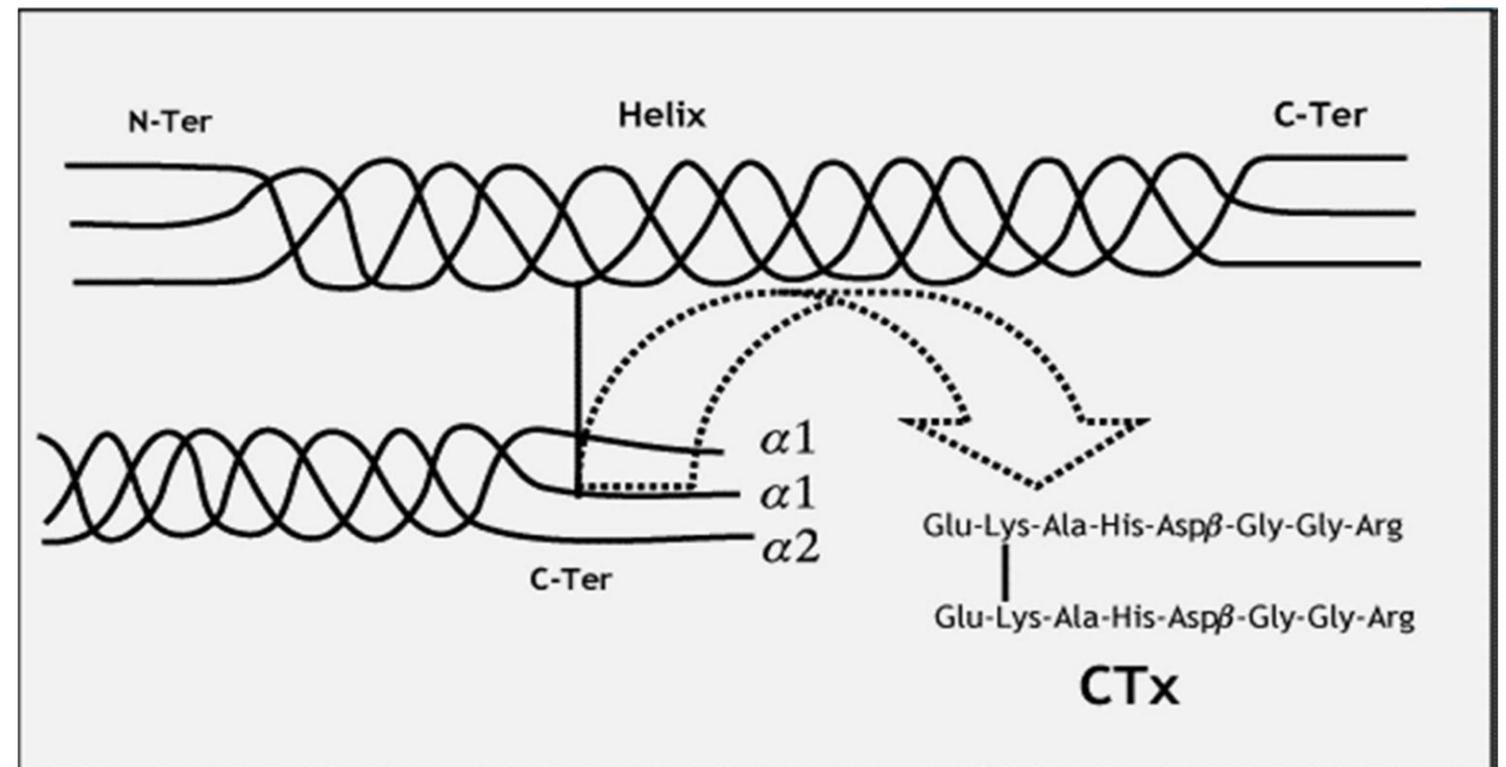


Figura 1 – Representação esquemática da origem dos fragmentos carboxiterminais do colágeno tipo I. A digestão do colágeno maduro libera peptídeos únicos originados pela associação entre as diferentes fibrilas

BETA CROSS LAPS

PACIENTES EN TRATAMIENTO:

