



Utilidad clínica de los marcadores de formación y resorción ósea*

ZENI, S.¹, WITTICH, A.²
 DI GREGORIO, S.²
 CASCO, C.³, OVIEDO, A.³
 SOMOZA, J.⁴, GOMEZ ACOTTO, C.²
 BAGUR, A.⁵, GONZALEZ, D.²
 PORTELA, M.L.⁶, MAUTALEN, C.⁵

1. Doctor en Ciencias Químicas. Investigador del CONICET.
2. Médicos. Becarios del CONICET.
3. Bioquímicas.
4. Técnica del laboratorio. Técnica del CONICET.
5. Doctor en Medicina.
6. Doctor en Bioquímica.

* Sección Osteopatías Médicas del Hospital de Clínicas, Universidad de Buenos Aires, Argentina. Departamento de Bromatología y Nutrición de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires.

ACTA

BIOQUIMICA

CLINICA

LATINOAMERICANA

Vol. XXXV, N° 1, 3-36, 2001.

Incorporada al Chemical

Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

Resumen

Se evaluó el recambio óseo en distintas situaciones fisiológicas y patológicas que alteran el metabolismo óseo. A tal fin se analizó la utilidad de un marcador bioquímico de formación como la fosfatasa alcalina ósea (FAO) y uno de resorción ósea, como la fracción carboxilo terminal del telopeptido del colágeno tipo I (CTX). En la población adulta normal los hombres y mujeres premenopáusicas no presentaron diferencias significativas. Contrariamente, las mujeres posmenopáusicas tuvieron niveles de FAO y CTX significativamente mayores que estos dos grupos ($p < 0,01$). Entre el segundo y tercer trimestre de embarazo ambos marcadores aumentaron significativamente (FAO: $p < 0,009$ y CTX: $p < 0,0003$). Mientras la FAO no varió en posmenopáusicas ante el tratamiento hormonal de reemplazo (THR), el CTX disminuyó significativamente ($p < 0,001$). Mujeres posmenopáusicas osteopénicas y osteoporóticas presentaron niveles de CTX y FAO significativamente menores luego de THR o tratamiento con bifosfonatos respecto de las no tratadas (FAO: $p < 0,05$ y $0,03$ y CTX: $p < 0,02$ y $0,0001$ respectivamente). Pacientes con insuficiencia renal en hemodiálisis presentaron niveles séricos de FAO y CTX significativamente mayores que los controles sanos por edad y sexo ($p < 0,05$). Pacientes hipertiroides, pagéticos o con patología ósea secundaria a enfermedad celíaca disminuyeron los niveles de FAO y CTX en forma significativa ($p < 0,05$) luego del tratamiento específico. Como se esperaba, el marcador de resorción respondió más rápidamente a cambios en el remodelamiento óseo. Si le sumamos la alta especificidad y sensibilidad del CTX, se sugiere que este marcador sería de utilidad en todas aquellas patologías en que se sospeche alteración o se quiera determinar el grado del remodelamiento óseo.

Palabras clave: metabolismo óseo * marcadores de formación * marcadores de resorción * fosfatasa alcalina ósea * fracción carboxilo terminal del telopeptido del colágeno tipo I.

Summary

Bone alkaline phosphatase (bAL) and carboxyterminal telopeptides of collagen type I (CTX), as biochemical markers of bone formation and bone resorption, in several physiological and pathological conditions that affect bone remodeling were measured. While healthy men and premenopausal women did not have differences between them, postmenopausal women presented bAL and CTX levels significantly higher compared to these two groups ($p < 0.01$). Both biochemical markers increased significantly between the second and third trimester of pregnancy (bAL $p < 0.009$ and CTX $p < 0.0003$). While bAL did not change, CTX decreased significantly in postmenopausal women by hormone-replacement therapy (HRT). Osteopenic and osteoporotic-HRT or bisphosphonate-treated patients presented significantly lower levels than untreated ones (bAL $p < 0.05$ and $p < 0.03$ and CTX $p < 0.02$ and 0.0001 , respectively). Patients with chronic renal failure presented significantly higher predialysis serum bAL and CTX levels than same age and sex controls ($p < 0.05$). Hyperthyroid, Paget's and bone pathology in celiac disease patients decreased the levels of bAL and CTX after the specific treatment ($p < 0.05$). As expected, bone resorption marker was more sensitive and specific to assess bone remodeling. Then, CTX would be useful for the clinical investigation and therapeutic monitoring of patients with metabolic bone diseases.

Key words: bone metabolism * bone formation * bone resorption * bone alkaline phosphatase * carboxyterminal telopeptides of collagen type I.

Introducción

El hueso es un tejido conectivo dinámico que realiza dos funciones importantes en el organismo. Una de ellas es la de proveer la integridad mecánica para la locomoción, y refleja las propiedades del material que lo constituye, su distribución y la interacción entre sus constituyentes. La otra función, de naturaleza metabólica, está asociada a la homeostasis mineral ya que está compuesto aproximadamente en un 70% por minerales. Esta fase actúa como una reserva de iones cuya importancia puede apreciarse por el hecho de que el 99% del calcio (Ca) y el 85% del fósforo (P) corporal así como un 90% y 50% respectivamente del sodio y magnesio están asociados al cristal óseo de hidroxipatita. Ambas funciones se encuentran interrelacionadas ya que sus propiedades mecánicas derivan de la forma en que la matriz orgánica, de naturaleza flexible, se combina con los cristales de hidroxipatita. De esta interacción se obtiene un material que presenta dos clases de estructura: una, la esponjosa, como el hueso trabecular que constituye un 20% de la masa ósea total, y la otra, en forma de osteones o sistemas haversianos, como el hueso cortical que representa un 80% del esqueleto (1).

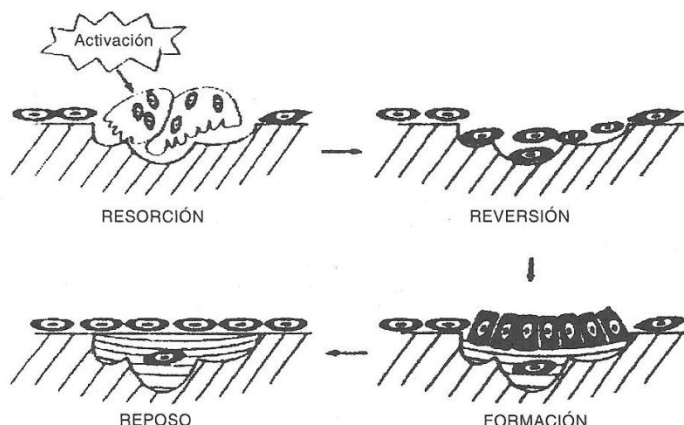
El hueso se encuentra en un proceso di-

námico continuo de remodelamiento, por lo cual el hueso viejo es reemplazado por hueso nuevo. En el adulto normal este proceso oscila entre un 2 y 10% anual y la contribución al mismo depende del tipo de hueso. Así, si bien el hueso cortical aporta el mayor porcentaje a la masa ósea total, sólo contribuye en un 20% al remodelamiento óseo. Contrariamente, el hueso trabecular se encuentra en menor porcentaje, pero debido a que su relación superficie/volumen es mayor, contribuye con un 80% al proceso de remodelamiento total.

El proceso celular del remodelamiento comienza en pequeños paquetes celulares o "unidades de remodelamiento óseo" (URO) y está bajo control de factores locales y hormonales. Cuando el proceso finaliza, la entidad morfológica formada se denomina unidad ósea estructural. El esqueleto contiene millones de UROs en distintos estadios. El tiempo requerido para la resorción y una completa reconstitución de unidad ósea estructural oscila entre 3 y 5 meses. En condiciones normales, en el adulto, el balance óseo es cero porque la cantidad formada equivale a la cantidad de hueso degradado.

La figura 1 esquematiza el remodelamiento completo que, con pequeñas diferencias, es similar en hueso cortical y trabecular.

Fig. 1.



La primera etapa del proceso llamada *activación* comienza con la atracción de los osteoclastos a la superficie ósea en reposo, posiblemente por un estímulo mecánico. En un segundo periodo, durante la fase de *resorción* propiamente dicha, los osteoclastos erosionan al hueso llegando durante 4 a 12 días a una profundidad de 40-60 μ . A partir de dicho momento, las células multinucleares desaparecen y son reemplazadas por células mononucleares que durante los siguientes 7-10 días sintetizan una sustancia orgánica rica en proteoglicanos, glicoproteínas y fosfatasa ácida, pero pobre en colágeno. Esta tercera fase se denomina *reversión* y comprende el lapso entre el cese de la resorción y la formación ósea. Una vez finalizada esta fase, el proceso de acoplamiento atrae a los osteoblastos hacia la superficie erosionada donde más adelante sintetizan la matriz osteoidea (etapa de *formación*). La cantidad de nuevo hueso formado depende del número y actividad de los osteoblastos presentes, es un proceso más lento que la destrucción y corresponde a 1 μ por día de hueso compacto y menos aún de hueso trabecular. Estos osteoblastos forman una capa de células dentro de la cavidad de resorción sintetizando colágeno tipo I y otras proteínas no colágenas de la matriz. Unos días más tarde comienza el proceso de *calcificación*, pero durante los días en que demora

en iniciarse la mineralización ocurre la maduración del osteoide, así como la incorporación de otras proteínas óseas. Cuando la síntesis de la matriz finaliza, los osteoblastos cambian su morfología y, al final de la mineralización, los osteoblastos en reposo se vuelven aplanados completando así la secuencia de remodelamiento (2).

Durante el remodelamiento podrían ocurrir alteraciones que disminuyan la calidad del hueso, lo tornen frágil y en consecuencia aumente el riesgo de fracturas. Una de ellas es que la resultante del proceso de formación y resorción no sea nula, como cuando una URO no fue completamente rellena con hueso nuevo o cuando las unidades de resorción aumenten considerablemente en número. Esto ocurre, por ejemplo, en la menopausia o luego de un periodo de inmovilización prolongado. Pero también podrían producirse alteraciones a nivel del acoplamiento. En un sujeto normal la formación y la resorción están acopladas; la disociación de estos dos procesos produce el desacoplamiento que puede dar lugar a la creación de cavidades de resorción sin el consiguiente relleno de las mismas, como ocurre en la neoplasia, o por el contrario, la deposición de hueso en sitios donde no ha ocurrido una resorción previa como es el caso de enfermedad ósea prostática o el caso de osteoporosis después del tratamiento con flúor (3).

Los procesos de formación y destrucción de hueso pueden evaluarse indirectamente a través de marcadores bioquímicos. La figura 2 representa el mecanismo de formación y destrucción de la matriz ósea que da lugar a los marcadores óseos actualmente conocidos.

Los marcadores bioquímicos tienen distinta especificidad y sensibilidad y alguno de ellos se encuentra aún en etapas de investigación. Su utilidad clínica radica en poder determinar la velocidad de recambio del hueso (3).

La velocidad de formación y degradación de la matriz ósea se puede medir mediante la determinación de la actividad enzimática propia de las células óseas. En el proceso de formación, la fosfatasa alcalina total (FAL) y su isoenzima ósea (FAO) son las adecuadas, mientras que el proceso de resorción se evalúa por medio de la fosfatasa ácida tartrato-resistente (TRAP).

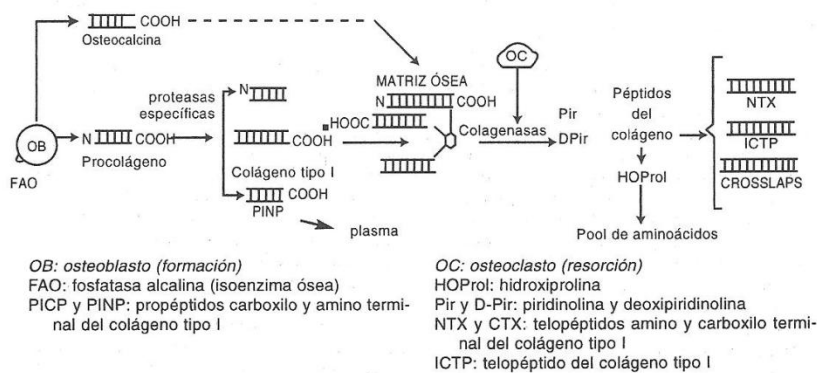
La FAL es una glicoproteína tetrámera que pertenece a una gran familia de proteínas unidas a las membranas celulares por un grupo glicano-fosfatidil-inositol carboxilo terminal. Su vida media en suero es relativamente larga, de 1-2 días, lo que contribuye a que su variación diurna sea mínima. En suero circula como un dímero con dos sitios activos simétricos y está compuesta predominantemente por dos isoen-

zimas, una de naturaleza hepática (60%) y otra de naturaleza ósea (40%). Estas isoenzimas son idénticas en su composición aminoácida, pero presentan distinta movilidad electroforética, reactividad ante la lectina de germen de trigo, susceptibilidad al calor e inhibición química. Estas diferencias se relacionan con modificaciones postraslacionales. La FAO, que juega un rol importante en el proceso de mineralización ósea, es sintetizada por los osteoblastos maduros y sus precursores. La medición de su actividad en suero es una medida indirecta del proceso de formación, y además cuenta con todos los beneficios de las determinaciones séricas, como la pequeña variabilidad entre sujetos así como la baja variabilidad metodológica y biológica (4).

La TRAP es una isoenzima sintetizada por los osteoclastos que participan en el proceso de degradación de la matriz ósea. Su actividad en suero aumenta en las condiciones clínicas en que el remodelamiento óseo se encuentra aumentado. Si bien su biología molecular es bien conocida, su función aún permanece oscura. Estudios recientes determinan que su presencia no es obligatoria para que ocurra el proceso de resorción, aunque es indispensable para una función óptima de los osteoclastos (3).

La medición de los componentes de la matriz ósea, liberados a la circulación duran-

Fig. 2.



