

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y
BIOQUIMICAS
INSTITUTO DE SERVICIOS DE LABORATORIO DE
DIAGNOSTICO E INVESTIGACION EN SALUD “SELADIS”



DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE ATEROGÉNICO Y SU
RELACIÓN CON LA OSTEOPENIA EN MUJERES
POST-MENOPÁUSICAS

Tesis de Post-grado para obtener el Título de Especialista en Diagnóstico de Laboratorio en
Salud, Mención Bioquímica Clínica.

POR: PAOLA VIRGINIA JAIMES CHÁVEZ

TUTOR: ROGER CARVAJAL SARAVIA, Ph.D.

LA PAZ – BOLIVIA

Junio, 2014

“Dedicatoria”

A mi familia por todo el apoyo
brindado.

A mis padres por su comprensión y
amor incondicional que hicieron todo
en la vida para que yo pudiera lograr
mis sueños, por motivarme y darme la
mano cuando sentía que el camino se
terminaba.

“AGRADECIMIENTOS”

- Le agradezco a Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera profesional, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo de felicidad
- Al INSTITUTO SELADIS por darme la oportunidad de estudiar este Post-grado y aportar en mi formación profesional.
- A mi tutor de tesis, Dr. Roger Carvajal por su esfuerzo y dedicación, quien con sus conocimientos, su experiencia, su paciencia y su motivación ha logrado que pueda terminar este trabajo con éxito.
- A la Dra. Katty Terrazas por haberme brindado la oportunidad de desarrollar este trabajo de tesis en instalaciones del laboratorio que dirige, por el apoyo y facilidades que se me fueron otorgadas.
- Son muchas las personas que han formado parte de mi vida profesional a las que me encantaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles de mi vida. Algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y en mi corazón, sin importar en donde estén quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones.
- Para ellos: Muchas gracias y que Dios los bendiga.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
I. INTRODUCCION	1
II. JUSTIFICACION	3
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	7
IV. ANTECEDENTES GENERALES DEL PROBLEMA EN ESTUDIO	9
V. MARCO TEORICO	12
A. LA MENOPAUSIA: FISIOLÓGÍA	12
1. Los estrógenos en la menopausia	13
2. Manifestaciones clínicas de la menopausia	15
a. Trastornos cardiovasculares	15
a.1 Aterosclerosis	17
a.2 Lipoproteínas plasmáticas y aterosclerosis	21
a.3 Tipos de Índices aterogénicos para la estratificación del riesgo cardiovascular	22
b. Trastornos sobre el sistema de formación y resorción ósea	24
b.1 Fisiología ósea	26
b.2 Células óseas	27
b.3 Remodelamiento óseo	33
b.4 Regulación del remodelamiento óseo	39
b.4.1. Regulación sistémica del remodelado óseo	40
b.4.2 Regulación local del remodelado óseo	42
b.4.3 Sistema RANK-RANKL-OPG	43
b.4.4. Regulación del sistema OPG/RANKL	45

b.5 Pérdida ósea y deficiencia estrogénica	46
b.5.1 Alteración en los niveles de citoquinas (IL-1, IL-6 y TNFα)	47
b.5.2 Etiopatogenia, factores de riesgo y clasificación de la osteoporosis	50
b.5.3. Osteoporosis postmenopáusica	52
b.6 El laboratorio como método auxiliar diagnóstico de osteoporosis	53
b.6.1 Marcadores de formación ósea	55
b.6.2 Marcadores de resorción ósea	60
b.6.3 Utilidad clínica de los Marcadores del Remodelamiento Óseo	68
b.6.4 Interpretación clínica de los Marcadores Bioquímicos Óseos	71
b.7 Osteoporosis y aterosclerosis	73
VI. OBJETIVOS	83
A. OBEJETIVO GENERAL	83
B. OBJETIVOS ESPECIFICOS	83
VII. HIPOTESIS	84
A. ESTRATEGIA DE EJECUCION.	84
VIII. OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES	84
IX. DISEÑO METOLOGICO	86
A. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	86
1. Tipo de investigación	86

2. Métodos generales de la investigación	86
B. DESCRIPCIÓN DEL ÁMBITO DE INVESTIGACIÓN	87
C. DETERMINACION DE LA POBLACION EN ESTUDIO	87
1. Descripción	87
2. Cálculo del tamaño muestral	89
D. EJECUCION DE LA RUTA CRITICA	89
E. ASPECTOS ETICOS	91
F. MATERIAL Y METODOS	92
1. Métodos para la determinación del Perfil lipídico, Hormonal y Marcadores óseos	92
a. Fundamento: Perfil Lipídico	92
b. Fundamento: Marcadores óseos y Hormonas del eje gonadal Femenino	95
c. Control de calidad preventivo	97
1) Criterios de practicabilidad	97
2) Criterios de confiabilidad	97
d. Determinación del Perfil lipídico, marcadores óseos y hormonas	99
1). Fase pre- analítica	100
2). Fase analítica	102
3). Fase post-analítica	104
2. Valores de referencia de los metabolitos determinados	105
G. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN	106
1. Recolección de datos	106
2. Elaboración	106
a. Etapa de revisión	106

b. Etapa de clasificación	107
c. Procesamiento estadístico y análisis de los datos	107
X. RESULTADOS	107
XI. DISCUSION	149
XII. CONCLUSIONES	174
XIII. RECOMENDACIONES	178
XVI. BIBLIOGRAFIA	
ANEXOS	

INDICE DE TABLAS

	Página
TABLA 1. Mecanismos de acción de los estrógenos	15
TABLA 2. Cambios del perfil lipídico en la menopausia	17
TABLA 3. Factores humorales y farmacológicos que actúan sobre las células óseas	27
TABLA 4. Factores de riesgo para la osteoporosis	50
TABLA 5. Marcadores bioquímicos óseos más utilizados	55
TABLA 6. Frecuencia y porcentaje de mujeres post-menopáusicas según grupos de Edades	108
TABLA 7. Frecuencia y porcentaje de mujeres post-menopáusicas según intervalos de Tiempo de post-menopausia	108
TABLA 8. Porcentaje de mujeres post-menopáusicas que presentan DMO (Densitometría ósea) Normal, osteopenia leve, moderada y severa de columna, femorales izquierdo y derecho	109
TABLA 9. Promedio de la concentración de los Marcadores bioquímicos de Remodelado óseo en el grupo de mujeres en edad fértil y en el grupo de estudio (mujeres post-menopáusicas)	110
TABLA 10. Promedio de la concentración del Perfil lipídico en el grupo de mujeres en edad fértil y en el grupo de estudio (mujeres post-menopáusicas)	111
TABLA 11. Análisis de correlación entre Marcadores de Remodelado Óseo y Densitometría Ósea (DMO) en la población de estudio	119
TABLA 12. Tabla de contingencia entre el promedio de las DMO's y el Marcador de Formación Fosfatasa Alcalina (BAP)	124
TABLA 13. Tabla de contingencia entre el promedio de las DMO's y el Marcador de Formación Osteocalcina (OC)	125

TABLA 14. Tabla de contingencia entre el promedio de las DMO's y el Marcador de Formación Propéptido Carboxilo Terminal del Colágeno tipo I (CICP)	125
TABLA 15. Tabla de contingencia entre el promedio de las DMO's y el Marcador de Resorción Fosfatasa Ácida Tartrato Resistente (TRAP)	126
TABLA 16. Tabla de contingencia entre el promedio de las DMO's y el Marcador de Resorción Telopéptido Amino-terminal del Colágeno tipo I (NTx)	127
TABLA 17. Tabla de contingencia entre el promedio de las DMO's y el Marcador de Resorción Piridinolinas (PYD)	127
TABLA 18. Correlación entre Marcadores de Remodelado óseo vs Edad y Tiempo de Post-menopausia	132
TABLA 19. Correlaciones entre las DMO's (columna, cuellos femorales izquierdo y derecho) con la Edad y Tiempo de post-menopausia	135
TABLA 20. Correlación entre Marcadores de Remodelado óseo y Perfil Lipídico en la población de estudio	143
TABLA 21. Correlación entre el Perfil Lipídico y las DMO's de columna y cuellos femorales derecho e izquierdo	145
TABLA 22. Análisis de correlación entre Marcadores de Remodelado Óseo y Hormonas del Eje gonadal femenino en la población de estudio	146
TABLA 23. Correlacion entre Hormonas del eje gonadal femenino con la Edad y Tiempo de post-menopausia	148

