

OSTEOPOROSIS

(Aporte del laboratorio)

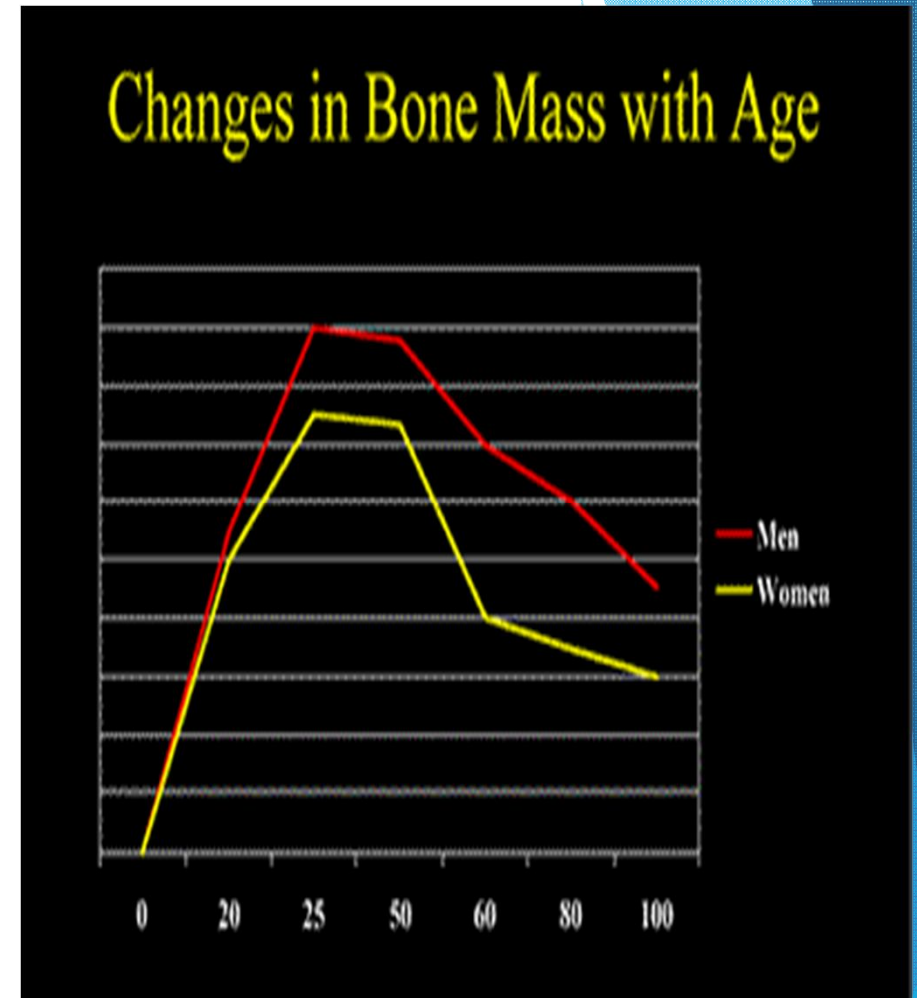


**Curso Diagnóstico de Laboratorio en la
Clinica Medica de Hoy**

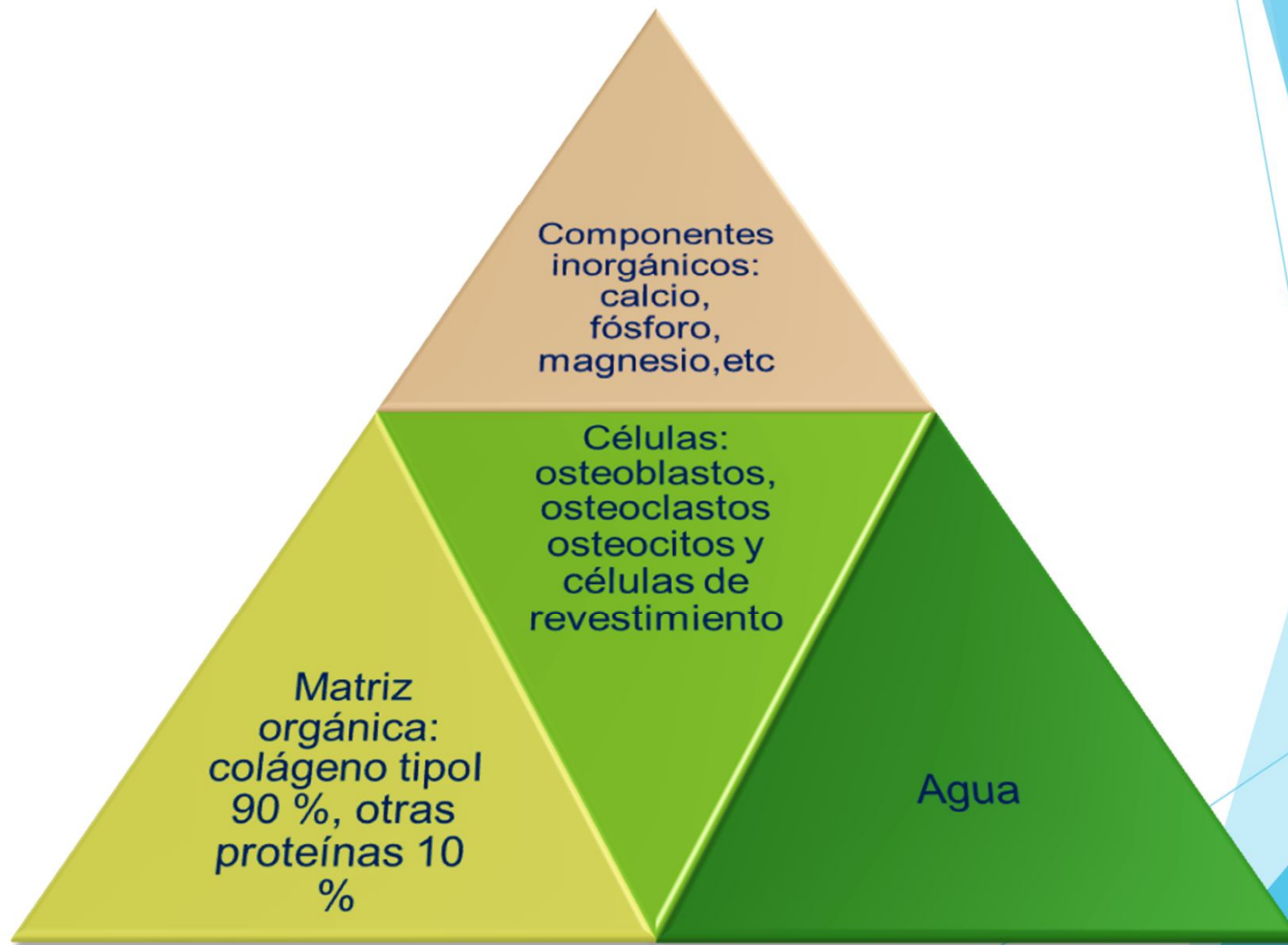
Bioq. M.Virginia Melia 25/10/2016

Introducción

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



Hueso = matriz orgánica mineralizada por depósitos de sales de calcio



Componente orgánico

- **CALCIO**
- **FOSFORO**

Sus niveles son un reflejo dinámico de las tasas de remodelamiento óseo.

CALCIO

Calcio corporal total

Esqueleto (99%)

Intracelular (1%)

Extracelular (0,1%)

Plasma

El calcio libre es el que se regula, a través de la PTH y la Vit D

Ca²⁺ Ionizado
45%

Ca²⁺ unido

Proteínas del Plasma (45%)

Aniones (ej: HCO₃ - PO₄)

Factores que afectan a la calcemia:

Ca Total : Calcio unido + Ca iónico

El calcio se une a los sitios de las proteínas cargadas negativamente, por lo que es PH dependiente.

El PH afecta la proporción libre-unido

↓ PH → ALB mas protonada → ↓ unión Ca²⁺
Como resultado se obtiene mayor proporción de Ca²⁺

Proteínas:

Ca unido a: **ALBUMINA 80% - GLOBULINAS 20%**

Por lo tanto la **hipoalbuminemia** es un factor que hay que tener en cuenta, para ello :

Calcemia corregida = calcemia medida + [0,8 x (4 – albuminemia)]

DETERMINACION DE CALCIO

CALCIO

Suero – *Importante! NO USAR sangre con EDTA ya que es un quelante de Calcio, y las concentraciones se verán disminuidas.*

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

Ca Ionico (VR: 4,5-5 mg/dl)

Métodos utilizados para: Ca total : Colorimétrico
Calcio Ionico : Ión Selectivo

ORINA

(sugerida como marcador de resorción ósea)

ORINA DE 2 HS

Valor > 0.16 (Resorción osea aumentada)

ORINA DE 24 HS

(VR: 50 - 200 mg/24 Hs.)

Calcio en Orina 24 hs (VR: 50 - 200 mg/24 Hs.)

- ▶ El Ca excretado por orina refleja : - **Absorción intestinal.**
- **Remodelación Osea.**
- **Manejo renal.**

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.