Mecanismo de formación y destrucción de la matriz ósea.

te el proceso de remodelamiento, también evalúa la velocidad del recambio óseo. La osteocalcina, también llamada BGP, es un pequeño péptido de 49 aminoácidos, tres de los cuales corresponden a residuos de ácido ϵ -carboxiglutámico y constituye aproximadamente un 25% de las proteínas de naturaleza no colágena. La BGP tiene gran afinidad por los cristales de hidroxiapatita, principal componente mineral del hueso y se incorpora rápidamente a la matriz ósea. La porción que no se incorpora, difunde al suero, donde puede evaluarse como un marcador de formación ósea (5). El 90% de las proteínas que constituyen la matriz orgánica del hueso corresponden a colágeno tipo I. Tanto el colágeno tipo I como el II y III se sintetizan como moléculas de procólágeno, las que antes o luego de la formación de sus fibrillas liberan al medio fragmentos propeptídicos. En el caso del colágeno tipo I las fracciones carboxilo (PICP) o amino terminal (PINP) aparecen en suero, y como el hueso es el órgano de mayor remodelamiento del colágeno tipo I, sus propéptidos reflejarían la actividad total de formación de hueso (figs. 2 y 3). Estudios clínicos actuales aseveran dicho concepto y demuestran que si bien la fracción aminoterminal no tiene utilidad clínica, el PICP refleja el proceso de formación aunque presenta poca especificidad relativa y falta de respuesta en condiciones de baja modificación del recambio óseo (6).

La resorción ósea se valora con mayor precisión mediante la determinación de productos de la degradación del colágeno tipo I. La composición de las cadenas del colágeno óseo tipo I [$\alpha 1(I)_2\alpha 2(I)$] es idéntica a la que se encuentra en todos los otros tejidos corporales. El 10% de los aminoácidos de las cadenas α es hidroxiprolina, de la que, cuando el hueso se degrada, una parte pasa a circulación y se elimina por orina. Sin embargo, como la hidroxiprolina puede provenir del colágeno no óseo y, además, parte de este aminoácido se metaboliza y reutiliza para la síntesis de otras proteínas, no es el marcador ideal para la determinación de la degradación del tejido óseo (7).

Los componentes que provienen de los puentes de entrecruzamiento que presentan la triple hélice de las moléculas de colágeno, llamados *cross-links*, son mejores indicadores de la resorción ósea. Estos productos se generan por la interacción entre dos moléculas de colágeno y ocurre cuando grupos aldehídos formados en la cadena lateral a partir de residuos de hidroxilisina o lisina, presentes en el telopéptido de una molécula de colágeno, se unen con otros grupos de residuos de hidroxilisina y lisina localizados en una molécula de colágeno vecina (fig. 4).

Posteriormente, dentro de la fibrilla ocurre una reacción catalítica espontánea que da lugar a una entidad química llamada pi-

Fig. 3.

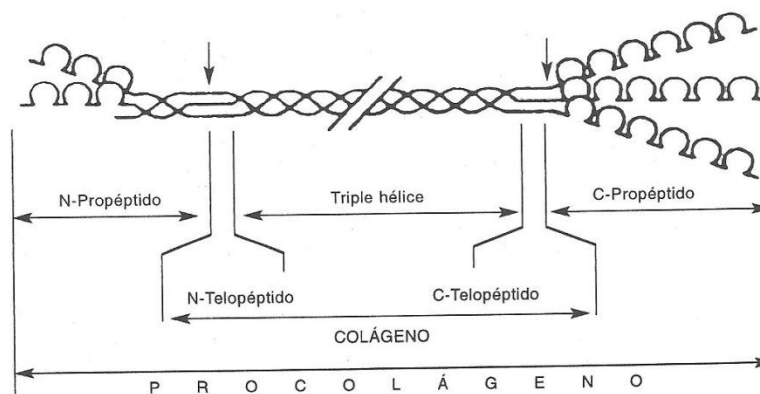
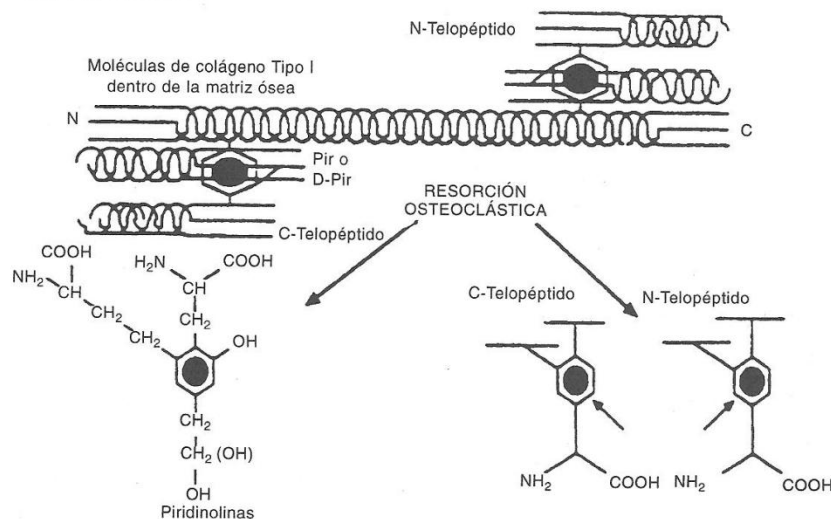


Fig. 4.



ridinolina. Se conocen dos formas de piridinolinas: si el residuo que interactúa dentro de la molécula de colágeno es la hidroxilisina, el cross-link maduro se denomina piridinolina (Pir), mientras que si el residuo es la lisina se denomina deoxipiridinolina (D-Pir) (fig. 4) (5)(7).

Las piridinolinas aparentemente no sufren ninguna metabolización posterior y se excretan cuantitativamente por orina. Estos cross-links no son exclusivos del hueso pero, como el tejido óseo es el mayor reservorio de colágeno tipo I del cuerpo y se remodela más rápidamente que el resto de los tejidos conectivos, se considera que la mayoría de las piridinolinas presentes en la orina de un adulto serán las que provengan de la resorción ósea. Se llega a esta conclusión por la similitud de la relación Pir/D-Pir en el hueso (expresada en moles/mol de colágeno) (3.5:1) y en la orina (rango 2:1-7:1), comparándola con la de los otros tejidos conectivos no óseos en los que D-Pir está presente en muy pequeñas concentraciones respecto de la Pir. Un ejemplo de ello es el cartilago, en el cual la concentración de Pir es sumamente alta mientras que la D-Pir se encuentra presente sólo a un nivel de trazas. Ambas se encuentran presentes en aor-

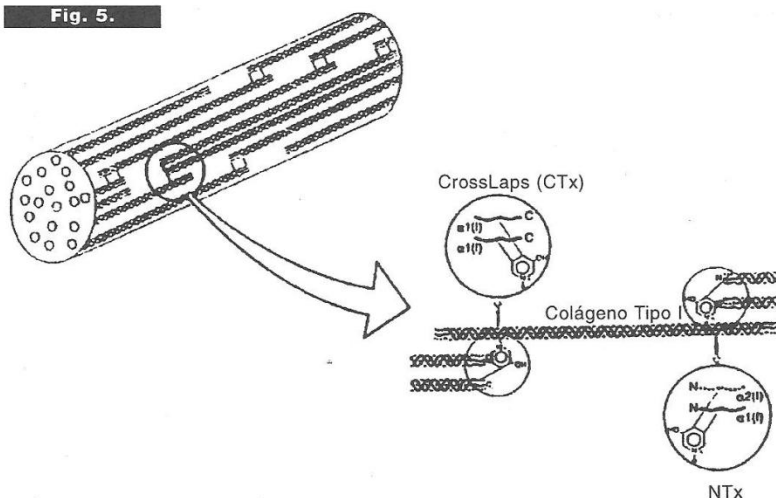
ta y tendones, pero ausentes en la piel que es una fuente abundante de colágeno tipo I. Si bien se considera a ambas determinaciones urinarias como buenos indicadores del proceso de resorción ósea, la relativa abundancia de D-Pir en el colágeno óseo hace que sea más específica su determinación urinaria como marcador de la degradación del hueso (8)(9).

Cuando se produce la destrucción del colágeno maduro por collagenasas específicas de hueso, se liberan a circulación pequeños péptidos amino y carboxilo terminales, dando lugar a fragmentos de degradación del telopéptido del colágeno tipo I llamados NTX y Crosslaps o CTX, respectivamente (fig. 4 y 5).

Estos fragmentos peptídicos que poseen piridinolinas en su composición y que se originan de los dos extremos del colágeno aparecen en cantidades significativas, tanto en sangre como en orina. En los últimos años, a estos fragmentos se los ha considerado como uno de los marcadores de resorción más sensibles y específicos (9).

El CTX consiste en una secuencia peptídica de 26 residuos de aminoácidos. Generalmente los ensayos para su determinación están dirigidos para una secuencia de 8 re-

Fig. 5.



siduos de aminoácidos incluidos dentro de la cadena $\alpha 1$ del C-telopéptido: Glu-Lis-Ala-His-Asp-Gli-Gli-Arg. En dicha secuencia, tanto la Lis no modificada como la hidroxilada están frecuentemente involucradas en el entrecruzamiento de las fibras de colágeno, lo cual hace que existan diferencias significativas en la especificidad de los ensayos. Las moléculas de colágeno nuevas, dentro de la matriz extracelular, se disponen formando fibrillas unidas por enlaces covalentes inter e intramoleculares entre las cadenas $\alpha 1$. La formación del CTX comienza por la acción de la enzima lisil-oxidasa que transforma la cadena ϵ -amino de la lisina e hidroxilisina en aldehídos. Estos aldehídos se condensan y reacomodan en varios pasos metabólicos con otros grupos ϵ -amino de lisina e hidroxilisina y/o otros aldehídos, dando una variedad de grupos de entrecruzamiento en los cuales, además, se encuentran incluidas moléculas de Pir y D-Pir (figs. 4 y 5) (10).

En el telopéptido CTX, la secuencia Asp-Gli es un sitio potencial para una isomerización β . Este proceso altera la estructura espacial del octapéptido, y como dicha reacción ocurre espontáneamente en el tiempo, está generalmente aceptado que dicha isomerización se asocia a la edad de las proteínas y de los péptidos. La β isomerización

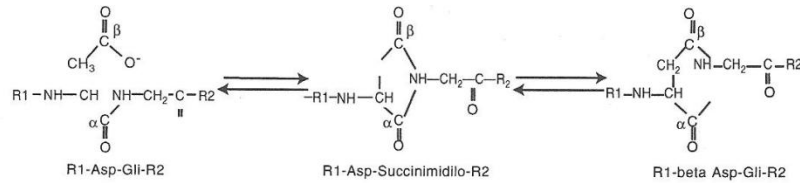
se produce *in vivo*, aumenta con la edad del hueso y estudios recientes demuestran que dicho proceso alcanzaría un equilibrio a los 3 años de la mineralización del mismo. Esta reacción hace que el CTX puede encontrarse en dos formas isoméricas distintas, la α o la β . Durante la resorción ósea, ambas formas de CTX se liberan a circulación y se eliminan por orina, donde pueden ser determinadas por inmunoensayos específicos (fig. 6).

Cuando el hueso se degrada por acción de los osteoclastos, se liberan a circulación y aparecen en orina distintos productos de degradación del C-telopéptido, entre los que se encuentra el CTX, con la secuencia específica de sus 8 residuos de aminoácidos y sus entrecruzamientos inter e intramoleculares específicos. El ensayo bioquímico es factible ya que una vez secretados no son reutilizados por el organismo.

Debe tenerse en cuenta que la isomerización a la forma β transforma al grupo aspartilo en un grupo isoaspartilo cuya presencia en el péptido lo protege de su degradación completa (fig. 6). Sin embargo, no todos los C-telopéptidos se isomerizan, ya que existen dos ensayos que sólo evalúan al isómero α .

A modo de ejemplo, en la enfermedad de Paget, que se caracteriza por un remodela-

Fig. 6.



miento aumentado en áreas localizadas del hueso, la concentración de CTX α se encuentra aumentada comparada con la correspondiente a la estructura β y, en consecuencia, su relación urinaria es 3 veces mayor que en los controles sanos. En contraste, en otras enfermedades óseas también caracterizadas por un remodelamiento óseo aumentado, como el hiperparatiroidismo primario, la relación CTX α /CTX β permanece normal. Este resultado sugiere que el colágeno recientemente sintetizado se caracteriza por una escasa isomerización, abriendo así nuevas perspectivas para el uso clínico de estos marcadores óseos, ya que no sólo determinarían cambios cuantitativos del remodelamiento, sino también evaluarían la calidad del hueso formado (9).

En la tabla I se muestran los diferentes ensayos bioquímicos actualmente disponibles que miden los productos de degradación de la fracción carboxilo terminal del telopéptido del colágeno tipo I.

Como lo demuestra la tabla 1, todos los ensayos disponibles requieren que el últi-

mo aminoácido sea la Arg, y la presencia de un número mínimo de aminoácidos para su determinación.

Este trabajo analizó desde un punto de vista unificado y coherente la utilidad de los marcadores de formación (FAO) y de resorción (CTX sérico y urinario), incluyendo resultados de numerosos trabajos en los que el tema central fue el análisis de la enfermedad ósea a través de las observaciones clínicas, densitométricas, radiológicas y bioquímicas.

En base a lo expuesto, el objetivo general fue evaluar el recambio óseo en distintas situaciones fisiológicas y patológicas que alterasen el metabolismo fosfocálcico. A tal fin se utilizó como marcador de formación a la isoenzima ósea de la fosfatasa alcalina (FAO) y como marcador de resorción a la fracción carboxilo terminal del telopéptido del colágeno tipo I (β -CTX).

Teniendo en cuenta que, en general, las osteopatías se caracterizan por una resorción ósea elevada, el presente estudio estuvo dirigido a demostrar la alta sensibilidad

TABLA I.

Metodología del ensayo	Muestra en que se determina	Estructura aminoacídica mínima requerida para el ensayo
CTX por ELISA	Orina	***Ala-His-Asp-Gli-Gli-Arg
α -CTX por RIA	Orina	***Ala-His-Asp-Gli-Gli-Arg
β -CTX por ELISA	Orina	***Ala-His-Asp- β -Gli-Gli-Arg
β -CTX-ELISA	Suero	***Ala-His-Asp- β -Gli-Gli-Arg
β -CTX-ELISA	Suero	***Glu-Lis-Ala-His-Asp- β -Gli-Gli-Arg
β -CTX-ELISA (en un solo paso)	Suero	***Glu-Lis-Ala-His-Asp- β -Gli-Gli-Arg

y especificidad del CTX, no sólo para evaluar la pérdida aumentada de hueso sino también para controlar la terapia instituida para evitar dicha pérdida.

Por tal motivo el presente estudio estuvo centrado en:

A. Determinar los valores normales de dichos marcadores en distintos grupos poblacionales:

1. hombres adultos normales;
2. mujeres premenopáusicas normales;
3. mujeres posmenopáusicas normales.

B. Determinar los cambios de dichos marcadores en una situación fisiológica, como el embarazo, en que debido a las necesidades del desarrollo fetal, fundamentalmente en el segundo y tercer trimestre, el remodelamiento óseo se encuentra aumentado.