INDICE DE FIGURAS

	Pagina
FIGURA 1. Mecanismo de protección de los estrógenos	14
FIGURA 2. Acciones periféricas de los estrógenos	14
FIGURA 3. Acontecimientos iniciales de la estría grasa	18
FIGURA 4. Lesiones avanzadas: ruptura de la placa fibrosa y trombosis	19
FIGURA 5. Conformación de una lipoproteína	21
FIGURA 6. Papel regulador de los estrógenos y progesterona, sobre el proceso de remodelación ósea	24
FIGURA 7. Representación esquemática de un osteoblasto	28
FIGURA 8. Morfología de un osteoclasto	29
FIGURA 9. Imagen superior: Representación esquemática de un osteoclasto	30
FIGURA 10. Maquinaria molecular dentro del osteoclasto, involucrada en la disolución de la matriz inorgánica y orgánica del hueso	31
FIGURA 11. Unidad de remodelamiento óseo	34
FIGURA 12. Fases del remodelado óseo en la superficie del hueso trabecular. Origen y localización de las células óseas	35
FIGURA 13. Enzimas implicadas en la actividad del osteoclasto	36
FIGURA 14. Efectos estrogénicos sobre el remodelado óseo, a nivel sistémico	42
FIGURA 15. Acciones de OPG y RANKL sobre osteoclastos y células Osteoblásticas	44
FIGURA 16. Sistema RANK-RANKL-OPG	45
FIGURA 17. Criterios diagnósticos de osteoporosis de la OMS	50
FIGURA 18. Diagrama que muestra la erosión producida por los osteoclastos a la matriz ósea	55
FIGURA 19. Metabolismo de la osteocalcina	59
FIGURA 20. Fracciones propeptídicas del colágeno tipo I	61
FIGURA 21. Productos de entrecruzamiento del colágeno tipo I (Pir y D-Pir)	63
FIGURA 22. Telopéptidos carboxilo (C-) y amino (N-) terminal del colágeno tipo I	66

FIGURA 23. Posible mecanismo de relación entre el remodelado óseo y la placa aterosclerótica	79
FIGURA 24. Mecanismos fisiopatológicos comunes en la calcificación vascular y osteoporosis	82
FIGURA 25. Promedio +/- 1D.S. de la Concentración de los Marcadores de Formación y de Resorción en las Mujeres Post-menopáusicas y en las Mujeres en edad Fértil participantes en el estudio	113
FIGURA 26. Promedio +/- 1 D.S. del valor del Score T de las DMO's en columna y cuellos femorales Izquierdo y Derecho en las mujeres Post-menopáusicas	114
FIGURA 27. Número de Marcadores de Remodelado Óseo en la población en estudio	114
FIGURA 28. Regresión lineal entre las DMO's de columna, cuello femoral izquierdo y derecho vs Marcadores de Formación ósea	116
FIGURA 29. Regresión lineal entre las DMO's de columna, cuello femoral izquierdo y derecho vs Marcadores de Resorción ósea	117
FIGURA 30. Regresión lineal entre la concentración de NTx nM ECO y el promedio de las DMO's (columna y femorales derecho e izquierdo) en la población en estudio	120
FIGURA 31. Regresión lineal entre la concentración de PYD nmol/l y el promedio de las DMO's (columna y femorales derecho e izquierdo) en la población en estudio	121
FIGURA 32. Regresión lineal entre el logaritmo de la concentración de PYD nmol/l y el promedio de las DMO's (columna y femorales derecho e izquierdo) en la población en estudio	122
FIGURA 33. Porcentaje de la Dinámica de incremento de los Marcadores de Resorción Ósea según Edad (33a) y Tiempo transcurrido de post-menopausia (33b)	129
FIGURA 34. Porcentaje de la dinámica de decremento de los Marcadores de Formación ósea según Edad (34a) y según el Tiempo transcurrido de post-menopausia (34b)	131
FIGURA 35. Regresión lineal entre dos Marcadores de Remodelado óseo	

(CICP y TRAP) con la Edad en la poblacion en estudio	133
FIGURA 36. Regression lineal entre dos Marcadores Bioquimicos de Remodelado óseo (CICP Y PYD) y el Tiempo transcurrido de post-menopausia en la poblacion en estudio y el promedio de CICP +/-1DS y PYD +/- 1DS (Figs. 36a y 36c) de las mujeres en edad fértil	134
FIGURA 37. Promedio de las DMO's (columna, femorales izquierdo y derecho) y Desviación Estándar según Edad (37a) y según el Tiempo transcurrido de post-menopausia (37b)	136
FIGURA 38. Regresión lineal entre el Colesterol total y los marcadores bioquímicos de remodelado óseo en la población en estudio y el promedio	137
FIGURA 39. TRAP vs Colesterol (Fig. 39a). TRAP vs LDL (Fig.39b). TRAP vs Indice aterogénico	139
FIGURA 40. Regression lineal entre el LDL-colesterol y los Marcadores Bioquimicos de remodelado óseo en la poblacion en estudio y el promedio +/-1DS de los marcadores de remodelado óseo, a partir de mujeres en edad fértil	140
FIGURA 41. Regression lineal entre el Indice Aterogénico y Marcadores Bioquimicos de Resorción ósea en la poblacion en estudio y el promedio de los Marcadores de Remodelado Oseo +/- 1DS en mujeres en edad fértil	142
FIGURA 42. Regression lineal entre el estradiol y Marcadores Bioquimicos de Remodelado óseo en la poblacion e estudio	147
FIGURA 43. Decremento de la concentración de Estradiol según Edad (43a) y según el Tiempo transcurrido de post-menopausia (43b)	149

“DETERMINACION DEL INDICE ATEROGENICO Y SU RELACION CON LA OSTEOPENIA EN MUJERES POST-MENOPAUSICAS”

RESUMEN

La aterosclerosis y la osteoporosis son dos de las enfermedades crónicas más frecuentes a nivel mundial, especialmente en mujeres climatéricas y la frecuencia de que ambas patologías se den simultáneamente en un mismo individuo va en crecimiento. La relación entre ambos procesos, está dada porque estos tienen elementos comunes vinculados con la reducción del Estradiol (característica importante en mujeres post-menopáusicas), como génesis de esta correlación. En este sentido, se pretende mostrar la relación a nivel metabólico-molecular entre el impacto cardiovascular mediante el Índice aterogénico y el impacto de la osteopenia/osteoporosis, a través de la determinación de los Marcadores Bioquímicos óseos, para así determinar nexos entre ambas entidades, que en un futuro coadyuven a establecer líneas de prevención y tratamiento para ambas.

Para tal efecto, se estudiaron en total 60 mujeres post-menopáusicas, en las cuales se determinó la relación entre el proceso aterogénico por alteraciones en el metabolismo lipídico y los cambios en la regulación del metabolismo óseo, mediante Marcadores Bioquímicos de Remodelado óseo investigados en el laboratorio, como también los cambios en el proceso de resorción principalmente causada por el déficit de estrógenos, en este sentido también se evaluó la correlación de ambos tipos de marcadores con los niveles de las hormonas del eje gonadal. Sabiendo que la DMO tiene el antecedente de ser un procedimiento ya validado en nuestro medio, su ejecución permitió determinar el Score T que fue importante como parámetro de referencia para evaluar o al menos constatar lo obtenido con los procedimientos bioquímicos. Se pudo determinar, que los Marcadores de Formación (BAP, OC y CICP), presentaron baja magnitud con la DMO (densitometría osea) en columna, y ostensiblemente más elevada con cuellos femorales izquierdo y derecho. Por otra parte, los Marcadores de Resorción, excepto TRAP presentaron una estrecha correlación negativa con las DMO's medidas en columna, cuello femoral izquierdo y cuello femoral derecho.

Esta correlación entre DMO y los Marcadores bioquímicos óseos permitieron detectar la existencia de dos poblaciones definidas, mediante puntos de corte, por encima de las cuales destacan aquellas mujeres con un claro incremento de los Marcadores de Resorción ósea, pese a presentar una DMO que refleja osteopenia leve o moderada, lo cual podría constituir un criterio para detectar de manera temprana la pérdida de masa ósea en estas pacientes. Tal es el caso principalmente de los Marcadores de Resorción NTx y PYD, que se caracterizaron por su alta sensibilidad y especificidad respecto a los demás marcadores óseos, y presentaron niveles elevados en parte importante de las mujeres estudiadas, las cuales presentaban aun Osteopenia leve e incluso normal por DMO. Afirmando que, según este estudio, los Marcadores Bioquímicos reflejan con ventaja el estado del tejido óseo a corto plazo.