- ▶ **AUMENTA:** en estados de sobrecarga salina por ello puede ser útil a veces también solicitar Sodio urinario, hipercalcemia, intoxicación por VIT D, tubulopatías, hipertiroidismo ,etc.
- ▶ **DISMINUYE:** en procesos que cursan con retención salina, hipocalcemia, déficit de VIT D, insuficiencia renal, hipotiroidismo, etc.
- ▶ Se esperaría que la calciuria en la osteoporosis esté elevada.

Ca en orina de 2 hs en ayunas

- **Asume acotado el componente renal.**
- Es mejor realizarlo con dieta previa de Ca.
- $$\text{Ca o(mg/dl)} = \frac{\text{Ca o (mg/dl)}}{\text{Creatinina o (mg/dl)}}$$
- Valor > 0.16 (Resorción osea aumentada)
- Valores entre 0.10 y 0.11 hipercalciuria en ayunas

Recordar: El cuerpo secreta creatinina a una velocidad estable, por lo tanto se compara el nivel de Calcio con el de creatinina para determinar si el cuerpo secreta Ca en una proporción mayor.

Fósforo Sérico (VR: 2,5-4,5 mg/dl)

- Varía con el aporte de la dieta y tiene ritmo circadiano.
- La mayoría circula libre , y un pequeño porcentaje unido a proteínas.
- Se observan concentraciones 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:***

Espectrofotométricos

Técnicas enzimáticas

FOSFATURIA (Muestra : orina de 24 hs y suero para dosar fosfatemia)

Altamente dependiente de la dieta y muy variable.

Reabsorción Tubular de Fosforo

$$[1 - (P_o \cdot Cr_p / Cr_o \cdot P_p)] \cdot 100$$

Intervalo de referencia : 82 – 95 %

En el hiperparatiroidismo la RTP es inferior al 78%

Clearance de Fosforo=

$$[P_o / (14,4 \cdot P_p)] \cdot 1,73m^2 / \text{sup corporal}$$

Intervalo de referencia: 6 – 12 ml/min

Utiles para distinguir el hiperparatiroidismo de otras etiologías de la hipercalcemia. Se ve afectado el resultado por la función renal.

Papel de las hormonas en el metabolismo óseo

PARATHORMONA (VR:15 - 65 pg/ml)

- 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 N° 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.

TOMA DE MUESTRA

Luego de realizar la extracción se debe **separar** del paquete globular (Sangre entera con EDTA) lo más **rápido** posible y mantener refrigerada hasta su procesamiento.