C. Determinar la utilidad de tales marcadores bioquímicos en el diagnóstico o valoración de distintas patologías óseas en que el remodelamiento esté o no acoplado, como: osteoporosis, hipertiroidismo, enfermedad de Paget, osteodistrofia renal, enfermedad celíaca y osteomalacia.

D. Determinar la utilidad de estos marcadores bioquímicos en la valoración de la eficacia de los tratamientos específicos para dichas patologías.

Materiales y métodos

POBLACIÓN ESTUDIADA

1. Población adulta normal

Se estudiaron 39 mujeres premenopáusicas (edad promedio de $35,5 \pm 7,5$ años) que tenían ciclos menstruales regulares y no estaban recibiendo anticonceptivos orales. Se estudiaron 42 mujeres posmenopáusicas (edad promedio de 55 ± 7 años) y se excluyeron aquellas que estaban bajo terapia de reemplazo hormonal (THR) o aquellas cuyos ciclos habían cesado antes de los 45 años. Finalmente se estudiaron 14 hombres sanos normales (edad 41 ± 15 años). En los tres grupos, los sujetos referían estar en buen estado de salud y no recibir tratamientos que alteren el metabolismo óseo. Se les brindó la información necesaria y se les solicitó un consentimiento oral para participar en el estudio.

A los tres grupos estudiados se les extrajo sangre en ayunas y se recolectó orina ba-

sal sin dieta previa. En suero se analizaron FAO y CTX en un solo paso y en orina se evaluó la excreción urinaria de CTX y creatinina.

2. Mujeres adultas embarazadas

Entre julio de 1997 y septiembre de 1998 se realizó el seguimiento de 21 mujeres sanas con una edad promedio de $25,2 \pm 6,1$ años y una edad gestacional comprendida entre 17 y 32 semanas. Dichas mujeres provenían de la Sección Obstetricia donde concurrían para la evaluación clínica de rutina. Se excluyeron las que presentaban alguna anomalía que alterase el metabolismo óseo. La ingesta de alimentos se evaluó mediante un recordatorio de 24 h al tiempo inicial del estudio y el consumo diario de calcio se calculó por medio de tablas de composición alimentaria.

Al control clínico periódico, correspondiente al segundo y tercer trimestre de embarazo, se les extrajo sangre en ayunas donde se analizaron los niveles séricos de FAO y CTX.

3. Mujeres posmenopáusicas que recibieron terapia de reemplazo hormonal

Se estudiaron 32 mujeres posmenopáusicas sanas con una edad promedio de 48 ± 6 años, con menos de 6 años de posmenopausia (rango 1-6), de las cuales cuatro tenían una ooforectomía quirúrgica. Ninguna de ellas recibía THR o alguna medicación que influyera sobre el metabolismo óseo. Las pacientes provenían de la consulta de la Sección Climaterio, donde concurren con el fin de realizar tratamiento preventivo para su menopausia. Luego de ser informadas sobre los estudios y el tratamiento a realizar, se obtuvo el consentimiento oral para ser incluidas en el estudio.

Las pacientes fueron sometidas a los estudios ginecológicos habituales (mamografía y PAP) e ingresaron al estudio. Se les extrajo sangre en ayunas y se recolectó orina de 24 h luego de una dieta libre de gelatina, con el fin de obtener un valor basal. Posterior a ello, las pacientes recibieron en forma oral 2 mg de 17β -estradiol cada día del mes y 200 mg de progesterona micronizada durante los 12 primeros días del mes. A los 30 días del tratamiento se volvió a recolectar suero y orina. En suero se determi-

naron Ca, P y FAO y en orina se determinó la excreción urinaria de hidroxiprolina (HO-Pr), CTX y creatinina.

4. Pacientes posmenopáusicas osteopénicas y osteoporóticas

Se evaluó un grupo de 96 mujeres posmenopáusicas con diagnóstico de osteopenia y osteoporosis. Dicho diagnóstico fue realizado mediante una densitometría ósea y se consideró como osteopénicas a las pacientes con baja densidad mineral y osteoporóticas a aquellas que además presentaban el antecedente de una fractura con trauma mínimo. Fueron excluidas de la evaluación todas aquellas pacientes que presentaban osteopenia u osteoporosis secundaria a una alteración metabólica conocida, como por ejemplo mieloma, hipertiroidismo, hiperparatiroidismo, etc.

Del total de mujeres, 77 quedaron comprendidas en el estudio, presentando una edad promedio de $61,3 \pm 7,9$ años (rango 46-81 años). A este grupo se las dividió en aquellas que habían o no recibido tratamiento, y considerando el tratamiento, aquellas que recibieron tratamiento hormonal o bifosfonatos. A partir de estas divisiones, los grupos quedaron comprendidos de la siguiente manera: grupo 1: 31 pacientes con una edad promedio de $61,8 \pm 8,5$ años y tiempo de menopausia de $15,6 \pm 11,1$ años que no recibieron tratamiento alguno; grupo 2: 12 pacientes con una edad promedio de $53,3 \pm 4,8$ años y tiempo de menopausia de $6,8 \pm 5,4$ años, que recibieron tratamiento hormonal; grupo 3: 34 pacientes con una edad promedio de $63,8 \pm 6,5$ años y tiempo de menopausia de $17,1 \pm 8,2$ años, que recibieron tratamiento con distintos bifosfonatos. Tanto las pacientes con terapia de reemplazo hormonal como aquellas con bifosfonatos, recibían además 500 mg/día de Ca elemental.

Al control clínico correspondiente al comienzo del estudio, se les extrajo sangre en ayunas y se recolectó orina basal, previa dieta libre de gelatina durante 2 días. En suero se analizó FAO y en orina se determinaron HOPr, CTX y creatinina.

5. Pacientes hipertiroides

Se estudiaron 16 mujeres hipertiroides debido a enfermedad de Graves con una edad promedio de $40,6 \pm 13$ (rango 23-61 años). Del total de mujeres, 9 eran premenopáu-

sicas con ciclos menstruales regulares y 7 posmenopáusicas con un tiempo de evolución de la enfermedad de $7,9 \pm 8,3$ meses (rango 1-36 meses). El diagnóstico de hipertiroidismo fue realizado mediante las determinaciones séricas de triiodotironina (T_3) tiroxina (T_4), tirotrófina (TSH) y una curva de captación de yodo¹³¹ (I^{131}).

En el seguimiento evolutivo con el tratamiento específico para el hipertiroidismo (drogas antitiroideas o dosis terapéutica de I^{131}) se evaluaron sólo 7 pacientes, las que al cumplir 24 meses de seguimiento permanecían eutiroides y tenían todos los controles y determinaciones correspondientes a los 6, 12 y 24 meses.

Al momento de la consulta clínica todas las pacientes recolectaron orina de 24 h y se les extrajo sangre en ayunas. En suero se evaluaron TSH, T_3 , T_4 , Ca, P, osteocalcina (BGP) y FAO, y en orina Ca, creatinina y CTX.

6. Pacientes con insuficiencia renal crónica

Se estudiaron 43 pacientes (25 hombres y 18 mujeres) con una edad promedio de 52 ± 19 años e insuficiencia renal crónica en tratamiento conservador. Las causas de insuficiencia renal eran las siguientes: glomerulonefritis (19 casos), glomeruloesclerosis (6 casos), nefritis intersticial crónica (3 casos), poliquistosis (2 casos), nefropatía isquémica (1 caso), síndrome urémico hemolítico (1 caso), de etiología no determinada (11 casos).

Los pacientes presentaban un rango de clearance de creatinina (ClCr) entre 10 y 75 ml/min. con un promedio de 34 ± 18 ml/min. Los pacientes no presentaban ninguna enfermedad ni estaban recibiendo medicamentos que afectasen el metabolismo óseo.

Los resultados de estos pacientes fueron comparados con un grupo control de similar edad y sexo, que consistió en 26 mujeres premenopáusicas (edad 38 ± 9 años), 20 mujeres posmenopáusicas (edad 62 ± 8 años) y 14 hombres (edad 41 ± 15 años). Los controles pertenecían al personal del hospital o eran familiares o conocidos de éstos y no presentaban enfermedades ni recibían medicamentos que afectasen el metabolismo óseo. Las mujeres premenopáusicas tenían ciclos menstruales regulares y no estaban bajo tratamiento con anticonceptivos. Entre las mujeres posmenopáusicas se exclu-

veron aquellas cuya menopausia hubiera ocurrido antes de los 45 años y a las que recibieron o estaban bajo THR.

Las pacientes y controles recolectaron orina de 24 h. y se les realizó una extracción de sangre en ayunas de 8 h. sin dieta previa. En sangre se determinaron CTX, parathormona intacta (PTHi), FAO, creatinina, P y Ca, y en orina se determinaron CTX y creatinina.

7. Pacientes con patología ósea secundaria a enfermedad celíaca

Se estudiaron 14 pacientes con diagnóstico reciente de enfermedad celíaca (9 mujeres con edad promedio de 41 años, rango 25-73 años, y 5 hombres con una edad promedio de 30 años, rango 21-48 años). El diagnóstico de enfermedad celíaca se basó en las características clínicas habituales (diarrea crónica y malabsorción), biopsia intestinal (atrofia vellositaria severa) y serología positiva (anticuerpos antigliadina y/o antiendomiso positivos). De las 9 pacientes, 3 eran posmenopáusicas y sólo una había tenido fracturas (tobillo, muñeca y vertebral). Siete pacientes recibieron además de la dieta 1.000 mg de Ca elemental y 32.000 UI semanales de vitamina D. Los siete restantes sólo recibieron la dieta libre de gluten.

Al inicio y al año de tratamiento se les extrajo sangre en ayunas y se recolectó orina basal. En sangre se evaluaron Ca, P, parathormona medio-molecular (PTHmm) y BGP, y en orina HOProl, CTX y creatinina.

8. Pacientes con enfermedad de Paget

Se estudiaron 29 pacientes con enfermedad de Paget activa (15 mujeres y 14 hombres con un rango de edad entre 48 y 91 años).

En este grupo, 11 pacientes no habían recibido tratamiento previo, y 18 que habían sido previamente tratados no lo habían recibido durante los últimos 6 meses previos al inicio del estudio.

Como criterio de inclusión se utilizaron los valores de FAO sérica, los que debían estar dos veces por encima del valor superior normal. Al inicio del estudio y luego de 3 meses con un tratamiento específico, dirigido a reducir la resorción ósea, se les extrajo sangre en ayunas y se recolectó orina basal. En sangre se evaluó FAO y en orina la CTX y creatinina.

Métodos

CROSSLAPS (β -CTX)

- **Urinario:** se evaluó por un ensayo de competición proteica basado en la inmovilización de péptidos sintéticos con una secuencia aminoacídica específica por parte del telopéptido C de la cadena α del colágeno tipo I (glu-lis-ala-his-aspgli-arg = péptido CTX) (11). La sensibilidad del ensayo fue de 0,5 ug/ml y los CV intra e interensayo fueron del 10% y 13% respectivamente. Los antígenos medidos son estables por lo menos 7 días a -20°C .
- **Sérico** (en un solo paso): la determinación está basada en la formación de un sándwich molecular, por la utilización de dos anticuerpos monoclonales que son específicos para una determinada secuencia peptídica (12). Los antígenos son estables en suero por 2 días a -25°C y 7 días a -4°C .

FOSFATASA ALCALINA ÓSEA (FAO)

La FAO se determinó por espectrofotometría mediante un kit comercial que evalúa la actividad de FAL, previa precipitación de la isoenzima ósea con lectina de germen de trigo (13). Mediante este ensayo, la reactividad cruzada con la isoenzima fosfatasa alcalina hepática es menor del 5%. La sensibilidad del ensayo fue de 0,7 UI/L y los CV intra e interensayo estuvieron comprendidos entre 4-8% y 6-8% respectivamente.

HIDROXIPROLINA URINARIA (HOProl)

Se evaluó por un método colorimétrico que determina la HOProl total, previa hidrólisis ácida de la muestra con ácido clorhídrico. La metodología comprende una reacción de oxidación con cloramina T, una extracción en tolueno y desarrollo de color con reactivo de Ehrlich (p-dimetilaminobenzaldehído en medio ácido) (14). El valor normal: 14-45 mg/24 h.

OSTEOCALCINA (BGP)

Se evaluó por un método de competición proteica unido a un ensayo ELISA, utilizando un anticuerpo monoclonal para la BGP humana (15). Los CV intra e interensayo fueron menores de 8% y 7% respectivamente. El valor normal: 6-12 ng/ml.

CALCEMIA Y CALCIURIA

Se determinaron por espectrofotometría de absorción atómica a 423 nm, mediante el uso de cloruro de lantano como supresor de interferencias. El valor normal de la calcemia: 8,9-10,4 mg%, y el de la calciuria: 80-300 mg/24 h. en hombres y 80 a 250 mg/24 h. en mujeres.

CREATININEMIA Y CREATININURIA

Se determinaron colorimétricamente según el método de Jaffé, utilizando ácido pícrico como reactivo de color. El valor normal: 0,8-1,4 mg%.

25OH VITAMINA D

Fue realizada mediante un ensayo de unión proteica competitiva, basado en el uso de ligandos marcados radiactivamente (16). Los CV intra e interensayo fueron 10% y 15%, respectivamente. La sensibilidad del ensayo fue de 2,2 ng/ml. Valor normal: 16-74 ng/ml.

1-25 DIHIDROXIVITAMINA D (1-25 (OH)₂ D)

Se utilizó un ensayo de competición proteica (17). Los CV intra e interensayo fueron 10,6% y 15,3% respectivamente. La sensibilidad del ensayo fue de 2 pg/ml. Valor normal: 18-62 pg/ml.

PTH INTACTA (i-PTH)

Se utilizó un ensayo inmunoradiométrico (IRMA) que detecta los 84 aminoácidos de la PTHi (18). Valor normal: 10-65 pg/ml.

PTH MOLÉCULA MEDIA (PTHmm)

Se utilizó un radioinmunoensayo que utiliza el anticuerpo CH9, el cual reconoce los fragmentos medio y carboxilo terminal de la molécula de PTH (19). Valor normal: 20-100 pg/ml.