La correlación de los Marcadores óseos con las hormonas del perfil gonadal femenino (Estradiol, LH y FSH) se expresó de manera apreciable solo con los niveles de estradiol, lo cual se atribuye a que otros factores como el estilo de vida, hábitos y alimentación entre otros, aparte de la variabilidad hormonal, participan en el incremento de la velocidad de pérdida de hueso

La correlación que se obtuvo entre los Marcadores Óseos con el Perfil Lipídico fue importante con el Colesterol total, LDL-colesterol, y muy leve con el Índice aterogénico, excluyéndose este último como un factor común entre ambos procesos. Debido a que la Fracción LDL-colesterol, participa de manera importante en todos los mecanismos comunes que comparten tanto el metabolismo óseo como el lipídico, en los cuales está involucrado, junto con una serie de rutas y mediadores, en ambos procesos. Por lo que los vínculos entre Osteoporosis y Enfermedad Cardiovascular, tienen a los Estrógenos como el principal aunque no el único factor desencadenante de diversos eventos bioquímicos e inmunológicos, que dan lugar, finalmente a la desmineralización ósea y la mineralización arterial, hechos denominados de manera conjunta como: La Paradoja del Calcio.

Palabras claves: *Índice aterogénico, aterosclerosis, osteopenia, marcadores bioquímicos óseos, post-menopausia.*

“DETERMINATION OF THE ATHEROGENIC INDEX AND ITS RELATIONSHIP WITH OSTEOPENIA IN POST-MENOPAUSAL WOMEN”

SUMMARY

Atherosclerosis and osteoporosis are two of the most common chronic diseases worldwide, especially in perimenopausal women and the frequency of both disorders occur simultaneously in the same individual is growing. The relationship between both processes is given because they have common elements related to the reduction of Estradiol (important feature in post-menopausal women), as the genesis of this correlation. In this sense, it is intended to show the relationship between metabolic-cardiovascular molecular level impact by atherogenic index and the impact of osteopenia / osteoporosis, through the determination of biochemical bone markers, to determine links between the two entities, contribute in the future to establish lines for both prevention and treatment.

To this end, we studied a total of 60 postmenopausal women, in which the relationship between the atherogenic process was determined by alterations in lipid metabolism and changes in the regulation of bone metabolism by Biochemical Markers of Bone remodeling investigated in laboratory, as well as changes in the absorption process mainly caused by estrogen deficiency, in this sense the correlation of both types of markers and levels of gonadal hormones were also evaluated.

Knowing that BMD has a history of being a method and validated in our setting, implementation allowed us to determine the T Score was important as a benchmark to evaluate or at least confirm what obtained with biochemical procedures. It was determined that the formation markers (BAP, OC and CICP) showed low magnitude with BMD (bone densitometry) in spine and markedly higher with left and right femoral neck. Moreover, the resorption markers except TRAP showed a close negative correlation with BMD's measures column, left right femoral neck and femoral neck.

This correlation between BMD and biochemical bone markers allowed to detect the existence of two distinct populations, using cutoff points above which include women with a clear increase in bone resorption markers, while showing BMD reflecting mild osteopenia moderate, which could be a criterion for the early detection of bone loss in these patients. This applies mainly to the resorption markers NTx and PYD, which were characterized by high sensitivity and specificity compared to the other bone markers, and showed high levels in an important part of the women studied, which showed even mild Osteopenia and even standard for normal BMD. Affirming that, according to this study, the advantage Biochemical markers reflect bone status in the short term.

The correlation of bone markers with female gonadal hormone profile (Estradiol, LH and FSH) was expressed appreciably only with the levels of estradiol, which is attributed to other factors such as lifestyle and food habits between others besides hormone variability involved in speed would increase bone loss.

The correlation was obtained between Bone Markers with Lipid Profile was important to total cholesterol, LDL-cholesterol, and very mild with the atherogenic index, excluding the latter as a common factor between the two processes. Because the fraction LDL-cholesterol plays a major role in all common mechanisms shared by both bone and lipidic metabolism, in which it is involved, along with a number of routes and mediators, in both processes.

As the links between osteoporosis and cardiovascular disease, have Estrogens as the main but not the only trigger for various biochemical and immunological events that lead eventually to bone demineralization and blood mineralization, made jointly called factor as: the Calcium Paradox.

Keywords: *Atherogenic Index, atherosclerosis, osteopenia, bone biochemical markers, post-menopause.*

I. INTRODUCCION

El reloj biológico en el sexo femenino, incluye diversos cambios en el perfil hormonal, particularmente en los esteroides vinculados a la esfera sexual. Cuando la mujer envejece involucionan todas las glándulas endocrinas. Esto se produce como parte del impacto del estrés oxidativo ligado a la formación de radicales libres y al estado de los sistemas protectores anti-radicales que caracterizan al proceso del envejecimiento.

De acuerdo con las estimaciones de la Organización Mundial de la Salud, la esperanza de vida en todo el mundo para finales del siglo XX era de 65 años, debido a los cambios epidemiológicos y demográficos se ha determinado un incremento en la esperanza de vida en la población, especialmente de las mujeres y las proyecciones sugieren que para el 2025, se acerque a los 70 años de edad. De acuerdo con estos datos, se calcula que para 2025, 20% de la población mundial tendrá 60 años de edad o más. De esta manera, en la actualidad la esperanza de vida en los países industrializados es de 75 años y casi 90% de las mujeres alcanzan la edad de 65 años y 30% los 80.¹²

En las mujeres latinoamericanas, el 27% se encuentra entre los 40 y 64 años y en Bolivia, según los datos del Instituto Nacional de Estadísticas (INE) de acuerdo al último censo de población y vivienda en el año 2012 la esperanza de vida es aproximadamente de 69 años, lo cual sugiere que el número de mujeres climatéricas es bastante considerable.¹⁸

El **Climaterio** es el periodo de la vida de la mujer que va desde la madurez sexual hasta la senectud. Este tránsito es paulatino, progresivo y centrado por un fenómeno puntual, la pérdida de la menstruación o **menopausia**. La pre-menopausia tiene un comienzo difuso; la peri menopausia es un periodo problemático de la vida de la mujer, en el que cada día es más evidente que existe modificaciones biológicas, endocrinológicas y moleculares que tendrán repercusiones en diferentes órganos y sistemas con diversas expresiones clínicas, las mismas que son susceptibles de ser tratadas.

La menopausia ocurre, en promedio, a los 50 años de edad; los únicos datos disponibles de instituciones nacionales de mujeres en la etapa de la menopausia, fueron del: Servicio

Departamental de Salud (SEDES), según el cual se estima que 575 000 de las mujeres se encontraría entre los 45 a 55 años, que comprende la etapa menopáusica. Según el VII Congreso de la Federación Latinoamericana de Sociedades de Climaterio y Menopausia y el VII Congreso Nacional de la Asociación Boliviana de Climaterio y Menopausia realizado en el 2013, aproximadamente 758 975 (15%) de las mujeres respecto a la población total de mujeres se encontraría en la menopausia. Viéndose afectadas por la aparición de enfermedades crónico-degenerativos como osteoporosis, enfermedad cardiovascular artero-esclerosa, atrofia genitourinaria y alteraciones neurológicas, originando en ellas deterioro de la calidad de vida e incremento en la morbi-mortalidad en general.⁴²

En este trabajo de investigación, se abordará dos de estas entidades y la relación existente entre ambas: osteoporosis y enfermedad cardiovascular, la primera es la causa más importante de morbilidad, afectando cada año alrededor de 5'000.000 de mujeres mayores de 60 años⁴², esto debido a alteraciones en la remodelación ósea, perdiendo la tercera parte del contenido mineral del hueso, dando lugar a osteoporosis y riesgo posterior de fracturas.

La segunda entidad; la obstrucción aterosclerótica, es otra de las principales entidades causante de muerte en mujeres occidentales, la prevalencia de enfermedad cardíaca coronaria se incrementa después de la menopausia, y el perfil lipídico varía en forma paralela al incremento del colesterol, lipoproteína de baja densidad y triglicéridos. De este modo se considera que las enfermedades cardiovasculares son una de las principales causas de muerte en las mujeres especialmente occidentales. La mortalidad femenina debido a enfermedad coronaria aterosclerótica es la primera causa de mortalidad en el mundo occidental y América Latina con un 91%; seguida con un 9% por causa de cáncer de mama, cáncer de endometrio (1%) y fractura de cadera (1%)¹⁵

En Bolivia Instituciones de nuestro medio, donde acude la mayoría de las mujeres en esta etapa del climaterio, como el Hospital de la Mujer y la Caja Nacional de Salud (Hospital obrero, Hospital materno infantil), no cuentan con datos de prevalencia de la relación entre ambas patologías; por esta razón la prevalencia que se tomó en cuenta fue

de aquellos datos disponibles de países vecinos como Chile, donde la prevalencia encontrada según estudios en ese país fue del 4%.

Aunque tradicionalmente estas patologías se han considerado como procesos independientes, cada vez existe una evidencia más sólida que confirma que ambas entidades, comparten mecanismos fisiopatológicos, por lo que deberían ser parte de un diagnóstico compartido. Frente a una u otra enfermedad se deben estudiar las coincidencias y las situaciones que anticipen la presencia de la otra patología.