**DE ESTA MANERA SE EVITA LA
FRAGMENTACIÓN DE LA PTH.**

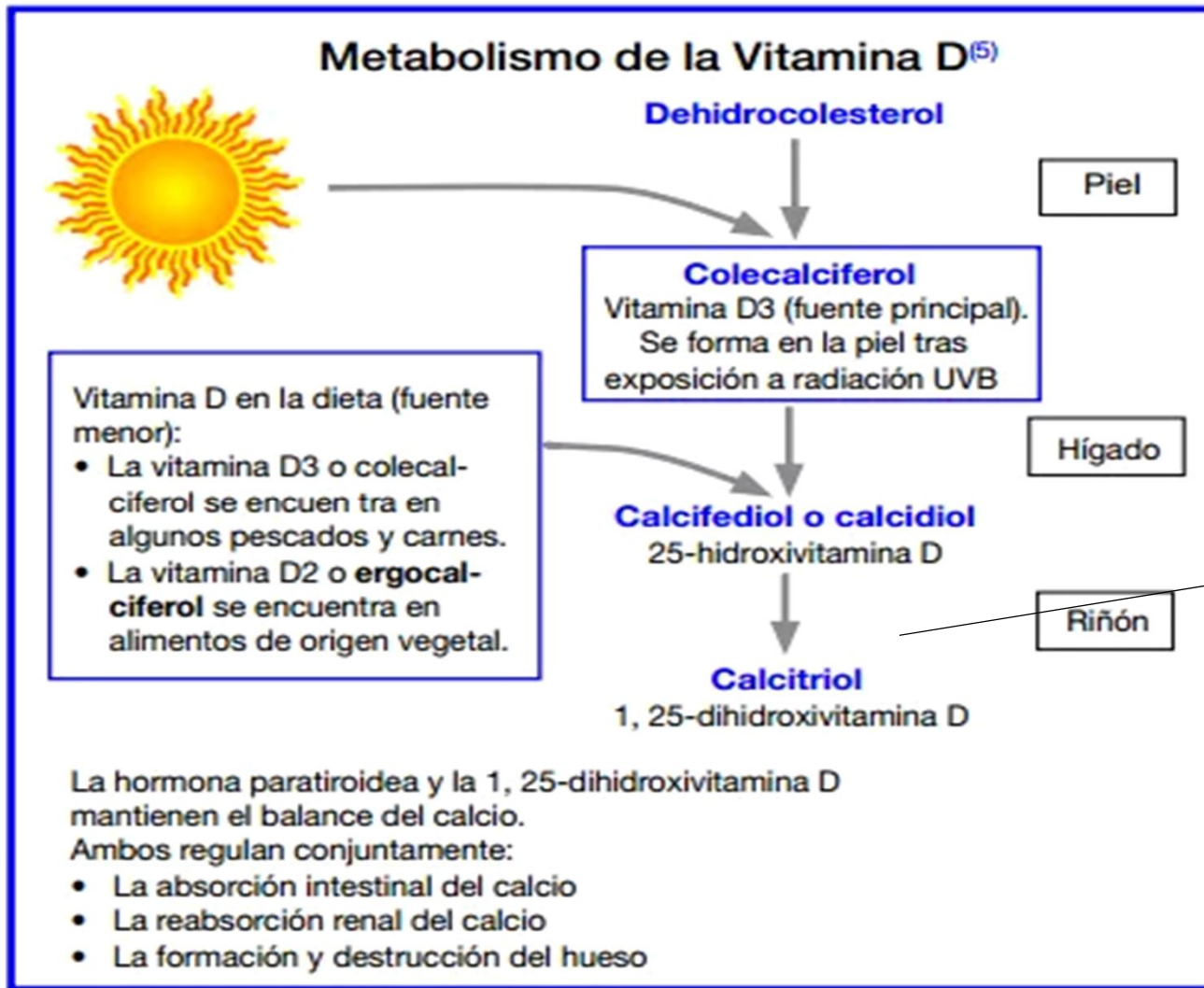
25 (OH)₂ Vit D

- Precursor liposoluble del grupo de los esteroides producido principalmente por la piel por efecto de la luz solar. Es inerte hasta sus posteriores hidroxilaciones.
- Dos formas de la vitamina D, ergocalciferol (D2), ingerida con alimentos y suplementos y colecalciferol (D3) producida por el organismo.
- Su concentración está determinada por la **exposición solar** y su aporte a través de la **dieta**.
- Variación estacional.
- VR: <15 ng/ml: Deficiencia.
15-30 ng/ml: Insuficiencia
30-100 ng/ml: Suficiencia.
>100 ng/ml: Toxicidad.

Circula unida a una globulina.



La vitamina D , para llegar a ser una hormona 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)

CALCITRIOL/ 1, 25 (OH)₂ VIT D

- No varía en relación a la exposición solar.
- Su producción está regulada por la PTH, el Ca²⁺, el fósforo y por la concentración del mismo metabolito.
- Aumenta la absorción de Ca²⁺ desde el lumen intestinal (principalmente, no tanto a nivel óseo)
- No informa sobre reservas de Vit D

Las técnicas dosan Vit D total (Vit D2 y D3 juntas) por electroquimioluminiscencia. La detección de calcitriol es muy engorrosa.