Análisis estadístico

Los datos se expresaron como media \pm un desvío estándar de la media. Para la comparación entre dos pares de variables normales, se aplicó test de Student para muestras no apareadas para dos poblaciones distintas y pareada para el seguimiento de un tratamiento en un mismo grupo poblacional. Para comparar más de dos variables se apli-

có ANOVA, un factor para el caso de poblaciones normales, y test de Fisher para muestras no paramétricas. En caso de que estos tests fueran significativos, se aplicó un test *ad hoc* para demostrar diferencias significativas. Estos tests a posteriori utilizados fueron los de Dunnet o Bonferroni. Las correlaciones se realizaron con test de Pearson para datos paramétricos y con el de Spearman para datos no paramétricos. Se consideró que dos muestras eran estadísticamente diferentes cuando el valor de p fue menor de 0,05.

Resultados**1. POBLACIÓN NORMAL**

En la tabla II se observan los valores absolutos de las determinaciones de FAO, CTX urinario y sérico de los tres grupos normales estudiados.

Los niveles séricos de FAO no presentaron diferencias significativas entre los tres grupos controles estudiados. En cambio, si bien los niveles del CTX urinario y sérico no presentaron diferencias entre los hombres y mujeres premenopáusicas, estos dos grupos presentaron niveles significativamente menores que el grupo de mujeres posmenopáusicas ($p < 0,01$ para ambos, CTX urinario y CTX sérico) (tabla II).

Asimismo, la tabla II muestra que las diferencias porcentuales con respecto a los valores de CTX urinario y sérico entre las mujeres pre y posmenopáusicas fueron de un 56% y un 42% respectivamente.

En las figuras 7 y 8 se observa, para los tres grupos estudiados, la distribución de los valores individuales de CTX sérico y urinario, respectivamente.

2. CAMBIOS DURANTE EL SEGUNDO Y TERCER TRIMESTRE DE EMBARAZO

En la tabla III se observan, en el grupo de mujeres estudiadas, los niveles de FAO y CTX durante el segundo y tercer trimestre de embarazo.

Los valores de FAO y CTX en el segundo trimestre de embarazo son mayores que los de la población normal, incluso mayores que los de las mujeres posmenopáusicas. Ambos marcadores aumentaron con la progre-

TABLA II.

	Hombres	Mujeres premenopáu- sicas	Mujeres postmenopáu- sicas	Valor de P	% diferencia entre mujeres
FAO (UI/L)	11,9 ± 3,1	12,2 ± 3,8	12,2 ± 3,8	NS	NS
CTXu (ug/Mm creat.)	163 ± 97	187 ± 101	291 ± 119 ^{a,b}	<0,01	56%
CTXs (nM)	2,3 ± 1,2	2,2 ± 1,0	3,12 ± 1,5 ^{a,b}	<0,01	42%

a: p<0,01 comparado con hombres

b: p<0,01 comparado con mujeres premenopáusicas

Fig. 7.

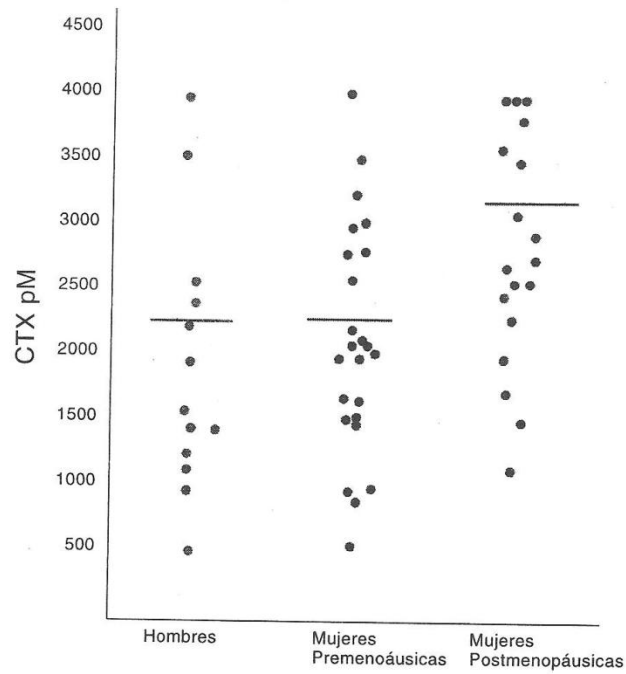


Fig. 8.

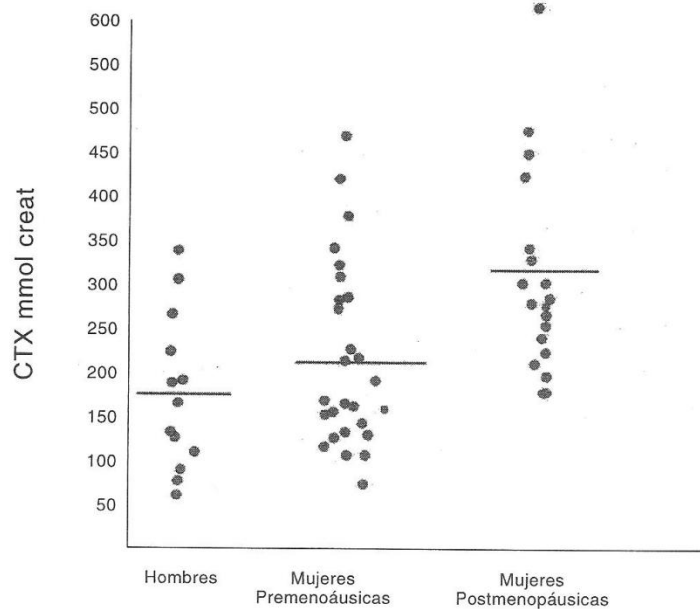


TABLA III.

Determinaciones bioquímicas	2° trimestre	3 ^{er} trimestre	P (entre 2° y 3 ^{er} trim.)
FAO (U/L)	14,5 ± 3,5	21,4 ± 6,7	<0,009
CTX (nM)	4,39 ± 1,44	6,48 ± 2,98	<0,0003

sión del embarazo, observándose una diferencia significativa entre el segundo y tercer trimestre (FAO: $p < 0,009$ y CTX: $p < 0,0003$).

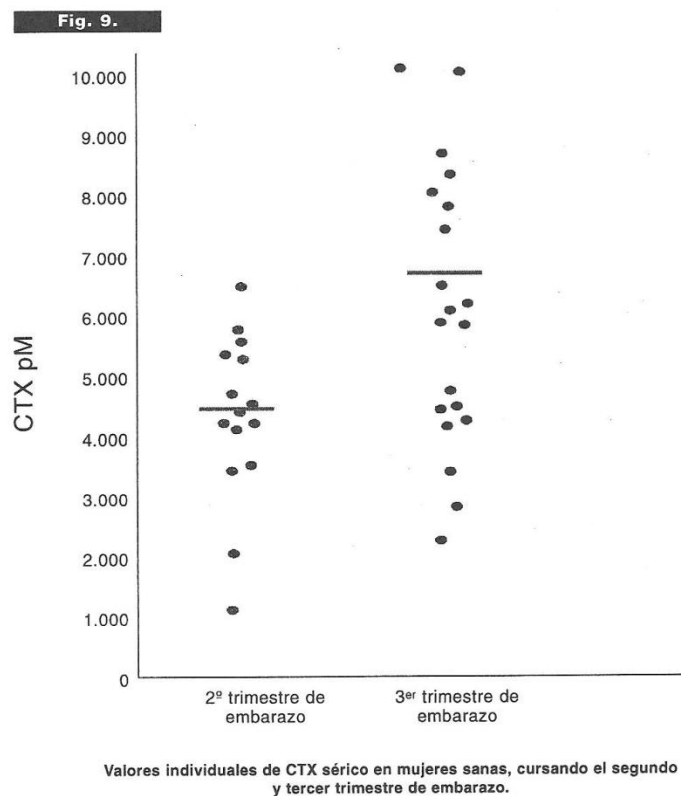
Cuando las mujeres fueron divididas según la ingesta cálcica entre aquellas con ingesta mayor o menor de 500 mg/día, no se observaron diferencias significativas entre ambos grupos.

Las figuras 9 y 10 muestran la distribu-

ción de los valores individuales de la FAO y CTX en suero durante los dos trimestres estudiados.

3. MUJERES POSMENOPAUSICAS QUE RECIBIERON TERAPIA DE REEMPLAZO HORMONAL (TRH)

En la tabla IV se observan los niveles de calcemia, fosfatemia, calciuria, FAO y CTX



urinario a los tiempos basales y 30 días de tratamiento.

A los 30 días no se observaron cambios en los niveles de calcemia, fosfatemia y FAO; sin embargo, el calcio urinario, la HO-Pr y el CTX disminuyeron significativamente.

La figura 11 esquematiza el porcentaje de cambios de estos marcadores a los 30 días de tratamiento, respecto del nivel basal tomado como 100%. En orden creciente, el porcentaje de cambio fue el siguiente: 6% HO-Pr; 19% Ca/creat., y 32% CTX.

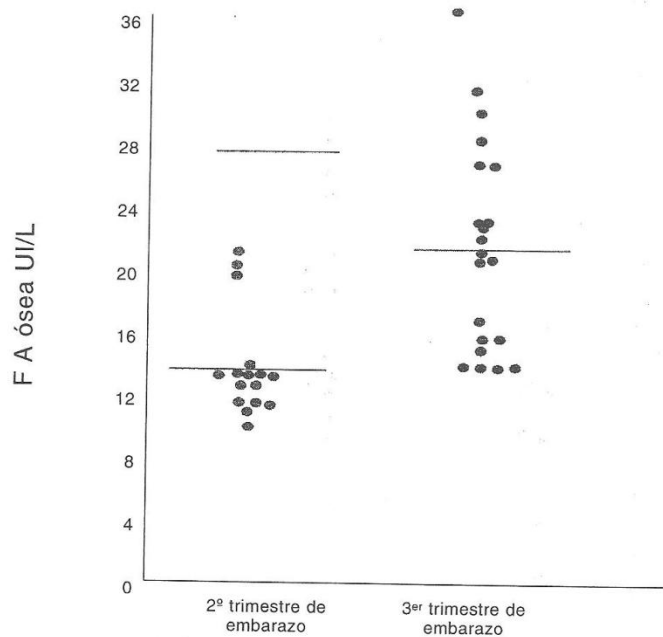
4. MUJERES POSMENOPÁUSICAS OSTEOPÉNICAS Y OSTEOPORÓTICAS

En la tabla V pueden observarse los niveles medios de FAO, HOProl y CTX urinario, así como los años de posmenopausia en los tres grupos de mujeres estudiados.

Los resultados muestran que las pacientes sin tratamiento presentaron niveles de FAO y CTX significativamente mayores que aquellas pacientes que recibieron tratamiento.

Las figuras 12 y 13 muestran la distribución de los valores individuales de la FAO

Fig. 10.

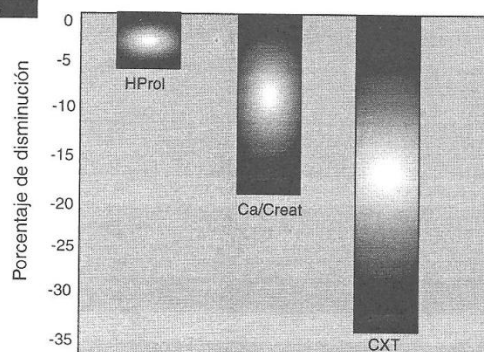


Valores individuales de FAO en mujeres sanas, cursando el segundo y tercer trimestre de embarazo.

TABLA IV.

Determinación bioquímica	Basal	30 días	Valor de P
Calcemia (mg%)	9,9 ± 0,5	9,8 ± 0,7	NS
Fosfatemia (mg%)	3,4 ± 0,6	3,1 ± 0,5	NS
FAO (UI/L)	12,2 ± 4,2	11,1 ± 3,9	NS
Calciuria (mg/mg creat.)	0,171 ± 0,08	0,138 ± 0,05	0,05
Hidroxirolina (mg/mg creat.)	0,038 ± 0,01	0,034 ± 0,01	0,01
CTX (pg/mM creat.)	285 ± 134	209 ± 96	0,001

Fig. 11.



Porcentaje de disminución de los marcadores en mujeres posmenopáusicas, a los 30 días de tratamiento con estrógenos.

y CTX en los tres grupos de mujeres estudiados.

5. HIPERTIROIDISMO

La tabla VI muestra las características clínicas y bioquímicas basales de las 16 pacientes estudiadas.

Si se comparan los valores iniciales de estas pacientes con los correspondientes al rango de valores normales, se observa que

todas las pacientes hipertiroides tenían niveles urinarios de CTX francamente por encima del límite superior encontrado en las mujeres normales posmenopáusicas (1.568 ± 837 vs. 291 ± 119 ug/mol de creat.); pero además, mostraron un aumento de la calciuria y de la FAO ($30,4 \pm 16,0$ vs. $12,2 \pm 3,8$ U/L).

La tabla VII muestra la evolución de las 7 pacientes que completaron totalmente el seguimiento clínico y bioquímico. Puede

TABLA V.

Análisis bioquímico	Sin tratamiento	Tratam. hormonal	Tratam. con bifosfonatos	P (1)	P (2)
HOProl (mg/g creat)	36 ± 18	26 ± 9	28 ± 9	NS	NS
FAO (U/L)	17,2 ± 4,7	13,5 ± 3,7	15,1 ± 3,8	<0,05	<0,03
CTX (mg/mM creat.)	337 ± 234	192 ± 148	136 ± 140	<0,0001	<0,02
Años de menopausia	15,6 ± 11,1	6,8 ± 5,4	17,1 ± 8,2	NS	NS

P (1): diferencia estadística entre pacientes sin tratamiento y tratadas con bifosfonatos.

P (2): diferencia estadística entre pacientes sin tratamiento y con tratamiento hormonal.

Fig. 12.