Por esta razón, el presente trabajo pretende mostrar la relación a nivel metabólico-molecular entre el impacto cardiovascular mediante el índice aterogénico y el impacto de la osteopenia/osteoporosis, a través de la determinación de los marcadores bioquímicos óseos, para así determinar nexos entre ambas entidades, que en un futuro coadyuven a establecer líneas de prevención y tratamiento para ambas.

La relación entre calcificación vascular y pérdida de hueso está siendo profundamente estudiada en la actualidad en países Latino americanos como Argentina y Chile, donde se han establecido líneas de investigación acerca de esta relación, especialmente mediante estudios imagenológicos, sin embargo, no así mediante marcadores bioquímicos; por lo que la relación encontrada entre osteoporosis y arteriosclerosis en ciertos casos no es casualidad ni coincidencia. La osteoporosis acarrea un riesgo aumentado de episodios cardiovasculares, proporcional a la gravedad de la osteoporosis. Es decir, se unen dos ataques: el ataque cardíaco y el ataque al hueso, por lo que el tratamiento de la osteoporosis debe incluir medidas para prevenir las consecuencias cardiovasculares.

II. JUSTIFICACIÓN.

La aterosclerosis y la osteoporosis, dos de las enfermedades crónicas más prevalentes del mundo; y que originan la mayor parte de la morbimortalidad en adultos mayores, sigue en aumento². Ambas entidades pertenecen al grupo de “Enfermedades crónicas no

transmisibles del adulto” y en nuestro medio ocupan un lugar preponderante según el ministerio de salud, como causa de muerte en poblaciones como la nuestra, que están en transición demográfica, debido al incremento de la expectativa de vida de acuerdo al censo de población y vivienda 2012. Afectando negativamente la calidad de vida de estas pacientes, dado que gran parte de ellas son incapaces de retomar una vida normal en cuanto a las actividades del diario vivir y que un subgrupo requiere de asistencia profesional hasta el momento de su muerte.

Según el servicio departamental de salud, no existen datos disponibles acerca de políticas dirigidas a ambas patologías en común. Justifican que debido al proceso de transición demográfica existe una creciente población mayor de 65 años; por lo que la prolongación de la expectativa de vida especialmente a esta edad sitúa solo a la osteoporosis como uno de nuestros principales problemas de Salud Pública. Pese a esto, los costos directos atribuibles a la osteoporosis para 2010 fueron estimados en solamente 14 000 bolivianos para campañas prevención y exámenes de DMO gratuitos en algunos casos. No obstante, debido a los datos de crecimiento demográfico, la Sociedad Boliviana del Climaterio y Menopausia insiste en concentrar la atención en población de edad madura a avanzada, principalmente femenina cercana a los 50 años de edad, altamente susceptible, a las denominadas enfermedades silenciosas del siglo XX como son la Osteoporosis y los episodios cardiovasculares.

Sin embargo, ya es conocido que estas dos patologías comparten factores de riesgo que podrían justificar la asociación que existe entre ambas. Entre ellos destacan la edad, la depleción estrogénica, el sedentarismo, el consumo de alcohol y tabaco y factores dietéticos como la ingesta cálcica, el consumo de ácidos grasos saturados y concentraciones deficitarias de vitamina C y K. Es por esto que en los últimos años se ha despertado gran interés en la investigación de los factores y mecanismos comunes implicados en la fisiopatología de ambas entidades, especialmente en mujeres.

Ya que actualmente, la mujer ocupa un lugar preponderante dentro de la sociedad y permanece activa hasta edades más avanzadas, un número creciente de mujeres, debe

afrentar los síntomas del climaterio y la exposición a problemas de salud poco usuales entre las mujeres hasta hace unas décadas, como son el infarto agudo de miocardio, los eventos cerebro vasculares y las fracturas óseas. Es posible, que la osteoporosis acarree un riesgo aumentado de episodios cardiovasculares, donde se involucran, una serie de procesos metabólico-moleculares complejos; como ser: la biosíntesis del colesterol, la oxidación lipídica y el proceso dinámico de aposición/resorción ósea. Por lo que la búsqueda de sustancias con acciones beneficiosas sobre ambos blancos es una línea actual de investigación.

Los vínculos existentes entre la osteoporosis y las enfermedades cardiovasculares (ECV), incluyen la asociación epidemiológica entre la reducción de masa ósea y el aumento de estas enfermedades cardiovasculares con la edad, conocida como paradoja del calcio, de desmineralización ósea y mineralización arterial. Se puede referir también, la presencia en arterias calcificadas de hidroxapatita, proteínas óseas y otros factores segregados por células de la línea ósea osteoblástica y el déficit de estrógenos que propicia tanto la aterosclerosis, causa subyacente de ECV, como la osteoporosis primaria⁴⁴

Por otra parte, la pared arterial contiene células capaces de comportarse como células óseas (osteoblastos y osteoclastos), al igual que el tejido óseo contiene células endoteliales. La hipercolesterolemia y los lípidos oxidados promueven la diferenciación osteoblástica de las células vasculares e inhiben la diferenciación de los osteoblastos en el hueso, activando los osteoclastos y aumentando la resorción ósea, eventos que podrían explicar la paradoja del calcio y que sustentan que los antioxidantes y las estatinas muestren efectos antiosteoporóticos.⁸³

Los nexos entre ECV y osteoporosis abren perspectivas para terapias que actúen de modo favorable y simultáneo sobre el tejido vascular y óseo, como resultado del pleiotropismo de su acción y de las interacciones entre los sistemas corporales.⁸³

Considerando entonces que ambas entidades serian parte de un diagnóstico y prevención compartido, el tratamiento de la osteoporosis debe incluir medidas para prevenir las consecuencias cardiovasculares.

En este sentido, estas entidades se convierten en un problema de salud que deteriora la calidad de vida de la mujer, por lo que es imprescindible realizar estudios en nuestra población tratando esta condición con un adecuado manejo y mejor conocimiento de mecanismos fisiopatológicos comunes a ambas entidades; para poder en el futuro ayudar en el desarrollo de fármacos activos sobre el metabolismo óseo y la enfermedad cardiovascular.

Tomando en cuenta lo expuesto anteriormente y la revisión de la literatura científica sobre este campo; las relaciones estudiadas entre el proceso aterogénico por alteraciones en el metabolismo lipídico y los cambios en la regulación del metabolismo óseo, han considerado la medición de este último proceso biológico, principalmente a través de la determinación de la masa ósea por métodos imagenológicos (Densitometría). Como se sabe, este procedimiento presenta dificultades relacionadas con la precisión que otorga el método y con la correlación entre el proceso de pérdida de los componentes bioquímicos del hueso y su manifestación en la imagen densitométrica en términos de tiempo real ⁷². No se ha reportado la correlación entre estos dos procesos midiendo los cambios en la osteogénesis/osteoclastogénesis mediante procedimientos bioquímicos que otorguen mayor precisión y confiabilidad. Estos procedimientos en la actualidad están siendo utilizados en el ámbito clínico como predictores tempranos de la pérdida de masa ósea, los mismos que establecen con mayor precisión y anticipación los cambios en el proceso de resorción principalmente en la menopausia, causada por el déficit de estrógenos. Por lo anterior, en este estudio se establece la correlación entre los cambios del metabolismo lipídico y los del proceso de aposición/resorción óseo en mujeres postmenopáusicas, medidos, estos últimos por marcadores bioquímicos de remodelado óseo investigados en laboratorio. En este mismo orden, en el entendido de que ambos

procesos están determinados por los cambios hormonales, en este estudio también se evaluó la correlación de ambos tipos de marcadores con los niveles de las hormonas del eje gonadal.

La importancia de este estudio radica en todo lo dicho anteriormente; por lo que contribuirá, a detectar alteraciones estructurales y funcionales del hueso, siendo de práctica clínica en el diagnóstico, la elección terapéutica, y la prevención de las enfermedades óseas aplicables a mujeres que inician esta etapa biológica. Tener un mejor conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos comunes a ambas entidades para ayudar al desarrollo futuro de fármacos activos sobre el metabolismo óseo y la enfermedad cardiovascular, y así alertar al plantel médico y a las mujeres en esta etapa para intervenir en el estilo de vida y así disminuir el riesgo de este tipo de enfermedades.