Calcitonina

(VR: Varones: hasta 14.30 pg/ml
Mujeres: hasta 9.82 pg/ml)

- Acción **opuesta** a la **PTH**
- Util en control de carcinoma medular de tiroides
- Niveles elevados en RN, durante la gestación, y la lactancia.
- Podría prevenir efectos resortivos excesivos de la Vit D en hueso , y **facilitar la absorción intestinal de Ca.**
- Sus niveles disminuyen hasta la edad adulta

MARCADORES BIOQUIMICOS DE OSTEOPOROSIS

NO INFORMAN SOBRE EL NIVEL DE DENSIDAD MINERAL OSEA POR LO TANTO **NO CONFIRMAN PRESENCIA O AUSENCIA DE OSTEOPOROSIS . SON UN ESTUDIO COMPLEMENTARIO**



OSTEOPOROSIS

Enfermedad caracterizada por:

- Perdida neta de hueso.
- Incremento en la fragilidad del hueso
- Susceptibilidad a riesgo de fractura (diminución de densidad mineral ósea y de la calidad del hueso)

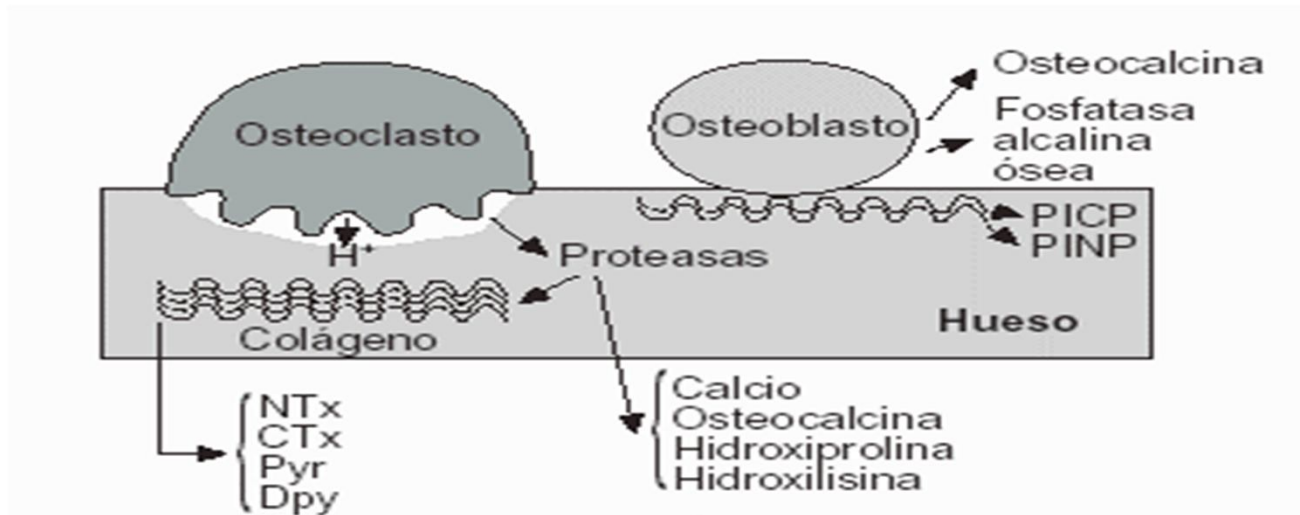
LOS **MARCADORES BIOQUIMICOS** NO INFORMAN SOBRE EL NIVEL DE DENSIDAD MINERAL OSEA POR LO TANTO **NO CONFIRMAN PRESENCIA O AUSENCIA DE OSTEOPOROSIS .**
SON UN ESTUDIO COMPLEMENTARIO

Principales causas de Osteoporosis

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

Clasificación de Marcadores Bioquímicos de remodelado óseo.

- **Formación Osea:** Proteínas sintetizadas por los osteoblastos
- **Resorción Osea:** Productos de la síntesis de los osteoclastos, de la matriz mineral y del colágeno.



MARCADORES DE FORMACION OSEA

1- FOSFATASA ALCALINA

(VR: Hombres : 40-130 UI/L , Mujeres: 35- 105 UI/L)

- **FAL SERICA : 60% hepática – 40 % ósea**
(Resulta más específico solicitar la isoenzima osea)
- Presente en membrana de **OSTEOBLASTOS**
- No es específica, ya que también se encuentra en placenta, intestino, hígado, riñón, leucocitos y próstata.
- Su concentración es mas alta en niños.
- Pico en adolescencia, y ligero incremento con los años.
- Se ve aumentada en: **PAGET, OSTEOMALACIA, HIPERPARATIROIDISMO PRIMARIO Y OSTEODISTROFIA RENAL.**

2- OSTEOCALCINA SERICA (VR: 11 - 48 ng/ml)

- Proteína no colágena mas importante de la matriz ósea. Representa el 2% de proteínas totales de hueso
- Sintetizada por los osteoblastos durante la formación de los huesos
- Su función es fijar el calcio.
- Concentración elevada en la infancia - Pico en la pubertad.
- **SE CORRELACIONA CON VEL. DE CRECIMIENTO OSEO Y ES UTIL PARA CONTROLAR LA EFICACIA DE TRATAMIENTOS CON INHIBIDORES DE LA RESORCION.**

LIMITACIONES DEL USO DE LA OSTEOCALCINA

- Tiene **ritmo circadiano** (pico 4 am), declinando en la mañana.
- Variaciones con: el ciclo menstrual
- Aumentos en la fase lútea, y durante el embarazo, retornando a valores normales antes del parto.
- Como ocurre con la PTH es **INESTABLE**, por lo que se debe procesar de manera rápida y conservar en frío.