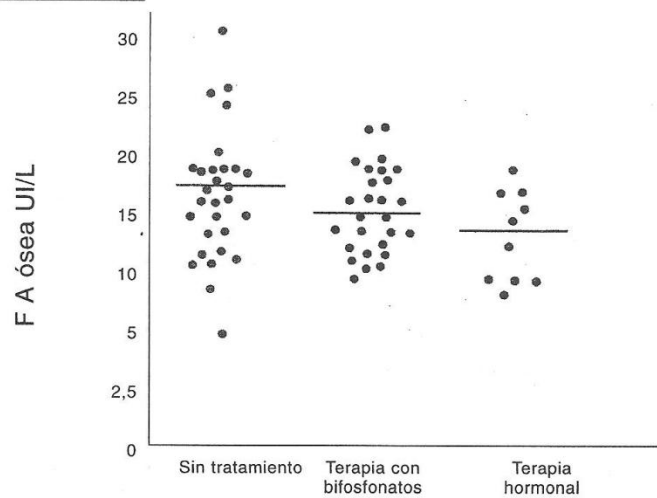
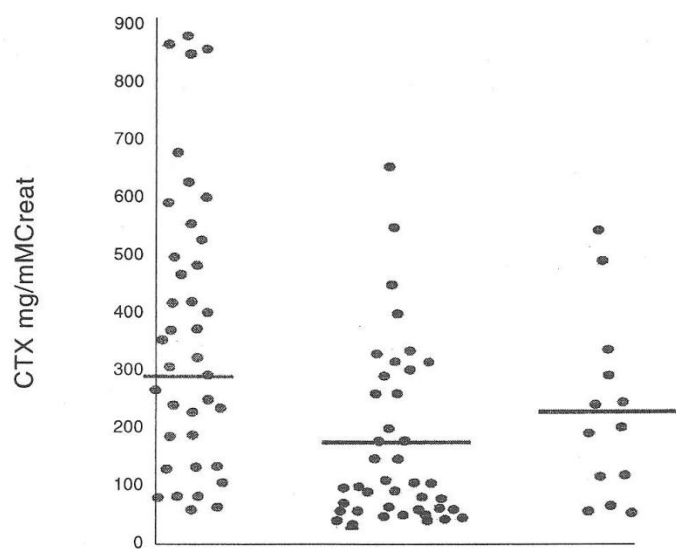


Fig. 13.



observarse que la excreción de CTX disminuyó a medida que se restableció la función tiroidea. La disminución a los 24 meses alcanzó un 91,3% con respecto al valor basal, llegando a valores dentro del rango normal.

En la figura 14 se observa comparativamente la evolución del CTX con la de los niveles séricos de T_3 en este grupo de pacientes, a lo largo de los 24 meses de seguimiento.

La figura 15 (A y B) muestra la evolución de los CTX y T_3 en las dos pacientes que presentaron recidiva de su enfermedad. La disminución de las hormonas tiroideas al comienzo del tratamiento fue acompañada por un

descenso en los niveles urinarios de CTX; posteriormente, al producirse la recidiva de la enfermedad, aumentaron nuevamente por encima de los valores normales.

6. INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA

La tabla VIII muestra los datos antropométricos y los resultados bioquímicos de los pacientes renales y sus correspondientes controles por edad, sexo y estado menopáusico. Los sujetos controles no presentaron diferencias significativas entre los tres grupos estudiados con respecto a los niveles de calcemia, fosfatemia, FAO, creatinina sérica o urinaria y PTHi. Sin embargo, los niveles

TABLA VI.

	<i>Media ± SD</i>	<i>Rango</i>
Edad (años)	40,6 ± 13	23-61
Tiempo de evolución de la enfermedad (meses)	7,9 ± 8,3	1-36
Peso (kg)	54,7 ± 8,1	43-72
Talla (cm)	156,8 ± 4,7	150-167
T_3 (ng/dl)	587,3 ± 332,5	192-1.202
T_4 (ug/dl)	22,1 ± 8,1	5,4-37,7
Calcemia (mg/dl)	9,6 ± 0,4	9,1-10,1
Calciuria (mg/24 h)	325 ± 173	99-790
FAO (UI/l)	30,4 ± 16,0	18-72
Osteocalcina (ng/ml)	7,4 ± 4,9	3-19,2
CTX urinario (ug/mol creat.)	1.568 ± 837	576-3.167

TABLA VII.

<i>Parámetro bioquímico</i>	<i>Basal</i>	<i>6 meses</i>	<i>12 meses</i>	<i>24 meses</i>	<i>Valor de p</i>
TSH	0,05 ± 0,05	9,8 ± 22,8	3,8 ± 4,6	3,3 ± 4,6	NS
T_3 (mg/dl)	652 ± 325	136 ± 81	141 ± 34,2	141 ± 34,2	<0,02
T_4 (ug/dl)	24 ± 8,5	6,8 ± 3,3	11,7 ± 2,5	10,2 ± 3,3	<0,001
Calcemia (mg/dl)	9,5 ± 0,3	9,4 ± 0,6	9,4 ± 0,5	9,2 ± 0,8	NS
Fosfatemia (mg/dl)	4,3 ± 0,4	3,8 ± 0,2	3,7 ± 0,4	4,1 ± 0,4	0,02
Calciuria (mg/mgCreat)	379 ± 230	255 ± 33	250 ± 304	188 ± 98	NS
Osteocalcina (ng/ml)	5,7 ± 2,6	7,3 ± 5,7	4,5 ± 3,6	4,7 ± 3	NS
FAO (UI/L)	36,6 ± 20	42,4 ± 44	22,8 ± 12,2	12,1 ± 1,9	<0,07
CTX urinario (ug/mmol)	2.028 ± 986	807 ± 544	333 ± 281	177 ± 137	<0,01

séricos y urinarios de CTX fueron significativamente más elevados en las mujeres posmenopáusicas, comparadas tanto con las premenopáusicas como con los hombres ($p < 0,05$). Entre los tres grupos de pacientes estudiados con insuficiencia renal, los distintos parámetros analizados no presentaron diferencias significativas.

Cuando se compararon los pacientes con insuficiencia renal con los sujetos normales, como se esperaba, presentaron una fosfatemia, PTHi y creatinina sérica significativamente mayores y un *clearance* de creatinina significativamente menor que sus respectivos controles por edad, sexo y esta-

do estrogénico ($p < 0,05$). Si bien los niveles de CTX urinario no presentaron diferencias, los niveles de FAO y CTX séricos fueron significativamente más elevados comparados con su respectivo grupo control ($p < 0,05$).

La figura 16 muestra la distribución de los niveles individuales de CTX sérico en los pacientes con insuficiencia renal y sus controles por edad, sexo y estado estrogénico.

En los controles, los niveles estaban siempre por debajo de 7.500 pM, mientras que en los pacientes con insuficiencia renal los valores oscilaron entre 1.000 y 25.000 pM. Los niveles de CTX urinario fueron similares en los pacientes y sus respectivos controles.

Fig. 14.

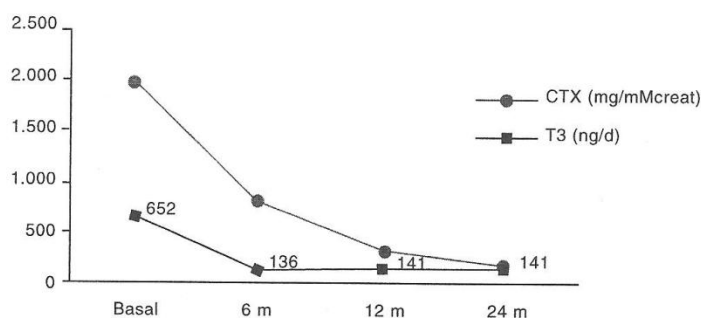
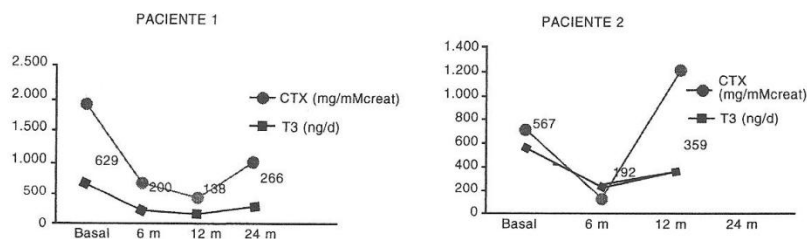


Fig. 15.



Marcadores de formación y resorción ósea

El CTX sérico de los pacientes con insuficiencia renal mostraron una correlación significativamente positiva, tanto con los valores séricos de PTHi ($r = +0,74$, $p < 0,001$) (fig. 17), como con la FAO ($r = 0,65$, $p < 0,001$) (fig. 18). Contrariamente, el CTX sérico mostró una correlación negativa con el clearance de creatinina ($r = -0,51$, $p < 0,001$).

En la tabla IX se observa que cuando los pacientes fueron divididos según su clearance de creatinina, aquellos con un nivel inferior a 40 ml/min. presentaban niveles significativamente más elevados de PTHi, FAO y CTX sérico y urinario.

En la tabla X se subdividió a los pacientes que presentaron un clearance de creatinina por debajo de 40 ml/min. según niveles de PTHi por debajo o encima de 100 pg/ml. Si bien no hubo diferencias entre los niveles de creatinina, calcemia, fosfatemia y CTX urinario, aquellos pacientes con PTHi por encima de 100 pg/ml presentaron niveles significativamente más elevados de FAO, PTHi y CTX sérico.

7. PATOLOGÍA ÓSEA SECUNDARIA A ENFERMEDAD CELÍACA

Los resultados bioquímicos obtenidos en el grupo estudiado de 14 pacientes tra-

TABLA VIII.

	CONTROLES			PACIENTES RENALES		
	Premenop.	Posmenop.	Hombres	Premenop.	Posmenop.	Hombres
Edad (años)	37,8±8,9	61,0±8,8	40,9±15,4	38±10,3	66,2±6,7	48,4±20,7
Peso (kg)	60,7±6,0	70,7±13,9	72,6±9,3	53,4±10,5	69,8±20,7	80,2±17,4
Talla (m)	1,61±0,4	1,56±9,1	1,72±0,6	1,62±0,7	1,57±0,5	1,71±0,8
Cl. creat. (ml/min.)	107±21	104±26	105±22	46±19 ^a	34±19 ^b	29±17 ^c
Creatinina (mg/dl)	1,1±0,1	0,8±0,2	1,1±0,12	1,9±0,8 ^a	2,9±1,5 ^b	3,2±1,6 ^c
Calcemia (mg/dl)	9,6±0,4	9,8±0,2	9,5±0,4	9,4±0,5	9,7±0,5	9,5±0,7
Fosfatemia (mg/dl)	3,8±0,6	3,9±0,4	3,6±0,6	4,5±0,6 ^a	4,5±0,8 ^b	4,5±0,9 ^c
FAO (U/L)	12±3	14±3	12±3	19±8 ^a	17±8 ^b	19±15 ^c
PTHi (pg/ml)	31±12	30±14	24±13	81±129 ^a	84±91 ^b	86±116 ^c
CTX sérico (pM)	2.229±1.026	3.161±1.471*	2.272±1.242	9.676±5.517 ^a	7.574±6.597 ^b	8.594±6.044 ^c
CTX urin. (mg/mM creat.)	211±105	306±112*	163±97,3	211±206	242±406	217±238

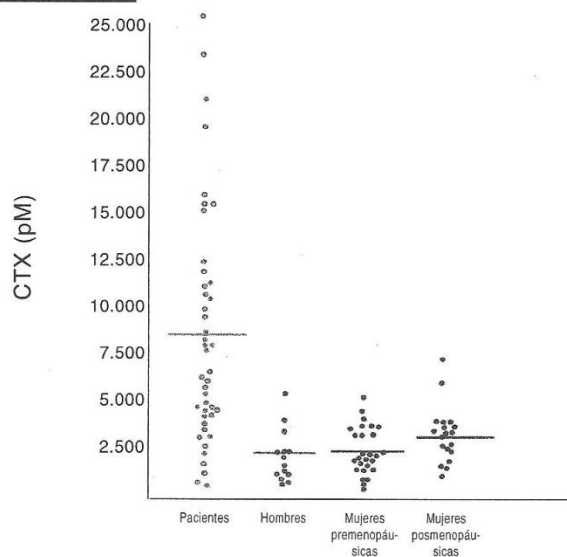
* $p < 0,05$ comparado con hombres y mujeres premenopáusicas controles.

^a $p < 0,05$ comparado con mujeres premenopáusicas controles.

^b $p < 0,05$ comparado con mujeres posmenopáusicas controles.

^c $p < 0,05$ comparado con hombres controles.

Fig. 16.



tados con dieta libre de gluten (a un subgrupo de 7 pacientes se lo suplementó además con 1 g de calcio y 32.000 UI de vitamina D por semana) a los tiempos basal y luego de 12 meses de tratamiento se observan en la tabla XI. Desde el punto de vista nutricional, los pacientes mejoraron ya que aumentaron de peso y permanecieron asintomáticos.

De los marcadores de formación, la FAO disminuyó un 21% respecto del valor basal, normalizándose al año de seguimiento. La BGP, luego de tres meses de tratamiento, se incrementó significativamente con respecto a los niveles basales, para volver a los 12 meses a un valor similar al inicial, con lo que el porcentaje de cambios fue sólo del 8% (figs. 19 A y B y 20).

TABLA IX.

Parámetro estudiado	Clearance de creat. <40 ml/min. n=27	Clearance de creat. >40 ml/min. n=16	Valor de P
Creatininemia (mg/dl)	3,7 ± 1,5	1,8 ± 0,5	<0,0001
Calcemia (mg/dl)	9,6 ± 0,7	9,3 ± 0,6	NS
Fosfatemia (mg/dl)	4,6 ± 0,8	4,2 ± 0,7	NS
FAO (UI/l)	21,7 ± 14,8	13,9 ± 4,9	<0,05
PTHi (pg/ml)	120 ± 124,3	26,7 ± 22,2	<0,004
CTX sérico (pM)	10.849 ± 6.332	4.431 ± 2.168	<0,001
CTX urinario (mg/mCreat.)	272 ± 398,6	141 ± 145	NS

Fig. 17.

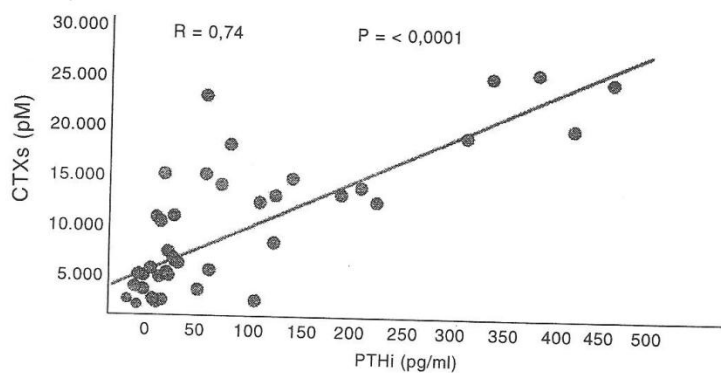


Fig. 18.

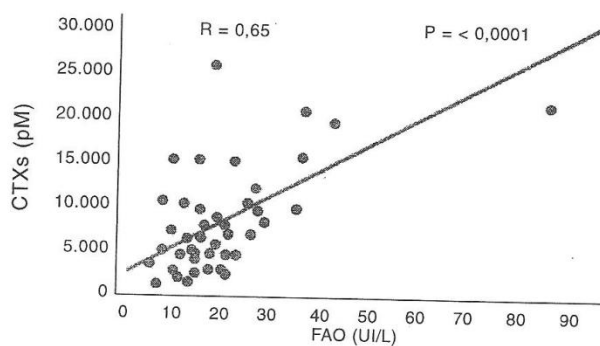


TABLA X.