Por último aportar a la prestación de servicios del Instituto SELADIS, implementando un método para la determinación de marcadores óseos como medida preventiva de pérdida de masa ósea. Ya que según la Sociedad Boliviana del Climaterio el 47.1% de mujeres de edad madura a avanzada (45 – 65) aproximadamente ingresan ya con fractura de cadera. Lo cual indicaría que actualmente, debido a las políticas de prevención, el número de pacientes que solicitan esta prueba sería cada vez mayor. Por lo que la demanda de esta prueba imagenológica se incrementaría, lo cual indicaría que los marcadores bioquímicos óseos ofrecerían un mayor beneficio en cuanto al costo, además que estos podrían utilizarse de manera más efectiva para el control de tratamiento por determinarse en menos tiempo (dos a tres meses).

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Al ser la aterosclerosis y la osteoporosis dos de las enfermedades crónicas más prevalentes a nivel mundial, afectando cada año alrededor de 5'000.000 de mujeres en el

caso de la osteoporosis y 36000 mujeres en el caso de la aterosclerosis, en ambos casos mujeres mayores de 50 años; estudios recientes indagan la posible relación multifactorial entre ellas.³³ Como se mencionó anteriormente, es necesario realizar estudios donde se investigue la prevalencia de estas entidades en nuestro medio ya que, Instituciones nacionales no cuentan con estos datos.

Dado que la osteoporosis podría ser un marcador de riesgo de mortalidad por enfermedad aterosclerótica, la probabilidad de que ambas entidades se presenten en un mismo individuo va en aumento, con una prevalencia del 4% según estudios realizados en países vecinos como Perú y Chile³³ (se estimaría similares datos en Bolivia, aunque no existen datos estadísticos en nuestro país respecto al tema). Por lo que queda clara la importancia de realizar una investigación dirigida, a coadyuvar en el esclarecimiento de la relación entre ambas entidades, a partir del estudio de ambos metabolismos, tanto lipídico como óseo, mediante la determinación del perfil lipídico y marcadores bioquímicos óseos respectivamente. Siendo estos últimos, los que reflejan de manera más fidedigna, la dinámica de aposición/resorción ósea.

Por lo tanto, al considerar que el riesgo de desarrollar osteoporosis y enfermedades cardiovasculares se va incrementando significativamente en mujeres climatéricas y si se detectase alteración en uno de los procesos podría suponerse que exista alteración en el otro; se ve la importancia de determinar la relación entre el índice aterogénico como principal indicador de aterogénesis y su relación con la osteopenia; por lo que se planteó la siguiente **pregunta de investigación:**

¿Cuál es la relación entre el índice aterogénico y osteopenia en mujeres postmenopáusicas que asisten a consulta ginecológica?

IV. ANTECEDENTES GENERALES DEL PROBLEMA EN ESTUDIO.

El conocimiento de los nexos entre la patología vascular y el metabolismo óseo a través de mecanismos fisiopatológicos comunes compartidos, es sin duda el campo en el que más se ha avanzado, especialmente en los aspectos referentes a lo que ocurre en las mujeres después de la menopausia. Según varios estudios, entre los que más destaca es el de Raisz L.G. et al,¹⁰⁶ donde se demostró que proteínas producidas por las células óseas, como osteocalcina (OC), osteopontina, osteoprotegerina (OPG), el ligando del receptor activador del factor nuclear kappa-β (RANKL) y las proteínas morfogenéticas óseas (BMPs), están presentes en lesiones ateroscleróticas. Así mismo se encontró la presencia de células de estirpe osteoblástica en la pared vascular. Esto debido a que tanto la pared de la arteria y la osteona del hueso cortical tienen lúmenes comunes y alineados. Por otra parte, se ha demostrado que la placa calcificada tiene numerosos elementos celulares y moleculares que participan en la formación de hueso, incluyendo la proteína morfogenética-2 del hueso, el colágeno 1, osteonectina, osteopontina, proteínas Gla de la matriz, la osteocalcina y la osteoprotegerina.

En el pasado, la calcificación vascular se consideraba un proceso pasivo, secundario a la degeneración inherente a la edad. Sin embargo, ahora se lo entiende como un proceso activo y regulado de manera similar a la formación ósea; por tanto, puede ser objeto de una intervención para prevención.

La coincidencia clínica de la enfermedad vascular y la osteoporosis indica que existen mediadores comunes que afectan de manera adversa y similar al metabolismo óseo y a la integridad vascular, así según Gupta y Aronow⁵⁴, revisando las historias clínicas de 102 mujeres posmenopáusicas, pusieron de manifiesto que la enfermedad vascular aterosclerótica estuvo presente en el 51% de las mujeres con osteoporosis u osteopenia, medida por DEXA. A su vez, Tamaki. et al,¹³³ encontraron asociación entre la osteoporosis y la aterosclerosis carotídea después de la menopausia, al observar un

incremento progresivo del indicador de lesión aterosclerótica precoz a medida que disminuía la DMO.

A finales de 1990 Schulz¹²⁵ propuso la hipótesis sobre la relación entre aterosclerosis y osteoporosis, el estudio se realizó sobre una base de más de 4.000 pacientes, entre quienes se seleccionó y analizó a las que tenían osteoporosis sin causas secundarias y se correlacionó con calcificación aórtica. Al analizar los datos en forma transversal y longitudinal, se observó que a menor masa ósea había mayor calcificación ateromatosa. En trabajos posteriores, al ajustar la calcificación aórtica por edad se ha demostrado que predice en 26% la densidad mineral ósea y que las mujeres con calcificación aórtica tienen 4,8 veces más fracturas vertebrales y 2,9 veces más fracturas de cadera que las mujeres sin calcificación aórtica, lo que señala que ésta alteración vascular es un marcador de osteoporosis.¹⁸

Existe también una interrelación entre los marcadores de arterosclerosis y la enfermedad ósea. Así, la mayoría de los estudios transversales han descrito una asociación inversa entre la presencia, la intensidad y la progresión de la calcificación a nivel de aorta abdominal y la masa ósea a nivel lumbar y femoral, tanto en mujeres posmenopáusicas como en varones.¹¹¹ Además, la calcificación aórtica se asocia a un mayor riesgo de fractura de cadera en mujeres posmenopáusicas. La ateromatosis carotídea, otro marcador de enfermedad cardiovascular, se ha asociado con una menor masa ósea en mujeres posmenopáusicas y con un aumento del riesgo de fractura no vertebral. De forma análoga, la presencia de fractura vertebral se asocia a un mayor riesgo de presentar placa carotídea en mujeres post-menopáusicas con DMO; por su parte la pérdida de masa ósea medida en metacarpo está asociada con la progresión de la aterosclerosis aórtica en mujeres.¹⁸

En otro estudio, Luegmayer E demostró la existencia de una producción aumentada de IL-1 y TNF α por monocitos en mujeres ovariectomizadas, y que estos niveles

disminuían si se les administraban estrógenos⁷⁶ En ratas ovariectomizadas, también se producía un aumento en los niveles de IL-1 y TNF α y, tras el tratamiento con inhibidores de la IL-1 y TNF α , disminuía de la pérdida ósea inducida por la ovariectomía¹²⁴. Al respecto, se debe recordar que ambas citoquinas dirigen la formación de osteoclastos ya que estimulan la proliferación de los precursores osteoclastogénicos, además, inducen la expresión de otras citoquinas que regulan la diferenciación de los precursores osteoclastogénicos en osteoclastos maduros como RANKL⁵¹, IL-6 y M-CSF. Por tanto, IL-1 y TNF α son dos factores necesarios para inducir la secreción de factores de diferenciación de los osteoclastos, por lo que pequeños cambios en los niveles de estas citoquinas provocarán grandes cambios a nivel de la producción de osteoclastos.⁵⁶

Además, la utilización de anticuerpos neutralizantes de IL-6 previene la osteoclastogénesis inducida por la deficiencia estrogénica en ratas ovariectomizadas¹¹. Por tanto, según los numerosos estudios realizados, se puede concluir que IL-1, IL-6 y TNF α son tres factores clave implicados en la osteoclastogénesis y en la resorción ósea asociadas a la deficiencia estrogénica.

Cabe mencionar, que los efectos a largo plazo de la menopausia, especialmente por el déficit de estrógenos, dan lugar diferentes entidades fisiopatológicas, siendo las principales la osteoporosis y las enfermedades cardiovasculares motivo de esta tesis. La menopausia parece aumentar los factores de riesgo de patología cardiovascular y la prevalencia de aterosclerosis en las mujeres. Por lo tanto, el cese de la función ovárica se ha relacionado históricamente con un incremento de las enfermedades cardiovasculares y riesgo de fractura. Es por esto que estudios recientes se enfocan en determinar la relación existente entre estas dos entidades aparentemente tan distantes, pero que sin embargo comparten varios mecanismos fisiopatológicos.

V. MARCO TEORICO

A. LA MENOPAUSIA: FISIOLÓGÍA.

El climaterio es el período de transición entre los últimos años de la etapa reproductiva y la vida post-reproductiva, que se inicia con la desaparición progresiva de la función ovárica.