DOSAJE DE LA OSTEOCALCINA

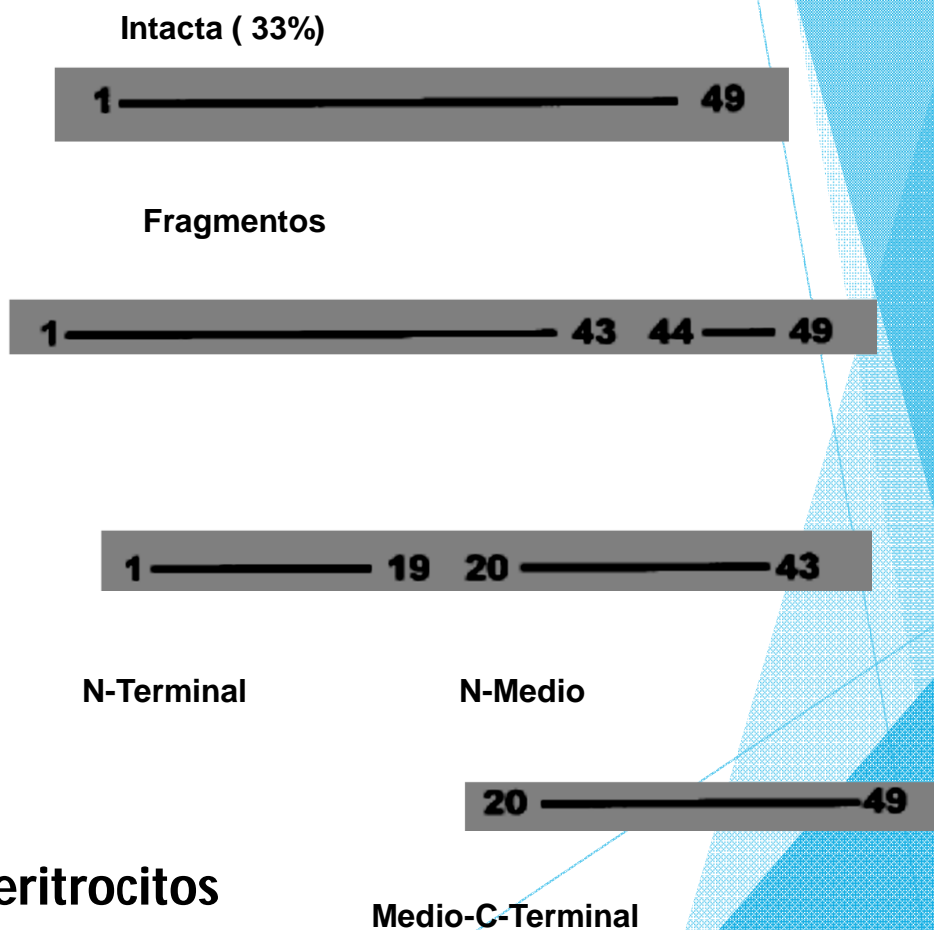
Las técnicas emplean dos anticuerpos monoclonales capaces de reconocer la molécula N-MID, y la molécula intacta y se obtienen así resultados más sensibles y robustos.

Elevada cuando existe aumento en el **remodelado óseo** y **disminuye** en el **tratamiento con corticoides**.

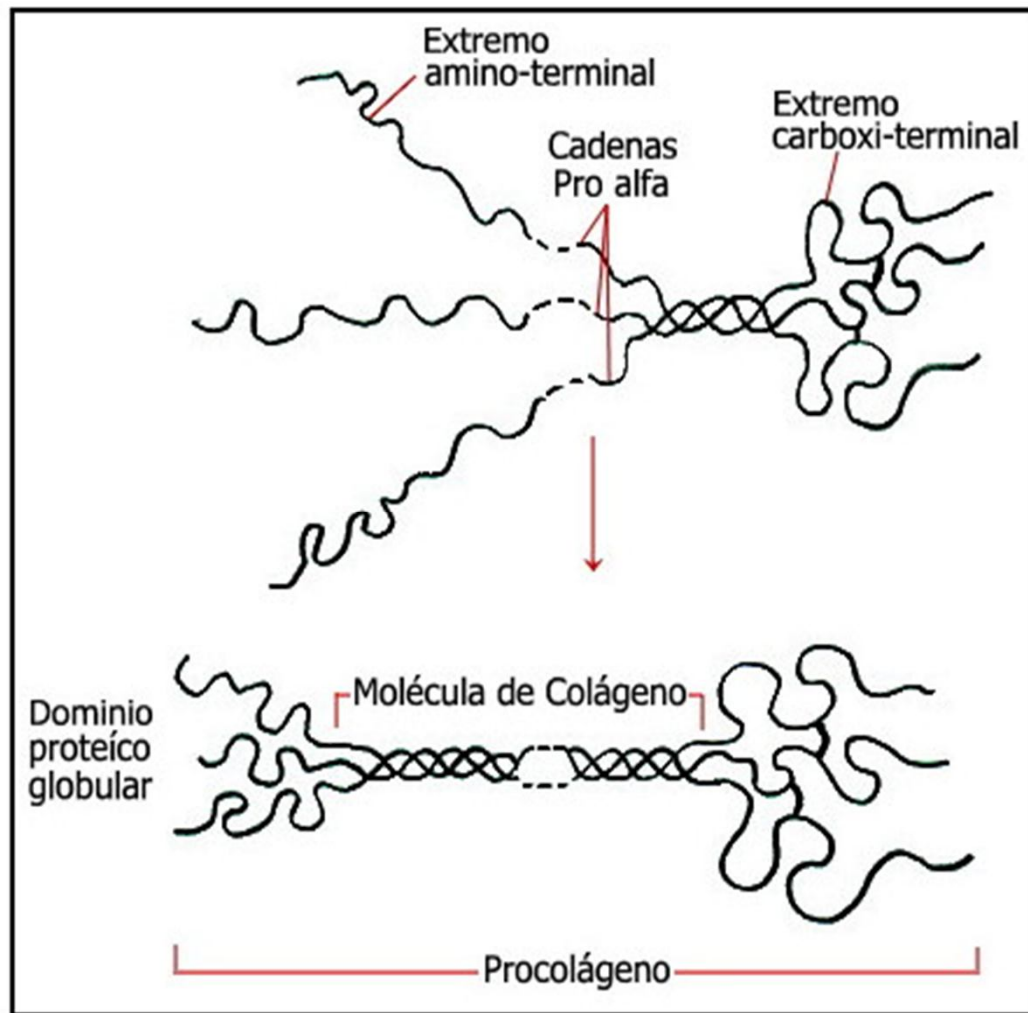
Ensayos de osteocalcina sérica se ven limitados por la presencia de éstas distintas formas circulantes. La osteocalcina intacta es inestable mientras que su fragmento resultante N- MID es mucho mas estable.