Parámetro bioquímico	PTHi <100 pg/ml n=9	PTHi <100 pg/ml n=18	Valor de P
Calcemia (mg/dl)	9,6 ± 0,7	9,6 ± 0,8	NS
Fosfatemia (mg/dl)	4,8 ± 1,2	4,5 ± 0,6	NS
FAO (UI/l)	32,5 ± 19,7	16,2 ± 7,7	<0,005
PTHi (pg/ml)	263,3 ± 118	48,1 ± 26,2	<0,0001
CTX sérico (pM)	15.508 ± 6.393	8.518 ± 4.984	<0,004
CTX urinario (mg/mMcreat.)	334 ± 449	241 ± 380	NS

Respecto de los marcadores de resorción, la HOPr disminuyó un 13%, mientras que los CTX urinarios disminuyeron un 48%, alcanzando valores dentro del rango normal luego de un año de tratamiento (figs. 20 y 21).

8. ENFERMEDAD DE PAGET

La tabla XII muestra los valores de FAO y CTX urinario a los tiempos basal y luego de tres meses de tratamiento específico con bifosfonatos. Inicialmente los niveles promedio de CTX se encontraron por encima del rango normal con un promedio de 809 ± 424 mg/mM creat., al igual que los niveles promedio de FAO (72 ± 63 UI/L). Los valores basales de FAO y CTX urinarios de cada paciente se muestran en la figura 22; de su análisis se observa que cuatro pacientes presentaron valores de CTX urinario dentro del rango normal (B) y ninguno de ellos tuvo FAO (A) dentro de los valores normales.

La figura 23 permite visualizar la respuesta individual en los niveles absolutos de CTX urinario de cada paciente por el tratamiento suministrado.

A los tres meses de tratamiento con la terapia antirresortiva instituida (bifosfonatos), la evolución de estos marcadores muestra que la disminución porcentual media fue de un 50% respecto del valor basal en los niveles de CTX urinario y de un 46% en los niveles de FAO (fig. 24).

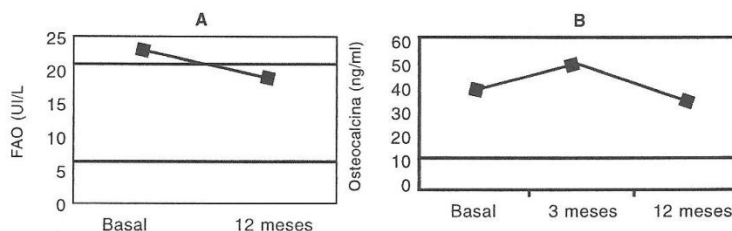
Discusión

El hueso es un órgano que se encuentra en un proceso continuo de formación y resorción. En el adulto normal este proceso de remodelamiento está acoplado, existiendo un equilibrio hasta alcanzar el pico de masa ósea. Alrededor de la cuarta década de la vida, comienza a producirse una pérdida ósea lineal de aproximadamente 0,5-1% por década y que afecta por igual a hombres y mujeres. Sin embargo, durante los primeros estadios de la menopausia, las mujeres soportan una pérdida adicional de hueso de variable intensidad. Esta pérdida mayor se produce debido a que la disminución de estrógenos circulantes aumenta el remodelamien-

TABLA XI.

	Basal	12 meses de tratamiento	Valor de P
Calcemia (mg/dl)	$9,1 \pm 0,3$	$9,3 \pm 0,1$	NS
FAO (UI/L)	$23,4 \pm 2,4$	$19,3 \pm 0,9$	0,05
BGP (ng/ml)	$38,3 \pm 15,4$	$35,3 \pm 11,3$	NS
CTX (mg/mMcreat.)	552 ± 158	373 ± 127	0,05
PTHmm (pg/ml)	108 ± 15	93 ± 11	NS

Fig. 19.



Marcadores de formación y resorción ósea

Fig. 20.

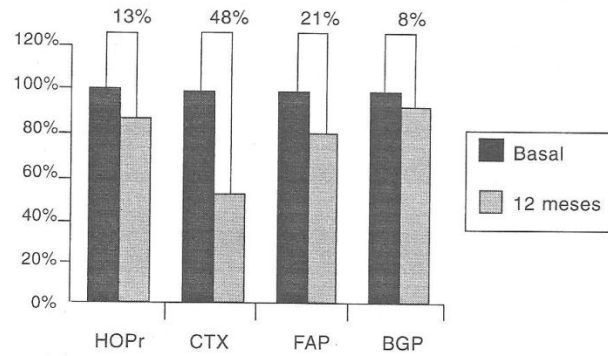


Fig. 21.

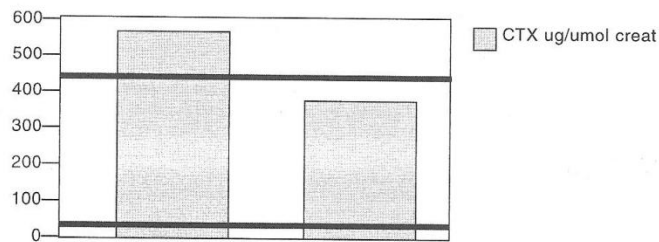
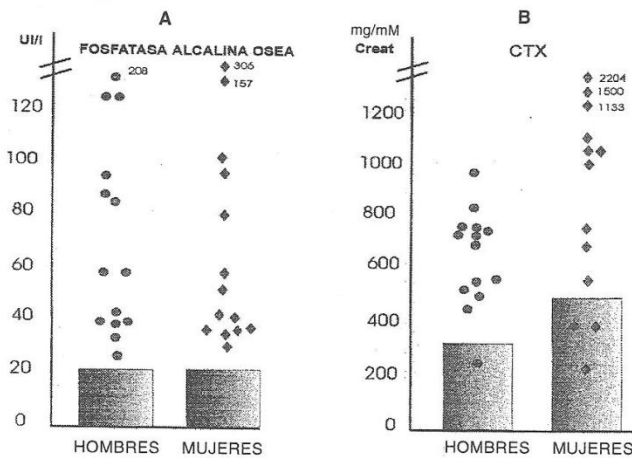


TABLA XII.

	FAO (UI/l)	CTX urinario (mg/mM creat.)
Valor normal	6-21	Hombres: <400 Mujeres posmenop.: 30-600
Basal	72 ± 63	809 ± 424
3 meses de tratamiento	31 ± 22*	367 ± 264**
% de disminución respecto del basal	46%	50%

* p<0,002 y ** p<0,001, para los niveles de FAO y CTX respecto del valor inicial.

Fig. 22.



to con un predominio de la resorción ósea. La deficiencia androgénica también juega un rol similar en la pérdida de hueso, aunque el efecto es de menor magnitud (1)(2). La disminución en la masa ósea se relaciona directamente con un aumento en el riesgo de

sufrir osteoporosis y en consecuencia algún tipo de fractura. La identificación de los factores responsables del aumento en la pérdida de hueso que se produce en la menopausia es crucial para comprender la patogénesis de la osteoporosis. Si bien está claramen-

Fig. 23

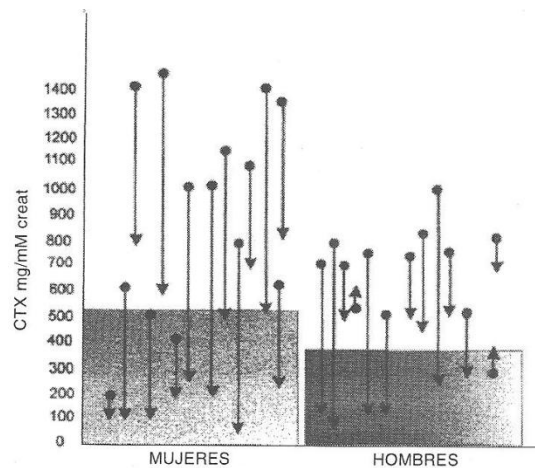
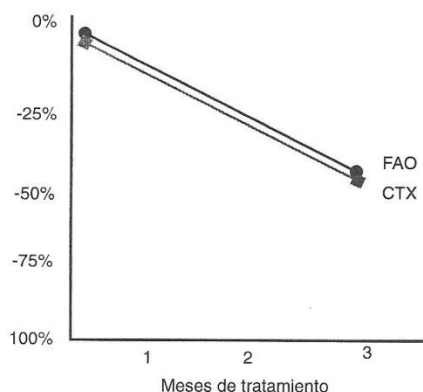


Fig. 24.



te establecido que el cese de la función ovárica en función de los años de menopausia es uno de los factores más importantes, podrían existir otros que contribuyan a la pérdida de hueso aun luego de muchos años posteriores a la misma. Así, un aumento en los niveles de PTH por una baja ingesta y absorción de calcio, déficit de vitamina D y disminución en la velocidad de filtración glomerular podría estar involucrado en el incremento de la pérdida de hueso con la edad. Esto hace que la resorción ósea permanezca elevada en las mujeres aun luego de 40 años de posmenopausia (10).

Sin embargo, las alteraciones en el remodelamiento óseo que pueden dar lugar a osteoporosis no sólo se relacionan con la edad o disminución hormonal. Existen otras patologías que lo alteran, produciendo ya sea un aumento en el recambio acoplado (cuyo mecanismo sería un aumento en el número de UROs por unidad de tiempo) o un desbalance hacia alguno de los procesos que lo componen. En este último caso, a nivel celular en cada URO existiría menor cantidad de hueso formado que el que se destruye, por una disminución en la formación, por un aumento en la resorción o por ambas causas a la vez (2)(3).

Las alteraciones del metabolismo óseo se evidencian a través de los marcadores bioquímicos del remodelamiento esquelético. Este hecho es de suma importancia, ya que

cuantificar la velocidad de reducción de la masa ósea o determinar el grado de actividad de alguna osteopatía metabólica en forma subclínica, ayudaría a identificar a aquellos sujetos con mayor riesgo de sufrir osteoporosis y así comenzar alguna terapia tendiente a detener o reducir dicho proceso. En este sentido, son los marcadores bioquímicos de resorción los que responden más rápidamente a los cambios en el remodelamiento (20). Por dicho motivo, en los últimos años se trató de encontrar un marcador de resorción que sea el más sensible y específico para valorar el remodelamiento óseo, que permita predecir el grado de pérdida ósea y que sea útil para el diagnóstico y la evolución con el tratamiento de la osteoporosis y de otras patologías óseas. A diferencia de lo que ocurre con los marcadores de formación, en general los de resorción actualmente disponibles se evalúan en orina. Esto, sumado a que deben relacionarse a la creatinina urinaria, da lugar a grandes variaciones biológicas, intra e interensayo. Sobre estas bases, las distintas investigaciones se han dirigido a encontrar un marcador de resorción que, además de ser sensible y específico, pueda determinarse en suero, lo que aumentaría su precisión. Esto explica porque las variaciones día a día dentro de un mismo sujeto utilizando las determinaciones séricas, son mucho más pequeñas que las de los ensayos urinarios.

En este sentido, el avance en el campo de la biología molecular logró que se encontraran marcadores de resorción cada vez más específicos para determinar la pérdida de hueso. Durante los primeros años en que comenzaron a estudiarse las patologías metabólicas óseas, el índice calcio/creatinina en orina basal o la calciuria de 24 h fueron los únicos indicadores de un aumento en la pérdida de hueso. Más adelante, la determinación de hidroxiprolina urinaria fue el ensayo utilizado. Este componente de la matriz ósea presenta los inconvenientes de no ser específico del colágeno del hueso, y que además su determinación bioquímica es tediosa. A principios de los 90 comenzaron a utilizarse los productos de entrecruzamiento del colágeno tipo I o cross-links Pir y D-Pir (21)(22). Este hecho aumentó la sensibilidad de los marcadores de resorción, ya que, si bien no son específicos de hueso, son liberados a circulación y eliminados sin metabolización posterior por orina. En estos últimos años se evaluaron clínicamente dos marcadores formados tras la ruptura del colágeno tipo I maduro por medio de colagenasas específicas, uno el correspondiente a la fracción amino-terminal (NTX) y el otro a la fracción carboxi-terminal (CTX) (23)(24). Recientemente el lanzamiento de un kit comercial para la determinación de CTX en forma sencilla en suero, hizo que se lo eligiera para determinar la resorción ósea en distintos estados fisiológicos y patológicos.

Como se mencionara, el remodelamiento óseo aumenta en la mujer posmenopáusica principalmente entre el primer y tercer año posterior a la caída en sus niveles estrogénicos. Robins y col. (21)(22) encontraron un aumento en los niveles de Pir y D-Pir, siendo la D-Pir un 15% más alta en mujeres que en hombres y aumentando dicha diferencia con la menopausia. Estudios recientes mostraron variaciones en los niveles de NTX y CTX urinarios en función de la edad y del estado menopáusico. En este sentido se observó un pequeño aumento durante la perimenopausia, el cual se acentúa por la presencia de ciclos irregulares, para aumentar significativamente en los primeros estadios de la menopausia (23-25).

En el presente estudio, los niveles de CTX urinario o sérico no presentaron diferencias significativas entre mujeres premenopáusicas y hombres, aunque las posmenopáusicas mostraron un aumento significativo en

los niveles de CTX respecto de estos dos grupos, con un porcentaje de incremento del 42 y 56% respectivamente. Sin embargo, los niveles de FAO fueron similares en los tres grupos de sujetos normales estudiados. Este hecho confirma un cierto grado de desbalance durante la posmenopausia en el ciclo de remodelamiento, con un desplazamiento hacia una mayor resorción ósea.

Cuando se compararon las mujeres posmenopáusicas sanas con las posmenopáusicas osteopénicas y osteoporóticas sin tratamiento, se observaron en estas últimas niveles promedio de CTX urinarios 20% más elevados y de FAO aproximadamente 40% más altos que los de las posmenopáusicas sanas. Este hallazgo diferencia a estos dos grupos, ya que las mujeres osteopénicas y osteoporóticas sin tratamiento presentaron no sólo un aumento significativo de la resorción, sino también de la formación ósea.