Ambos procesos están marcados por la disminución gradual de la secreción estrogénica y diversas alteraciones hormonales relacionadas, que dan lugar a una serie de cambios orgánicos y psicológicos, los cuales pueden llegar a ser tan significativos que constituyen una fuente importante de discapacidad y malestar. La suspensión completa de las menstruaciones o menopausia propiamente dicha, acontece por lo general entre la quinta y la sexta década de la vida (edad promedio de 52 años, en la actualidad) y está precedida por una etapa durante la cual se presentan ciclos irregulares y una serie de manifestaciones físicas características, conocida como pre-menopausia, la cual suele comenzar a partir de los 35 años, o desde el momento en que la mujer comienza a detectar irregularidades del ciclo menstrual, asociadas a otros síntomas del climaterio.³⁰

El criterio clínico para establecer la presencia de menopausia es la ausencia total de menstruaciones durante un período de doce meses. Por último, la postmenopausia es la etapa comprendida entre el establecimiento definitivo de la menopausia y el final del climaterio, alrededor de los 50 a 65 años.¹⁰⁵

Aunque la menopausia es un proceso absolutamente normal y no una enfermedad, está acompañada de connotaciones negativas y una serie de cambios en el organismo femenino, dando como resultado un desequilibrio en los niveles de hormonas circulantes y la disminución progresiva de estrógenos y progestágenos. Este desbalance se refleja en cambios a nivel del metabolismo lipídico: la aterogénesis, la distribución de la grasa corporal y la remodelación del hueso, entre otros.

1. Los estrógenos en la menopausia.

Los estrógenos naturales son moléculas derivadas de estratrieno y aunque en el ser humano existe una gran variedad de ellos, son tres los más importantes, a saber: estradiol, estrona y estriol. Normalmente, desempeñan un papel destacado en la gran mayoría de los procesos metabólicos del organismo.

En el ovario, a lo largo de la fase folicular, estimulan la síntesis de receptores para la hormona folículo estimulante (FSH), de forma que contribuyen al desarrollo y crecimiento de los folículos. A nivel endometrial inducen la proliferación del epitelio y el crecimiento de las capas esponjosa y compacta, favoreciendo el incremento en el número de glándulas, vasos sanguíneos y tejido estromal.⁷⁰ En la vagina, los estrógenos llevan a proliferación epitelial, con escamación de las células superficiales y acumulación de glicógeno en el epitelio. Los labios mayores y menores se hacen turgentes y elásticos.¹⁰⁵

A nivel de la glándula mamaria, los estrógenos estimulan la proliferación de los conductos glandulares, el desarrollo del estroma y la acumulación de tejido adiposo; aumentan la pigmentación de los pezones y activan el epitelio acinar, para que pueda responder a la acción de progesterona y prolactina.

En la hipófisis, las altas concentraciones circulantes de estrógenos ejercen un mecanismo de retroalimentación negativa sobre la síntesis de hormona folículo estimulante (FSH), mientras que tienen una acción positiva sobre la producción de hormona luteinizante (LH).^{70,138}

Modifican el perfil lipídico, favoreciendo la producción de lipoproteínas de alta densidad y reduciendo los niveles circulantes de colesterol total y triglicéridos. Desde el punto de vista vascular, los estrógenos estimulan la circulación periférica, producen hemodilución por retención hídrica y disminuyen la hemoglobina y el número de eritrocitos (Fig. 1)

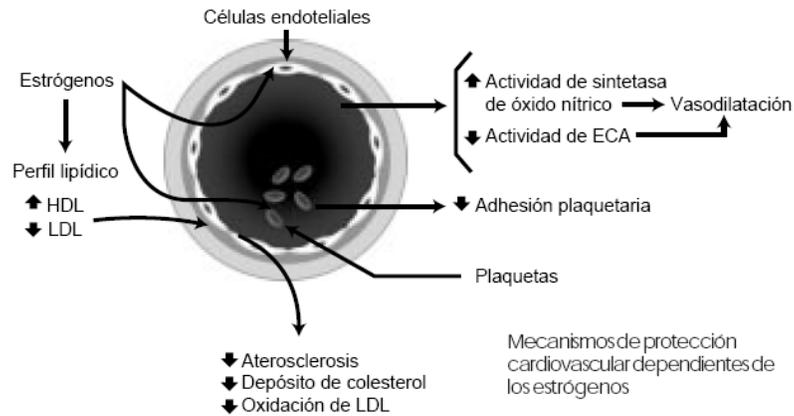


FIGURA 1. Mecanismo de protección de los estrógenos. A nivel de las células endoteliales

Fuente: Sullivan. et al,¹³⁰

En los huesos, estimulan la fijación y mineralización de la matriz ósea, promueven el depósito de calcio y aumentan el índice de masa del tejido; además, estimulan el cierre de las epífisis. Tienen una acción trófica significativa sobre la piel y los epitelios, pues favorecen la síntesis de fibras elásticas (Fig.2).



FIGURA 2. Acciones periféricas de los estrógenos, en los órganos diferentes al ovario

FUENTE. Sullivan. et al,¹³⁰

2. Manifestaciones clínicas de la menopausia

Al descender los valores de estradiol, se da lugar a modificaciones involutivas en todo el organismo. Este proceso involutivo tiene repercusiones generales importantes y de manera especial en el **sistema cardiovascular**, el sistema nervioso central, el **esqueleto**, la piel, el aparato genitourinario y el sistema neurovegetativo. Por tanto, en este trabajo de investigación nos centraremos en los trastornos sobre el sistema cardiovascular y sobre el proceso de absorción/resorción ósea; además de la relación existente entre ambos procesos.

a. Trastornos cardiovasculares: Los estrógenos ejercen un significativo papel protector contra diversas enfermedades cardiovasculares, el cual se pierde a medida que disminuye la producción de hormonas durante la menopausia. Es por eso que la cardiopatía coronaria es una de las principales causas de muerte entre las mujeres ancianas. (Tabla 1).

MECANISMOS DE ACCION DE LOS ESTROGENOS EN LA PREVENCION CARDIOVASCULAR
Estimulan el catabolismo de cLDL
Facilitan el aclaramiento plasmático
Inhiben la lipasa hepática que es destructora de cHDL
Inducen la disminución de receptores celulares hepáticos para cHDL
Efecto vascular directo sobre los vasos

TABLA 1: Mecanismos de acción de los estrógenos. A nivel del perfil lipídico

FUENTE. Witztum JL. ¹⁴²

Estas evidencias sugieren que durante la edad fértil existe una protección natural que retarda el daño arterial. Los estrógenos, especialmente el estradiol, parecen ser los responsables de la protección cardiovascular de las mujeres jóvenes, de manera que cuando sus niveles disminuyen con la menopausia y la estrona es entonces el principal estrógeno, el desarrollo de la enfermedad coronaria es semejante al de los hombres.

Parte del efecto anti-ateroesclerótico de los estrógenos se debe a su acción sobre la lipoproteína-lipasa (LPL), que depura las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). Los remanentes son eliminados por los receptores de LDL, que reconocen la apoproteína E en la superficie de la lipoproteína. La acción de la LPL también disminuye los niveles de LDL, pero puede ocasionar un ligero incremento en los valores séricos de los triglicéridos. El significado clínico de la depuración aumentada de los remanentes de colesterol de las VLDL, se reduce en forma relativamente a los triglicéridos con lo que se disminuye la aterogenicidad de esta fracción de lipoproteína.

Por otro lado, los estrógenos disminuyen la lipasa hepática que también tiene un papel importante en la depuración de los remanentes de las lipoproteínas. Los estrógenos también estimulan la remoción por el receptor de LDL, con lo que se disminuye la cantidad de esta lipoproteína en el suero.

En el hígado, los estrógenos actúan sobre la síntesis de enzimas responsables del metabolismo lipídico: los estrógenos aumentan las concentraciones de colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad (cHDL) (especialmente de cHDL 2), disminuyen la actividad de la lipasa hepática, encargada de la transformación de cHDL 2 en cHDL 3; aumentan la producción hepática de colesterol ligado a lipoproteínas de muy baja densidad (cVLDL), con lo que aumentan las concentraciones de triglicéridos (TG) y se incrementa el catabolismo del cLDL, con lo que disminuyen su concentración. También se ha descrito la disminución de las concentraciones de lipoproteína (a), proteína que se involucra de forma clara con el riesgo aterosclerótico.