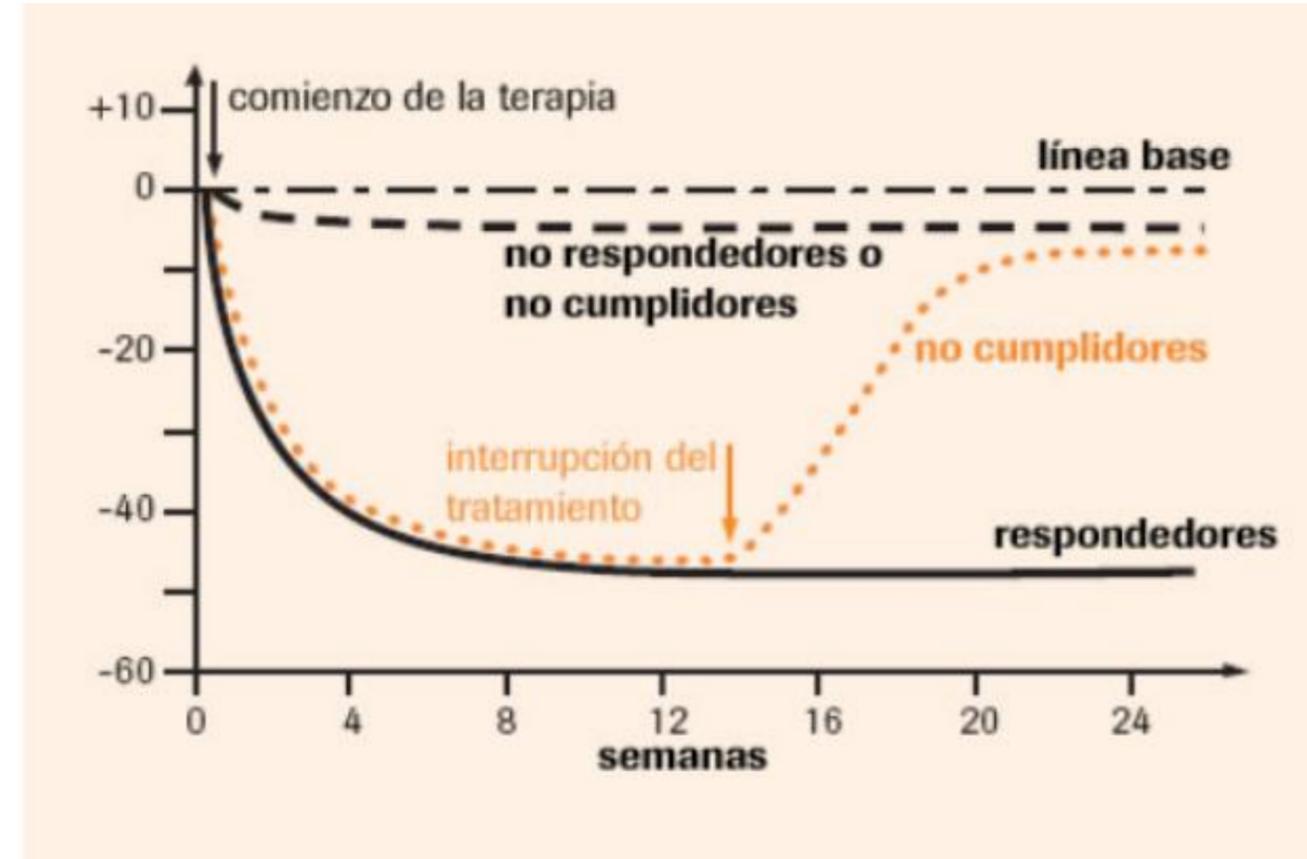
Marcador sensible para la terapia antiresortiva.

Terapia antiresortiva: los pacientes tratados con bifosfonatos muestran un marcado descenso en β -CrossLaps a las tres semanas de iniciar el tratamiento.

Una interrupción repentina del tratamiento refleja la falta de cumplimiento (•••••), los pacientes experimentan casi de forma inmediata un aumento de los niveles de β -Cross Laps, poniendo de manifiesto la elevada sensibilidad de este marcador.

Los pacientes que responden a la terapia (—) mantienen niveles bajos de β -CrossLaps.

Por el contrario los pacientes que no responden bien a la terapia (- - - - -), o aquellos que nunca recibieron el tratamiento se mantuvieron en la línea base.



Pre-menopáusicas: 0.14 a 0.57 ng/ml

Post-menopáusicas: 0.22 a 1.0 ng/ml

30 - 50 años: 0.14 a 0.58 ng/ml

51 - 70 años: 0.20 a 0.70 ng/ml

Mayor de 70 años: 0.23 a 0.85 ng



GRACIAS