Debe tenerse en cuenta que no todas las mujeres pierden rápidamente hueso en la posmenopausia, ya que existen "perdedoras rápidas" cuyos niveles de resorción se encuentran aumentados respecto de la media normal. Por otra parte, no todas ellas responden por igual a las distintas terapias. Así, el hallazgo de marcadores más sensibles como el CTX urinario hizo posible no sólo la identificación de las perdedoras rápidas, sino también su uso para evaluar la respuesta a la THR en forma inmediata (26). Cuando se analizó la respuesta a la THR de las mujeres posmenopáusicas sanas en un período de tiempo muy corto (30 días de tratamiento), sólo el CTX redujo significativamente sus niveles, alcanzando una disminución del 30% respecto del valor basal. La FAO en cambio no mostró cambios en sus niveles debido a que la respuesta de los marcadores de resorción son más rápidas que la de los de formación. De la misma manera, las pacientes posmenopáusicas osteopénicas y osteoporóticas tratadas con THR presentaron niveles de CTX menores que los de aquellas pacientes que no tenían tratamiento instituido. Debe destacarse que la FAO también disminuyó, aunque menos significativamente. Estos resultados reflejan la gran sensibilidad y especificidad del CTX ante la THR en un corto período de tiempo, para mostrar la disminución en la resorción ósea que se produce en las pacientes osteopénicas y osteoporóticas tratadas con THR por períodos más prolongados. En el caso del

uso de otros agentes antirresortivos como los bifosfonatos, el comportamiento de las pacientes posmenopáusicas osteopénicas y osteoporóticas fue similar al de aquellas tratadas con THR. Estos resultados demuestran que el CTX tendría una implicación terapéutica importante, ya que permitiría evaluar a lo largo de un período más o menos variable la eficacia de la terapia instituida, comparado con la densitometría ósea, la cual llevaría al menos un año para evidenciar la efectividad de la terapia.

Está claramente establecido que el pico de masa ósea es un factor determinante en el riesgo de sufrir osteoporosis, de tal manera que para la prevención de esta enfermedad es fundamental tratar de optimizar la aposición ósea determinada por factores genéticos y conservar los valores obtenidos, como para enfrentar la pérdida ósea perimenopáusica con una buena masa ósea. En tal sentido, el embarazo y la lactancia podrían impactar sobre la obtención y mantenimiento del pico de masa ósea. El embarazo y la lactancia se caracterizan por cambios endocrinológicos significativos que podrían alterar la masa ósea. Así, durante el embarazo, principalmente en el tercer trimestre y para la normal mineralización ósea del feto en desarrollo, se transportan diariamente a través de la placenta importantes cantidades de calcio, dando lugar a alteraciones endocrinológicas que determinan en el tejido óseo un aumento en su remodelamiento. Durante el segundo y tercer trimestre del embarazo se produce un aumento en la formación y en la resorción óseas, lo que indica la gran movilización de calcio durante este período (27) (28). En consecuencia, de acuerdo al pico de masa ósea alcanzado, a la ingesta habitual de calcio y teniendo en cuenta el número de gestas, este período transitorio en la vida de la mujer podría determinar, de acuerdo a la edad de la mujer en que ocurran los embarazos, la imposibilidad de alcanzar el pico de masa ósea determinado por herencia o impidiendo a la mujer el mantenimiento del mismo y llegar a la menopausia con una adecuada masa ósea.

En el presente estudio se evaluó a un grupo de mujeres con el fin de cuantificar cuán importante es ese aumento del remodelamiento durante el embarazo. A tal fin se utilizaron determinaciones séricas que permiten determinar en una única muestra tan-

to el nivel de formación como el de resorción. Debe destacarse que este estudio fue realizado en un grupo poblacional en que la mujer embarazada concurre habitualmente a su primer control prenatal aproximadamente a los tres meses de gestación. Por tal motivo, se consideró como grupo control a las mujeres premenopáusicas normales. Los resultados encontrados demostraron un aumento en el remodelamiento óseo durante el segundo y tercer trimestre de embarazo. La FAO presentó niveles superiores al de las mujeres premenopáusicas, que se incrementó en aproximadamente el 20% y 80% respectivamente durante el segundo y tercer trimestre de embarazo. El CTX sérico presentó niveles que duplicaron y aun triplicaron los valores encontrados en el grupo de mujeres premenopáusicas normales. Se debe recordar que la metodología utilizada en este estudio determinaba al isómero β del CTX, con lo cual se evaluó el remodelamiento del hueso materno y no el correspondiente al feto en desarrollo. En base a lo encontrado, la determinación de valores normales del remodelamiento óseo tendría una utilidad potencial para evaluar la pérdida ósea durante el embarazo y la lactancia e identificar a aquellas mujeres que se encuentren en riesgo de sufrir osteoporosis relacionada al embarazo. Debe recordarse que dicha asociación fue establecida desde hace ya largos años (29).

La tirotoxicosis incrementa el remodelamiento óseo debido a que aumenta significativamente la frecuencia de activación de los ciclos de remodelamiento. El mecanismo de acción involucrado es una aceleración tanto de la formación osteoblástica como de la resorción osteoclástica y, aunque ambas están aumentadas, existe un predominio en la resorción ósea (3). Como además aproximadamente el 60% de las pacientes que consumen tiroxina o presentan hipertiroidismo se encuentran por encima de los 40 años, el potencial efecto de sufrir osteoporosis aumenta enormemente.

Estudios previos mostraron un aumento de hasta el 90% en los niveles de Pir y D-Pir y un aumento menor de la FAO, los que retornaban a los niveles normales por el tratamiento específico (30)(31). En el presente estudio se observó que los niveles de CTX estuvieron marcadamente elevados en todos los pacientes hipertiroides, con valores muy superiores a la media normal. Además,

la correlación existente entre los niveles de CTX y los de T_3 indicaría que el impacto óseo sería proporcional al grado de hipertiroidismo del paciente. Por otra parte, los niveles de FAO sólo se encontraban elevados en 9 de los 16 pacientes estudiados, lo que reflejaría que, en hipertiroidismo, el alto remodelamiento estaría desplazado hacia una mayor resorción ósea, sugiriendo un posible desacoplamiento entre los procesos de formación y resorción esquelética.

Un hallazgo importante a tener en cuenta es la reducción del 94% en los niveles de CTX al producirse la cura de la enfermedad, así como el aumento concomitante que se observó al producirse la recidiva de la misma. Este hallazgo haría del CTX un marcador bioquímico muy sensible en los pacientes hipertiroides para evaluar el compromiso esquelético así como para el seguimiento de los cambios producidos en el metabolismo óseo (32)(33).

El control fisiológico del metabolismo óseo está relacionado con procesos que se producen a nivel del intestino, riñón, glándulas paratiroides y hueso. Por este motivo la presencia de una enfermedad renal altera el metabolismo mineral y la insuficiencia renal tiene graves consecuencias para el hueso así como para otros tejidos. El deterioro en la función renal determina una falta en el control de la secreción de PTH, con hiperplasia de las paratiroides y alteraciones en el metabolismo de la vitamina D. Esto da lugar a la persistencia de un hiperparatiroidismo secundario, el que a su vez inducirá un aumento en el remodelamiento óseo. En el paciente renal, la biopsia ósea es el método más preciso para determinar el grado de compromiso esquelético. Sin embargo, la disminución en forma significativa de la exposición del paciente renal al aluminio hace que dicha metodología sea prácticamente innecesaria en una gran cantidad de ellos. Por lo tanto, se hace necesaria la utilización de métodos no invasivos, como los marcadores bioquímicos del remodelamiento óseo, para determinar el compromiso esquelético que posee un determinado paciente (3)(34).

Este estudio fue el primer trabajo sobre marcadores de resorción séricos en pacientes con insuficiencia renal. Si bien los niveles de CTX urinario fueron similares, el CTX sérico se encontró significativamente elevado en pacientes con insuficiencia renal

comparado con sus respectivos controles por edad, sexo y estado estrogénico. Por otra parte, se observó un aumento en forma proporcional del CTX sérico con la disminución en el clearance de creatinina y una estrecha relación con los niveles de PTHi y FAO. En el primer caso, dicho aumento se debería a una mayor retención de CTX por falta de excreción urinaria, por un aumento en el remodelamiento inducido por el hiperparatiroidismo secundario o por ambas cosas a la vez (35). Si bien el clearance de CTX no está del todo dilucidado, considerando su bajo peso molecular y que no presenta metabolización urinaria, se sugiere que este compuesto se retiene a medida que la función renal se deteriora. Este mecanismo se observó previamente en el caso de Pir y D-Pir demostrando que existe una retención de estos dos compuestos a medida que la excreción de creatinina se afecta por la insuficiencia renal (36)(37).

Los niveles de FAL, y en consecuencia de FAO, son un indicador de la severidad del hiperparatiroidismo secundario en pacientes con insuficiencia renal y, tal como se observó en este estudio, habitualmente correlacionan con los niveles de PTH (38). La correlación observada entre los niveles de CTX sérico y/o PTHi y FAO, permitiría inferir su utilidad clínica como un marcador de la degradación de hueso sumamente específico en los pacientes renales a pesar de su acumulación en suero por el deterioro en la función renal.

La enfermedad de Paget es una osteopatía metabólica diferente a la osteoporosis, que está caracterizada por un incremento localizado en el remodelamiento óseo (39). Este proceso se inicia por un incremento en la resorción osteoclástica seguido por un incremento compensatorio en la formación osteoblástica, dando lugar a un hueso con una estructura totalmente desorganizada. La etiología aún es de naturaleza desconocida pero se supone que puede deberse a causas genéticas o virales (3).

En la enfermedad de Paget, el indicador bioquímico clásicamente utilizado tanto para su diagnóstico como para su seguimiento es la FAL (40), aunque se ha sugerido que la FAO sería un mejor indicador (41). El aumento en la formación osteoblástica se evidencia por el aumento de hasta 2 ó 3 veces o más en los niveles de FAO, que disminuyen hasta 2 ó 3 veces o más luego de varias

semanas del tratamiento específico (41). Sin embargo, el incremento en los marcadores de resorción reflejan la primera lesión encontrada en la enfermedad de Paget: el aumento en la resorción ósea.

Debe tenerse en cuenta que, en pacientes no tratados, el valor de un marcador de resorción respecto del de formación reflejaría el grado de acoplamiento entre ambos procesos. Por otra parte, el aumento de tales marcadores en la enfermedad de Paget ofrecería una aproximación clínica del grado de extensión y severidad de la enfermedad, y sus mediciones en el tiempo permiten observar los efectos del tratamiento (42). Las terapéuticas corrientemente utilizadas disminuyen hasta en un 50% los niveles iniciales de los marcadores en la mayoría de estos pacientes. Debido a que actualmente existen numerosos, y a la vez más potentes tratamientos disponibles, la utilización de un marcador de resorción sensible y específico proveería al médico de una herramienta indispensable para controlar rápidamente la eficacia de la terapéutica y la remisión de la enfermedad.

En el presente estudio, todos los pacientes presentaron un nivel de FAO por encima del rango normal, disminuyendo por el tratamiento específico hasta un 46% respecto del nivel basal. Este hecho es de suma importancia ya que se ha demostrado que la reducción en los niveles de FAL correlaciona con la duración de la remisión (40). Respecto del proceso de resorción, los niveles basales de CTX se encontraban generalmente por encima de los niveles normales y luego de los tres meses de tratamiento disminuyeron un 50%. Estudios previos mostraron una disminución semejante en los niveles de Pir, D-Pir y NTX en pacientes tratados con pamidronato y una disminución mayor en los niveles de CTX (43-45).

Si bien el porcentaje de cambio en los marcadores de formación como FAO y de resorción como CTX fueron similares, no es posible determinar cuál de ellos puede ser mejor para evaluar la respuesta al tratamiento. En primer lugar, la respuesta de los marcadores de formación y resorción es distinta a la terapia con bifosfonatos, y en segundo lugar, estos marcadores reflejan diferentes procesos del metabolismo óseo. En tal sentido, si bien el aumento en la activi-

dad de FAO es una razón suficiente para diagnosticar la enfermedad de Paget, ante la terapia instituida la medición de los niveles del CTX sería de suma utilidad para el seguimiento del paciente, ya que se debe recordar que la respuesta de los marcadores de resorción es más rápida que los de formación.

La enfermedad celiaca o enteropatía sensible al gluten es una patología que se produce como consecuencia de la exposición, en individuos sensibles, a ciertas proteínas presentes en los cereales llamadas gliadinas. Dicha enfermedad se diagnostica histológicamente por atrofia de la mucosa y de las vellosidades intestinales, siendo los síntomas gastrointestinales característicos de malabsorción (diarrea, esteatorrea) los más frecuentes. En ciertos casos aparece un cuadro de anemia y, menos frecuentemente aun, la sintomatología puede iniciarse a nivel óseo. La manifestación ósea más severa de la malabsorción intestinal es la osteomalacia. Esta enfermedad presenta un cuadro de laboratorio caracterizado por un aumento en los niveles de FAL y su isoenzima ósea y un déficit en la absorción de vitamina D. Respecto de esto último, los niveles de 25(OH) vitamina D, principal metabolito circulante de la misma, se encuentran disminuidos, y de acuerdo al estadio de la enfermedad los niveles de $1\alpha,25(\text{OH})_2$ vitamina D pueden estar aumentados. Finalmente, como la absorción de calcio está disminuida, se observa hipocalcemia, la cual estimula la secreción de PTH induciendo la aparición de un hiperparatiroidismo secundario. El tratamiento habitual es la dieta libre de gluten (46-48).

En el presente estudio, las pacientes presentaban osteopenia y, debido a la presencia de un hiperparatiroidismo secundario, tenían aumentados los niveles de FAO y CTX. Luego del tratamiento específico con dieta libre de gluten, calcio y dosis bajas de vitamina D, tanto la FAO como el CTX decrecieron significativamente con un porcentaje del 21 y 48% respectivamente. La gran disminución en los niveles de CTX hizo que a los 12 meses de tratamiento sus valores se encontraran dentro del rango normal. Este hecho sugiere la utilidad del CTX para el seguimiento del paciente con enfermedad celiaca que presente una alteración del metabolismo óseo.

Conclusiones

En síntesis, el aumento en los marcadores de formación y sobre todo en los de resorción está fuertemente asociado a la rápida pérdida de hueso. En consecuencia, identificar a los sujetos que presenten un elevado remodelamiento óseo es de suma importancia para instaurar rápidamente una terapia tendiente a disminuir el riesgo de sufrir osteoporosis. En tal sentido, en el presente estudio se evaluaron los niveles de CTX y FAO en sujetos normales y en individuos con alguna enfermedad metabólica que afecte al tejido óseo, así como sus variaciones por el efecto de terapias específicas.