Al disminuir los niveles de estrógenos circulantes se presenta una desviación del perfil lipídico (Tabla 2), ya que aumenta el colesterol total y unido a proteínas de baja densidad (LDL), en tanto que disminuyen las HDL. Así, se ve favorecida la formación de placas de ateroma y la progresión de la **aterosclerosis** coronaria y, por ello, la incidencia de enfermedades cardiovasculares se incrementa de forma sustancial en las mujeres postmenopáusicas.⁴⁸

Cambios en el perfil lipídico durante la menopausia	
<input type="radio"/>	Aumento de colesterol total
<input type="radio"/>	Aumento de triglicéridos
<input type="radio"/>	Aumento de colesterol-LDL
<input type="radio"/>	Disminución de colesterol-HDL

TABLA 2: Cambios del perfil lipídico en la menopausia, por disminución de estrógenos.

FUENTE. Witztum JL¹⁴²

Las alteraciones que se producen en el perfil lipídico, da lugar a la enfermedad cardiovascular, descrita a continuación.

a.1 Aterosclerosis

La aterosclerosis es una lesión arterial, caracterizada por un engrosamiento de la íntima causa de una compleja interacción entre la pared vascular y los componentes de la sangre donde pueden intervenir procesos inflamatorios, de crecimiento, proliferación y migración de células de músculo liso (CML) y de síntesis de matriz extracelular, además de procesos degenerativos, de necrosis y tromboticos, dando lugar a las placas de ateroma. El proceso aterosclerótico ocurre en tres etapas, los cuales se detallan a continuación.

El primer acontecimiento que tiene lugar en la aterosclerosis es la acumulación de las lipoproteínas de baja densidad (C-LDL) en la matriz subendotelial. El exceso de lipoproteínas de baja densidad (LDL) circulante, aumenta el transporte y la retención de las mismas en los lugares donde la permeabilidad es mayor.

Las LDL se difunden a través del endotelio y quedan retenidas debido a la interacción entre la molécula de la apolipoproteína (Apo B) de las LDL y los proteoglicanos de la matriz subendotelial⁴⁹. La acumulación de las partículas de

LDL estimula en el endotelio la producción de moléculas pro inflamatorias, incluyendo moléculas de adhesión celular (VCAM-1, PCAM-1, ICAM-1, P-selectina, E-selectina) y factores de crecimiento (M-CSF). Todo ello ocasiona la llegada de monocitos y linfocitos a la pared arterial. Estos macrófagos presentan en su superficie unos receptores llamados basureros o “scavenger” que reconocen y captan las lipoproteínas modificadas y otras partículas. La captación indiscriminada de lípidos por parte de los macrófagos produce su acumulación en el interior de la célula transformándose en lo que se conoce como células espumosas. (Fig. 3A). Las lipoproteínas de alta densidad (HDL) tienen un importante papel protector en la aterosclerosis por un doble mecanismo⁵⁹, por una parte son capaces de retirar el exceso de colesterol acumulado en la matriz subendotelial y en el interior de las células espumosas, y por otra, protege la oxidación lipídica, debido a la presencia en esta lipoproteína de una enzima, la paroxonasa sérica, que degrada ciertos fosfolípidos biológicamente activos⁵¹.

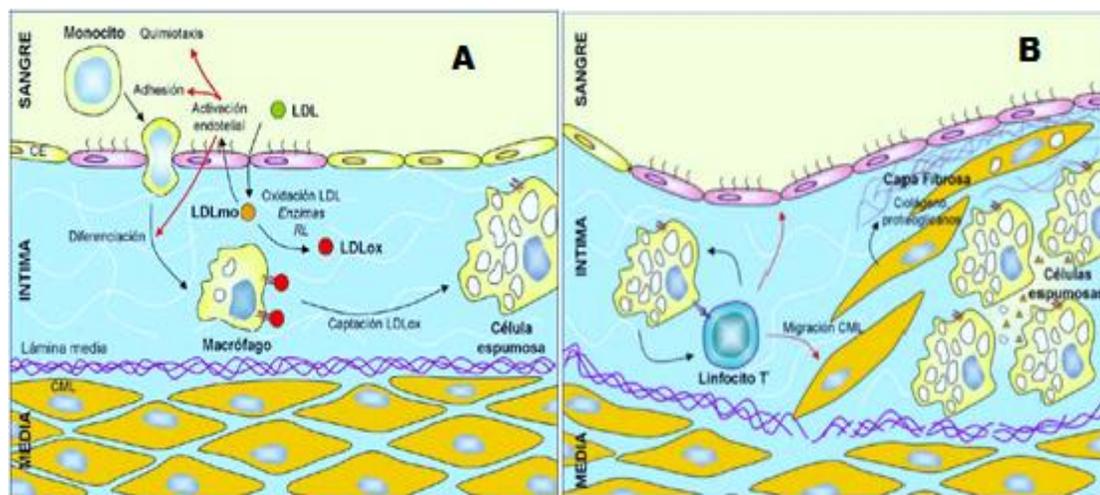


FIGURA 3. Acontecimientos iniciales de la estría grasa (A): CE, células endoteliales; CML células de músculo liso; RL, radicales libres; LDL, lipoproteínas de baja densidad; LDL MO, LDL modificadas; LDLox, LDL oxidadas. **Progresión de la lesión aterosclerótica (B):** formación de la placa fibrosa.

FUENTE. Witztum JL.¹⁴²

El siguiente paso en el desarrollo de la aterosclerosis es la formación de la placa fibrosa que se caracteriza por un crecimiento de una masa lipídica extracelular, principalmente colesterol y ésteres de colesterol, la acumulación de CMLs y la formación de una red proteica de matriz extracelular producidas por las CMLs⁵². La placa fibrosa se inicia con la migración de las CMLs desde la capa media hacia la matriz subendotelial. Allí las células proliferan y captan las lipoproteínas modificadas contribuyendo así, junto con las células espumosas, al engrosamiento del núcleo lipídico (Fig. 3B). Además estas células secretan proteínas de la matriz extracelular, como colágeno y proteoglicanos, conduciendo al desarrollo de la placa fibrosa⁵³

La respuesta proliferativa de las CMLs y de las células inflamatorias hace que la estría grasa evolucione a una placa aterosclerótica más compleja llevando la lesión a estadios más avanzados que implican muerte celular, rotura de las placas, calcificación y procesos trombóticos. Las placas ateromatosas más avanzadas presentan un núcleo necrótico que consiste en un gran núcleo lipídico rodeado por una delgada cubierta fibrosa. Las células espumosas pueden morir

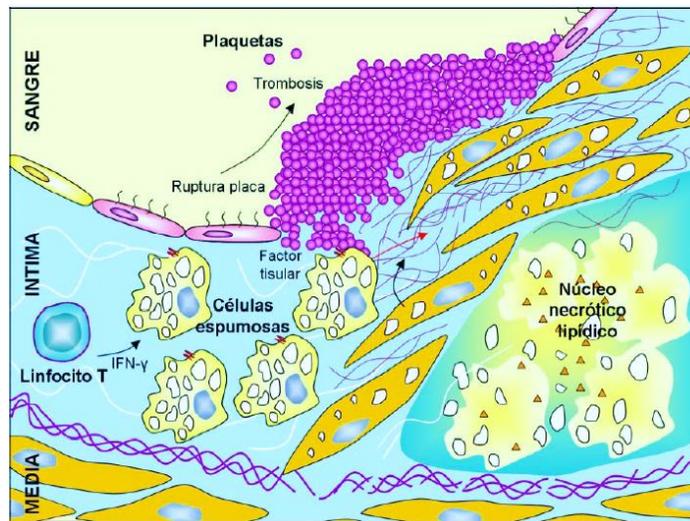


FIGURA 4. Lesiones avanzadas: ruptura de la placa fibrosa y trombosis.

FUENTE. Witztum JL¹⁴²

liberando una gran cantidad de lípidos a la matriz extracelular, formándose así el núcleo necrótico al que contribuyen además los lípidos intracelulares, las CMLs (células de músculo liso) que también han captado LDL modificadas y el resto del material lipídico extracelular⁵² (Fig. 4)

No se conoce muy bien los mecanismos que inducen a la apoptosis de los macrófagos y de las CMLs aunque se ha sugerido que las partículas de LDL oxidadas podrían participar en este proceso ya que son capaces de inducir la muerte de muchos tipos de células.⁵⁰ Las placas más vulnerables a la rotura generalmente son delgadas y contienen un elevado número de células inflamatorias. La estabilidad de las placas depende del mantenimiento de la placa fibrosa que, a su vez, depende del equilibrio entre la síntesis y la degradación de las proteínas de la matriz. Las CMLs sintetizan las fibras de colágeno y los proteoglicanos de la matriz extracelular, mientras que los macrófagos secretan varias proteínas como colagenasas y catepsinas que la degradan.