Muestras: Suero

No deben estar hemolizadas, ya que los eritrocitos contienen proteasas que degradan la osteocalcina



3- PICP (PROPEPTIDO CARBOXITERMINAL DEL PROCOLAGENO TIPO I) Y PINP (PROPEPTIDO AMINOTERMINAL DEL PROCOLAGENO TIPO I)



- 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 un buen marcador de la formación ósea.

PICP Y PINP

AUMENTAN: -**Menopausia**. (Salvo en tratadas, ya que la terapia de reemplazo hormonal produce una disminución de los mismos paralela a la de la osteocalcina y FAL)

- Durante el **crecimiento** y en estados de insuficiencia hepática (falla el catabolismo)

DISMINUIDO: Niños con déficit de GH.

Marcador útil para evaluar enfermedades óseas excesivamente activas.

PINP Y PICP

PINP	PICP
Mas SENSIBLE en respuesta a agentes que alteren el recambio oseo.	Menos SENSIBLE en respuesta a agentes que alteren el recambio oseo.
Detecta cambio en enfermedades de Paget	No detecta cambios en enfermedades de Paget
Disminuye mas su concentración en terapias de reemplazo (Hormonas administradas en menopausia por ej)	Disminuye menos en terapias de reemplazo
VR: M (19-84) Ug/L H (20-76) Ug/L	VR : M (50-170) ug/L H (38-202) ug/L

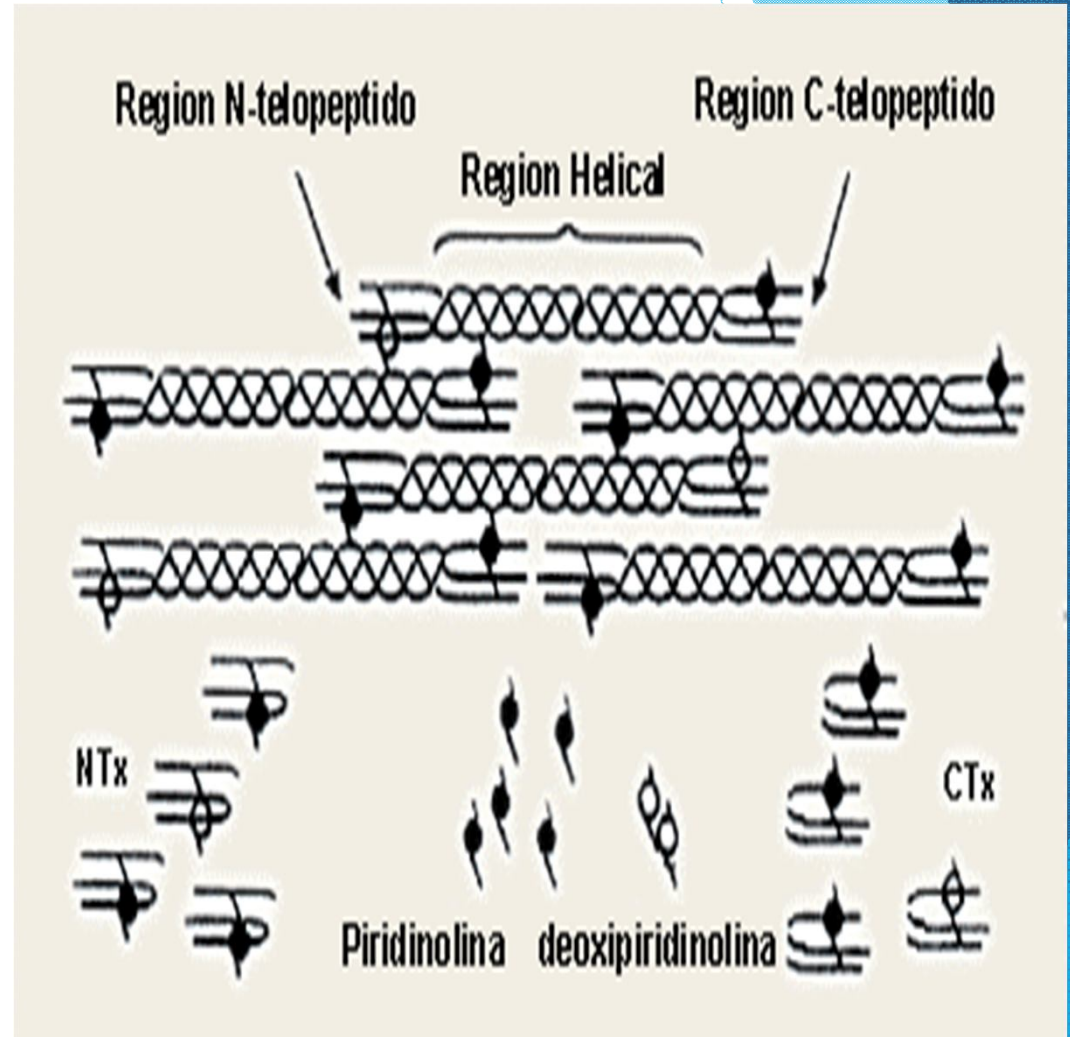
MARCADORES DE RESORCION OSEA.

Productos de Degradación Colágeno:

- Hidroxiprolina
- PYD y DPD
- NTx
- Ctx

Enzimas:

TRAC (Fosfatasa Acida tartrato resistente)
-MARCADOR EN DESUSO-



1-HIDROXIPROLINA

- ▶ Es el aminoácido más abundante de las fibras de colágeno
- ▶ Su excreción urinaria (10%total) es un índice de la actividad de formación y reabsorción principalmente ósea.
- ▶ 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)
- ▶ Útil en enfermedad de Paget
- ▶ Métodos disponibles colorimétricos y por HPLC.
- ▶ Poco utilizada por aparición de métodos mejores.