Como los marcadores de resorción responden más rápidamente a cambios en el remodelamiento óseo, sumado a:

1. la gran sensibilidad y especificidad del CTX urinario;
2. la posibilidad de medir el CTX en suero;
3. la posibilidad de diferenciar hueso recién formado del viejo por medio de sus isómeros,

se considera que el CTX es uno de los mejores marcadores de resorción para ser utilizado en todas aquellas patologías en que se sospeche la alteración o se quiera determinar el grado del remodelamiento esquelético.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue parcialmente realizado con el apoyo de la Fundación Argentina de Osteología (FADO), con subsidios del CONICET (PICT 04735 y PICT 2431) y de UBA (TB060). Se agradece a M. Royer, A. Tempone, R. Mazure, H. Vázquez, C.R. Ortega Soler, A. Lazari, M. Suárez y J. Bai por haber colaborado con los distintos pacientes.

CORRESPONDENCIA

Dra. Susana N. Zeni
Sección Osteopatías Médicas
Hospital de Clínicas
Córdoba 2351, 8° piso
1120 Capital Federal
e-mail: osteología@ciudad.com.ar

Referencias bibliográficas

1. GLIMCHER, M.J., *Metabolic Bone Disease and Clinically related disorders*, chapter 2, Ed. Avioli, L. and Stephen, S., Ac. Press, 3rd ed., 1998.
2. FLEISH, H., *Bifosfonatos en patología ósea. Del laboratorio al paciente*, The Parthenon Publishing Group INC, Nueva York, 1996.
3. OLSEN, B., *Primer on the Metabolic Bone Disease and Disorders of Mineral Metabolism*, third edition, Favus, M., Ed. Lippincott-Raven, Phil. Nueva York, 11-29, 1997.
4. KRESS, B., "Bone alkaline phosphatase: methods of quantitation and clinical utility", *J. Clin. Ligand Assay*, 21, 139-148, 1998.
5. DELMAS, P.D., "Biochemical markers of bone turnover", *J. Bone Miner Res.*, 8(S2), S549-S553, 1993.
6. GARNERO, P. and DELMAS, P.D., "Measurements of biochemical markers: methods and limitations", Bilezikian, J.P.; Raisz, L.G.; Rodan G.A. (eds.): *Principles of bone biology*, Academic Press, 1277-1289, Nueva York, 1996.
7. EYRE, D., "Biochemical basis of collagen metabolites as bone turnover markers", *Principles of Bone Biology*, Academic Press, 143-153, Nueva York, 1996.
8. DELMAS, P.D., "Biochemical markers for the assessment of bone turnover", Riggs, B.L.; Melton, L.J. (eds.), *Osteoporosis: Etiology, Diagnosis and Management*, 2nd ed., Lippincott-Raven, 319-333, Philadelphia Pa., 1995.
9. CALVO, M.S.; EYRE, D.R. and GUNDBERG, C.M., "Molecular basis and clinical application of biological markers of bone turnover", *Endocr. Rev.*, 17, 333-368, 1996.
10. GARNERO, P.; SORNAY-RENDU, E.; CHAPUY, M.C. and DELMAS, P., "Increased bone turnover in late postmenopausal women is a major determinant of osteoporosis", *J. Bone Miner Res.*, 11, 337-349, 1996.
11. BONDE, M.; QVIST, P.; FLEDELIUS, C.; RIIS, B.J. and CHRISTIANSEN, C., "Applications of an enzyme immunoassay for a new marker of bone resorption (Cross LapsTM) follow up on hormone replacement therapy, and osteoporosis risk assessment", *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 80, 864-868, 1995.
12. CHRISTGAU, S.; ROSENQUIST, C.; ALEXANDERSEN, P.; BJARNASON, N.N.; RAVN, P.; FLEDELIUS, C.; HERLING, C. QVIST, P. and CHRISTIANSEN, C., "Clinical evaluation of serum Cross-Laps on step ELISA, a new assay measuring the serum concentration of bone-derived degradation products of type I collagen C-telopeptides", *Clin. Chem.*, 44, 2290-2300, 1998.
13. FARLEY, J.R.; HALL, S.L. and LLACAS, D., "Quantification of skeletal alkaline phosphatase in osteoporotic serum by wheat germ

- agglutinin precipitation, heat inactivation, and a two-site immunoradiometric assay", *Clin. Chem.*, **40**, 1749-1756, 1994.
14. PROCKOP, D.J. and UDENFRIEND, S., "A specific method of the analysis of hidroxyproline in man", *J. Clin. Invest.*, **40**, 843-849, 1960.
15. DUDA, R.J.; O'BRIEN, J.F. and KATZMANN, J., "Concurrent assay of circulating bone gla-protein and bone alkaline phosphatase: effects of sex, age and metabolic bone disease", *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **66**, 951-957, 1988.
16. HADDAD, J.G. and CHYU, K.J., "Competitive protein-binding radioassay for 25 hydroxycholecalciferol", *J. Clin. Endocrinol.*, **33**, 992-996, 1971.
17. REINHARDT, T.A.; HORST, R.L.; ORF, J.W. and HOLLIS, B.W., "A microassay for 1,25 dihydroxyvitamin D not requiring high performance liquid chromatography: application to clinical studies", *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **58**, 91-98, 1984.
18. SEGRE, G.V.; SHERRARD, D.J. and CARLTON, E., "Use of the PTH (IRMA) assay in patients with impaired renal function and renal osteodystrophy", San Juan Capistrano, CA, Nichols Institute, 1, 1990.
19. ARNAUD, C.D.; TSAO, H.S. and LITLEDIKET, T., "Radioimmunoassay of human parathyroid hormone in serum", *J. Clin. Invest.*, **50**, 21-31, 1971.
20. ARNAUD, C.D., "Osteoporosis: using bone markers for diagnosis and monitoring", *Geriatrics*, **51**, 24-30, 1996.
21. ROBINS, S.; DUNCAN, A. and RIGGS, B., "Direct measurement of free hydroxypyridinium crosslinks of collagen in urine as a new markers of bone resorption in osteoporosis", Christiansen, C. and Overgaard, K. Eds., *Osteoporosis*, Osteopress Aps., 465-468, Copenhagen, 1990.
22. ROBINS, S.; WOITGE, H.; HESLEY, R.; JU, J.; SEYEDIN, S. and SEIBEL, M., "Direct, enzyme-linked immunoassay for urinary deoxypyridinoline as a specific marker for measuring bone resorption", *J. Bone Miner. Res.*, **9**, 1643-1649, 1994.
23. RAVN, P.; FLEDELIUS, C.; ROSENQUIST, C.; OVERGAARD, K. and CHRISTIANSEN, C., "High bone turnover is associated with low bone mass in both pre and postmenopausal women", *Bone*, **19**, 291-298, 1996.
24. GERTS, B.; SHAO, P.; HANSON, D.; QUAN, H.; HARRIS, S.; GENANT, H.; CHESNUT, C. and EYRE, D., "Monitoring bone resorption in early postmenopausal women by an immunoassay for cross-link collagen peptides in urine", *J. Bone Miner. Res.*, **9**, 135-142, 1994.
25. HANSON, D.; WEIS, M.A.; BOLLE, A.M.; MASLAN, S.; SINGER, F. and EYRE, D., "A specific immunoassay for monitoring human bone resorption: Quantitation of type I collagen cross-linked N-telopeptide in urine", *J. Bone Miner. Res.*, **7**, 1251-1258, 1992.
26. BONDE, M.; QVIST, P.; FLEDELIUS, C.; RIIS, B.J. and CHRISTIANSEN, C., "Immunoassay for quantifying type I collagen degradation products in urine evaluated", *Clin. Chem.*, **40**, 2022-2025, 1994.
27. GALLAGHER, S.; FRASER, W.; OWENS, O.; DRYBURGH, F.; LOGUE, F.; JENKINS, A.; KENNEDY, J. and BOYLE, I., "Changes in calciotropic hormones and biochemical markers of bone turnover in normal human pregnancy", *Eur. J. Endocrinol.*, **131**, 369-374, 1994.
28. KOVACS, C. and KRONENBER, G., "Maternal-fetal calcium and bone metabolism during pregnancy, puerperium and lactation", *Endocrinol. Rev.*, **18**, 832-872, 1997.
29. ALBRIGHT, F. and REIFENSTEIN, E.D., *Parathyroid Glands and Metabolic Bone Disease*, Williams and Wilkins, Baltimore, 1948.
30. JODAR GIMENO, E.; MUÑOZ TORRES, M.; ESCOBAR JIMÉNEZ, F.; QUESADA CHARNECO, M.; LUNA DEL CASTILLO, J.D. and OLEA, N., "Identification of metabolic bone disease in patients with endogenous hyperthyroidism: role of biological markers of bone turnover", *Calcif. Tissue Int.*, **61**, 370-376, 1997.
31. HARVEY, R.D.; MC HARDY, K.C.; REID, I.W.; PATERSON, F.; BEWSHER, P.D.; DUNCAN, A. and ROBINS, S.P., "Measurement of bone collagen degradation in hyperthyroidism and during thyroxine replacement therapy using pyridinium cross-links as specific urinary markers", *J. Clin. Endocrin. Metab.*, **72**, 1189-1194, 1991.
32. JODAR GIMENO, E.; MUÑOZ TORRES, M.; ESCOBAR JIMÉNEZ, F.; QUESADA, M.; LUNA, J.D. and OLEA, N., "Antiresorptive therapy in hyperthyroid patients: longitudinal changes in bone and mineral metabolism", *J. Clin. Endocrin. Metab.*, **82**, 198-201, 1997.
33. GARNERO, P.; VASSY, V.; BERTHOLIN, A.; RIOU, J.P. and DELMAS, P.D., "Markers of bone turnover in hyperthyroidism and the effects of treatment", *J. Clin. Endocrin. Metab.*, **78**, 955-959, 1994.
34. ROGER, A.I.; SUTTON, C. and CAMERON, E.C., "Renal Osteodystrophy: Patophysiology", *Seminars in Nephrology*, **12**, 91-100, 1992.
35. SCHMIDT-GAYK, N.; DRÜEKE, T. and RITZ, E., "Non invasive circulating indicators of bone metabolism in uraemic patients can they replace bone biopsy?", *Nephrol. Dial. Transplant.*, Editorial Comment., 1996.
36. IBRAHIM, S.; MOJIMINIYI, S. and BARRON, J.L., "Pyridinium crosslinks in patients on haemodialysis and continuous ambulatory peritoneal dialysis", *Nephrol. Dial. Transplant.*, **10**, 2290-2294, 1995.
37. UREÑA, P.; FERREIRA, A.; KUNG, V.; MORIEUX, C.; SIMON, P.; ANG, K.; SOUBERBIELLE, J.C.; SEGRE, G.; DRUEKE, T. and DE VERNEJOL, J.

- M.C., "Serum pyridinoline as a specific marker of collagen breakdown and bone metabolism in haemodialysis patients", *J. Bone Miner. Res.*, **10**, 932-939, 1995.
38. UREÑA, U.; HRUBY, M.; FERREIRA, A.; ANG, K. and DE VERNEJOL, M.C., "Plasma total versus bone alkaline phosphatase as markers of bone turnover in hemodialysis patients", *J. Am. Soc. Nephrol.*, **17**, 506-512, 1996.
39. SINGER, R.F. and KRANE, S.M., "Paget's Disease of bone", in *Metabolic bone disease*, Avioli, L. and Krane, S.M. eds., Academic Press Plenum, Nueva York, 1978.
40. ÁLVAREZ, L.; GUANABENS, N.; PERIS, P.; MONÉGAL, A.; BEDINI, J.L.; DEULOFEU, R.; OSABA, M.; MUÑOZ-GÓMEZ, J.; RIVERA-FILLAT, F. and BALLESTRA, A., "Discriminative values of biochemical markers of bone turnover in assessing the activity of Paget disease", *J. Bone Miner. Res.*, **10**, 458-465, 1995.
41. DEFTOS, L.; WOLFERT, L. and HILL, C.S., "Bone alkaline phosphatase in Paget disease", *Horm. Metab. Res.*, **23**, 559-561, 1991.
42. RUSSELL, R.G.G.; BEARD, D.J.; CAMERON, E.C.; DOUGLAS, D.L.; FORREST, A.R.W.; GUILLAND-CUMING, D.; POSER, A.D.; PRESTON, C.J.; MILFORD-WARD, A.; WOODHEAD, S. and KANIS, J.A., "Biochemical markers of bone turnover in Paget's disease", *Metab. Bone Dis. Rel. Res.*, **4** and **5**, 255-262, 1981.
43. GARNERO, P.; GINEYTS, E.; ARBAULT, P.; CHRISTIANSEN, C. and DELMAS, P., "Different effects of bisphosphonate and estrogen therapy on peptidebound bone crosslink excretion", *J. Bone Miner. Res.*, **10**, 641-649, 1995.
44. RANDALL, A.; KENT, G.; GARCIA-WEBB, P.; BHAGAT, C.; PEARCE, D.; GUTTERIDGE, D.; PRINCE, R.; STEWART, G.; STUCKEY, B.; WILL, R.; BETALLARCK, R.; PRICE, R. and WARD, L., "Comparison of biochemical markers of bone turnover in Paget's disease treated with pamidronate and a proposed model for the relationship between measurements of the different forms of pyridinoline crosslinks", *J. Bone Miner. Res.*, **11**, 1176-1184, 1996.
45. GARNERO, P.; FLEDELIUS, C.; GINE, C.M.; VIGNOT, E. and DELMAS, P., "Decreased β -isomerization of the C-terminal telopeptide of type I Collagen $\alpha 1$ chain in Paget's disease of bone", *J. Bone Miner. Res.*, **12**, 1407-1415, 1997.
46. CARACENI, M.; MOLteni, N.; BARDELLA, M.; ORTOLANI, A.; NOGARA, A. and BIANCHI, P., "Bone and mineral metabolism in adult celiac disease", *Am. J. Gastroenterology*, **83**, 27-37, 1988.
47. MAZURE, R.; VAZQUEZ, H.; GONZALEZ, D.; MAUTALEN, C.; SOIFER, G.; CATALDI, M.; MAURINO, E.; NIVELONI, S.; SICCARDI, A.M.; FLORES, D.; PEDREIRA, L.; BOERR, J. and BAI, J., "Bone mineral affection in asymptomatic adults patients with celiac disease", *Am. J. Gastroenterology*, **89**, 2130-2134, 1994.
48. MC FARLANE, X.; BHALLA, A.K.; REEVES, D.; MORGAN, L. and ROBERTSON, D., "Osteoporosis in treated adults with celiac disease", *Gut*, **36**, 710-714, 1995.