HIDROXIPROLINA URINARIA (Orina 24 Horas: 15 - 62 mg/24 Hs.)

2- “Crosslinks” (piridinolina -Pyr -y deoxipiridinolina - Dpyr-)

- ▶ Los crosslinks son puentes formados entre las fibras de colágeno maduras, los cuales estabilizan la molécula.
- ▶ Se las denomina en forma genérica piridinolinas.
- ▶ Aumentan en la sangre cuando el colágeno es degradado por los osteoclastos, y sin metabolizar se excretan por orina.
- ▶ Son indicadores de la destrucción del **colágeno óseo MADURO**
- ▶ La dpyr es más específica de tejido óseo que la pyr. (D-pyr casi exclusiva de hueso)
- ▶ 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 HPLC o inmunológicos.

MUESTRA DE ORINA OCASIONAL con tres horas de retención preferentemente la primera/segunda de la mañana (Tener en cuenta que la excreción es mayor por la mañana)

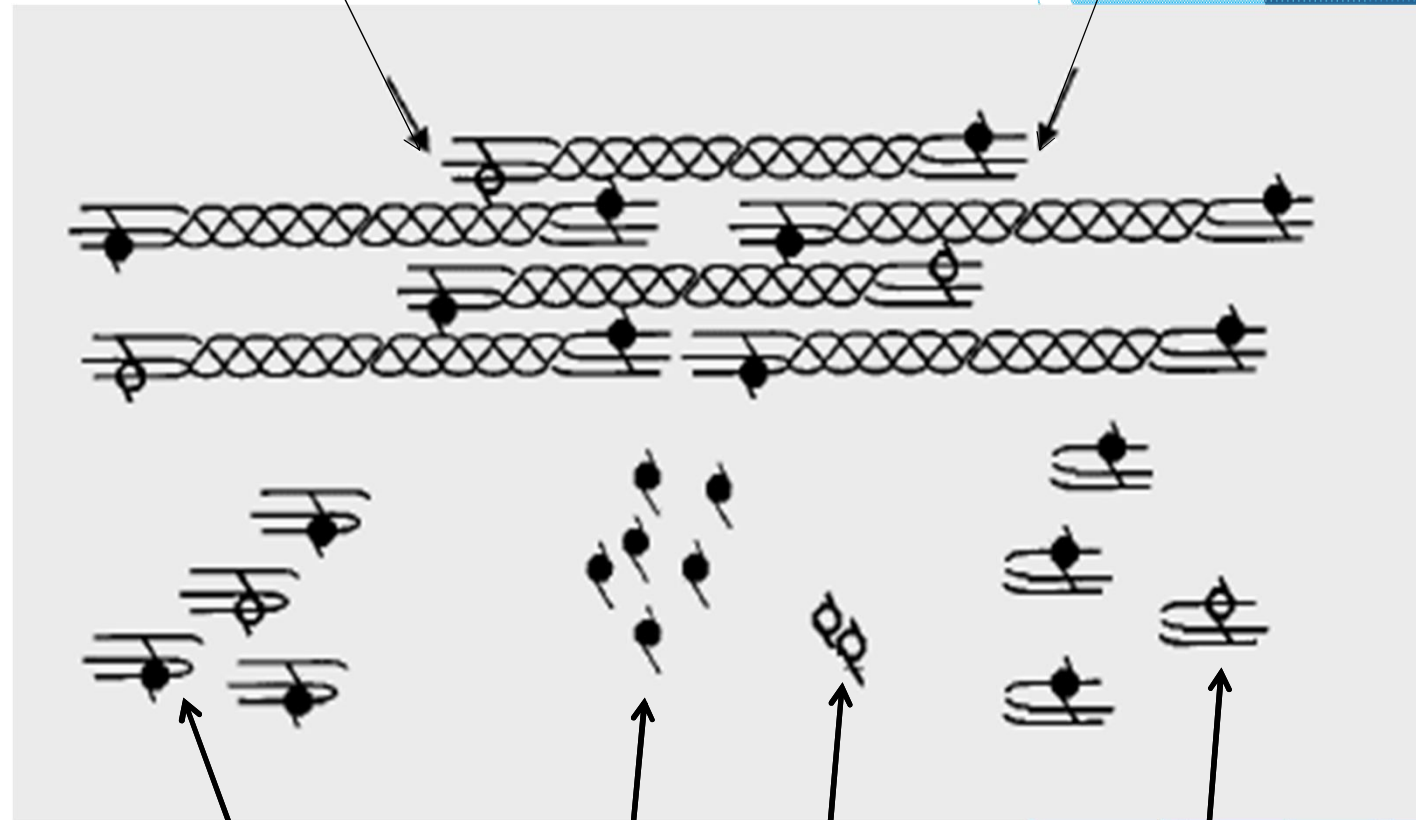
Pyr y Dpyr

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

- ▶ Están ausentes en la mayoría de los tejidos.

- ▶ Las Pyr se encuentran en el cartilago articular y algunos tejidos blandos que contienen colágeno tipo I y II.

Región N-Telopéptido Región Helicoidal Región C-Telopéptido



NTX

PYD

DPD

CTX

Variaciones de Pyr Y Dpyr

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

Variabilidad Biológica

- Ciclo menstrual , actividad física, dieta, variaciones estacionales, medicamentos.
- Fracturas, hiperparatiroidismo, algunos tipos de cánceres.

Pre analítica

- Susceptibilidad al deterioro por acción de la luz.
- Almacenar muestras en heladera (2-6° C) si van a ser analizadas en el día, o congelarlas a -20° C si se analizarán luego de 24 horas.
- Orina de 24 horas debe estabilizarse con un ácido débil (ácido bórico).
- Presenta un pico de excreción alrededor de las 5 a 8 horas

3-TELOPEPTIDOS

MARCADORES MAS SENSIBLES Y ESPECIFICOS DE RESORCION OSEA.

N- TELOPEPTIDOS (NTX)

- Son liberados a la circulación cuando el colágeno tipo I es degradado por los osteoclastos durante el proceso de resorción.
- La gran mayoría de estos fragmentos son relativamente pequeños, atraviesan el glomérulo y pasan a la orina.
- Los NTX, que incluyen uniones de entrecruzamiento, son específicos de la ruptura del tejido óseo.

C-TELOPEPTIDOS (CTX)

- ▶ Los fragmentos de C-telopéptidos (CTX), son liberados a la circulación por la degradación del colágeno tipo I, mediado por los osteoclastos.
- ▶ Ritmo: máxima concentración de CTX durante la noche, descenso marcado hasta las 11:00 horas,
- ▶ El valor sérico del CTX es predictivo del riesgo de fractura.
- ▶ Es llamado **también Beta Cross Laps** y la determinación es en suero, se usan métodos como la electroquimioluminiscencia.

BETA CROSS LAPS

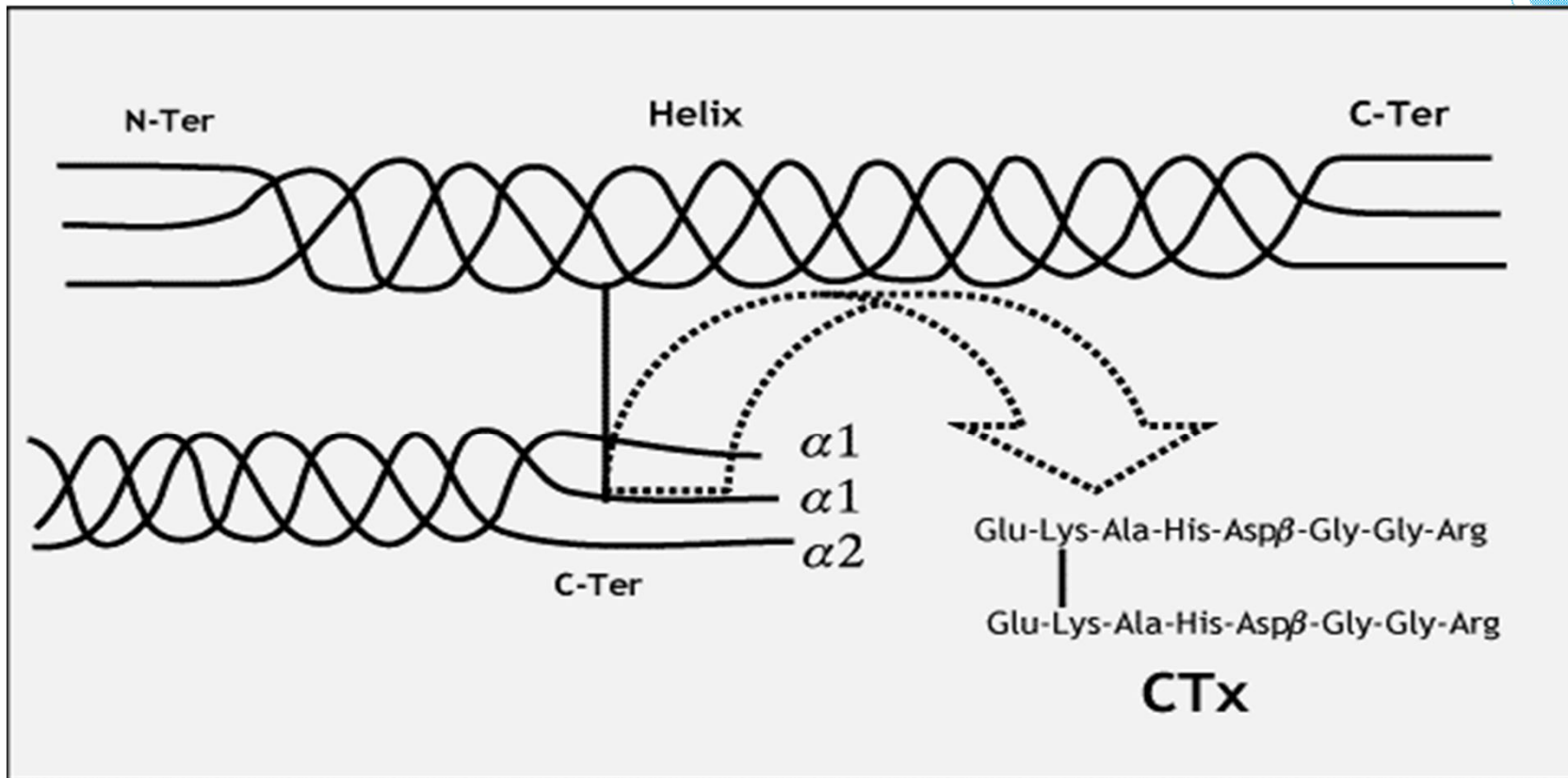


Figura 1 – Representação esquemática da origem dos fragmentos carboxiterminais do colágeno tipo I. A digestão do colágeno maduro libera peptídeos únicos originados pela associação entre as diferentes fibrilas

Hombres:


- 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

Mujeres:

- Premenopausicas: 0.14 a 0.57 ng/ml
- Postmenopausicas: 0.22 a 1.0 ng/ml

Pyr, Dpyr y Telopéptidos

-UTILIDAD CLINICA-

- Identificar pérdida ósea aumentada
- Monitorear terapia antirresortiva  cambios > 30 % demuestran respuesta al tratamiento
- Cambios < 30 % a los 3 meses de tratamiento sugieren cambio de terapia

Determinaciones útiles adicionales

- ❖ Hemograma
- ❖ Eritrosedimentación
- ❖ Estrógenos
- ❖ Testosterona
- ❖ FSH
- ❖ LH
- ❖ Hormonas tiroideas
- ❖ Electroforesis de proteínas



GRACIAS!

mvmelia@cibic.com.ar