Las placas más complejas también pueden presentar depósitos de calcio lo que ocasiona un cambio en las características mecánicas del tejido arterial, contribuyendo a la inestabilidad de la placa y limitando la flexibilidad de los vasos sanguíneos. Los componentes internos de la placa y el factor tisular inician la cascada de la coagulación que provoca la adhesión de las plaquetas circulantes y que, a su vez, pueden producir trombosis por oclusión de la luz vascular. De esta forma, las lesiones ateroscleróticas avanzadas pueden acarrear síntomas isquémicos como resultado de un estrechamiento progresivo de la luz arterial. Las consecuencias agudas de las ECVs, tales como el infarto de miocardio o la enfermedad cerebrovascular, son el resultado generalmente de la ruptura de la placa y la trombosis.⁵³

a.2 Lipoproteínas plasmáticas y aterosclerosis

Las alteraciones de las lipoproteínas plasmáticas y los trastornos del metabolismo de los lípidos se encuentran entre los factores de riesgo de aterosclerosis más conocidos. En la figura 5, se muestra los porcentajes de cada uno de los componentes de las diferentes lipoproteínas.

Los quilomicrones (QMs) son las lipoproteínas del plasma de mayor tamaño y su función es transportar los triglicéridos (TG), el colesterol y otros componentes liposolubles de la dieta desde el intestino hasta la sangre. Las VLDL son lipoproteínas secretadas a nivel hepático y en menor cantidad a nivel intestinal que contienen colesterol, fosfolípidos, TG, Apo B 100 y pequeñas cantidades de Apo E y Apo C, presentan cierta similitud con los QMs, aunque son menos voluminosas. Los remanentes de VLDL, son ricos en ésteres de colesterol se conocen como lipoproteínas de densidad intermedia (IDL).

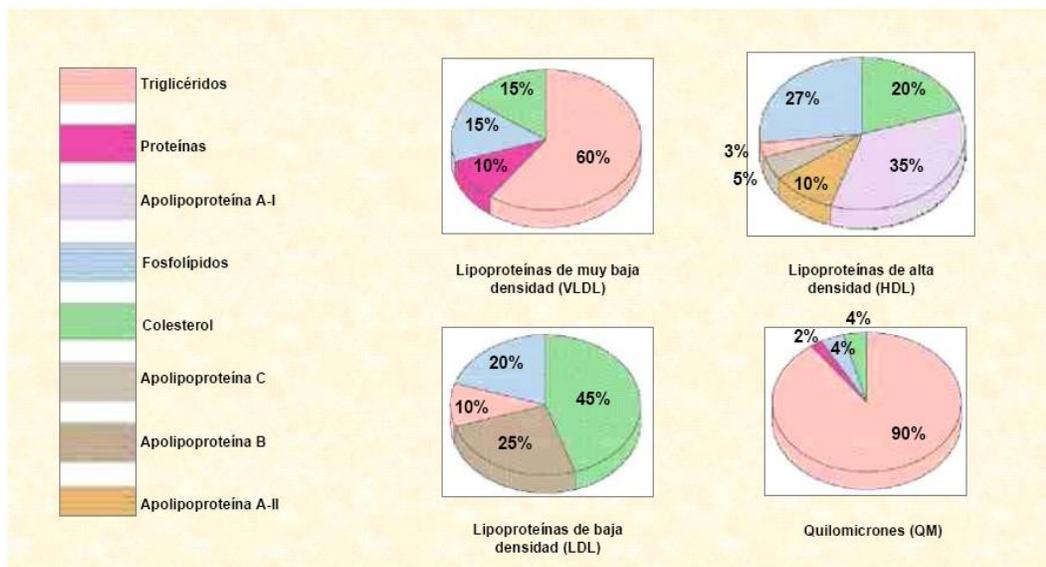


FIGURA 5. Conformación de una lipoproteína.

FUENTE: Lobby A.⁷⁵

Las LDL se generan en el plasma, procedentes de la IDL y contienen solo una molécula de Apo B100. El papel de las LDL es transportar el colesterol a los

tejidos periféricos y regular la síntesis de *novo* del colesterol en estos lugares. Está ampliamente descrito que concentraciones elevadas de LDL en el plasma constituyen un factor de riesgo independiente de ECV¹³. Sin embargo, los estudios *in vitro* han demostrado que las LDL nativas están desprovistas de actividad aterogénica y solo después de su modificación pueden dar lugar a la formación de células espumosas. Debido a su característica de depositarse en las paredes de los vasos sanguíneos que presentan lesiones endoteliales se las considera un factor potencial de aterogénesis. Otras lipoproteínas como la lipoproteína (a) también se consideran aterogénicas. Se trata de una lipoproteína esférica, rica en ésteres de colesterol y fosfolípidos, que se asemeja en su composición a la LDL. Esta lipoproteína puede quedar retenida en la subíntima arterial y contribuye a la formación de células espumosas. Los estudios epidemiológicos han puesto de manifiesto que las concentraciones elevadas de lipoproteína (a) constituyen un factor de riesgo de ECV.¹⁴ Por último, las HDL pueden ser producidas por el hígado o generadas en el plasma como consecuencia de interacciones entre las distintas lipoproteínas plasmáticas y los tejidos. El papel de las HDL es el transporte inverso de colesterol desde los tejidos extra hepáticos hacia el hígado¹³. Son consideradas como un factor de protección contra la aterogénesis ya que extraen el colesterol plasmático excedente. De esta forma, niveles elevados de HDL son beneficiosos para el organismo y se correlacionan inversamente con el riesgo de sufrir enfermedad vascular coronaria relacionada a procesos ateroscleróticos. Por todo ello, hoy en día se tienden más a considerar los valores de LDL como factor de riesgo cardiovascular en vez de la concentración.

a.3 Tipos de Índices aterogénicos para la estratificación del riesgo cardiovascular.

El índice aterogénico, reflejo de los principales componentes del metabolismo de los lípidos, resulta una herramienta sencilla, asequible y muy útil, para

evaluar si existe el riesgo de formación de placas de ateroma en la paredes arteriales de las coronarias y cerebrales, obstruyendo el riego sanguíneo y de esta manera detectar los individuos con mayor riesgo de presentar enfermedad coronaria prematura.

- **Riesgo aterogénico I:** Este valor surge de la relación entre los valores de colesterol LDL/ colesterol HDL. Su valor de referencia debe ser menor a 3.
- **Riesgo aterogénico II:** Este valor surge de la **relación entre los valores de colesterol total/ colesterol HDL**. Su valor de referencia debe ser **menor a 5**.

El estudio de Framingham, reconoce la relación del índice aterogénico, calculado a partir de los datos del perfil lipídico, específicamente Colesterol total/colesterol HDL o también llamado Índice de Castelli, permite realizar una clasificación de la probabilidad de padecer una enfermedad cardiovascular, teniendo en cuenta la proporción que se presenta con el valor de colesterol total sobre el valor del colesterol cardio protector HDL, por tanto valores elevados de colesterol total o bajos de colesterol HDL , clasifican al paciente en sujeto potencial a adquirir una enfermedad cardiovascular. Cuando se compara el colesterol total, el colesterol-HDL y el índice colesterol total / colesterol-HDL en una población aparentemente normal y en otra de sobrevivientes de infarto de miocardio, se comprueba que la relación colesterol total / colesterol-HDL es la que presenta la menor superposición de poblaciones.²¹ De ésto se deduce el alto poder discriminador de enfermedad coronaria que presenta el índice colesterol total / colesterol-HDL, además de una gran capacidad predictiva. La relación colesterol-LDL / colesterol-HDL tiene la misma utilidad que colesterol total / colesterol-HDL, sin que hasta ahora se hayan demostrado mayores ventajas sobre esta última. El valor de corte para el índice colesterol total / colesterol-HDL se consideran hasta 4,5.

b. Trastornos sobre el sistema de formación y resorción ósea.

Los estrógenos, al igual que sobre el sistema cardiovascular, juegan un rol importante en el proceso de formación y resorción ósea, la remodelación del hueso y el reemplazo del tejido antiguo por uno nuevo, requiere una serie de pasos que comienzan con la resorción como resultado de la acción de los osteoclastos, células derivadas de los monocitos circulantes y que son reclutadas hacia el hueso gracias a la presencia de interleucina 6 y factor estimulante de disolución de la matriz mineral colonias monocito-macrófago, liberados por los osteoblastos. Diversos compuestos, como hormona paratiroidea, interleucina 1 y factor de necrosis tumoral, contribuyen a la diferenciación del monocito hacia osteoclasto.

Este proceso de remodelación depende, en buena medida, de la actividad de las hormonas sexuales. Los estrógenos, al actuar sobre las células estromales mesodérmicas, interfieren con la liberación de interleucina 1 e interleucina 6, las cuales atraen y activan a los osteoclastos.

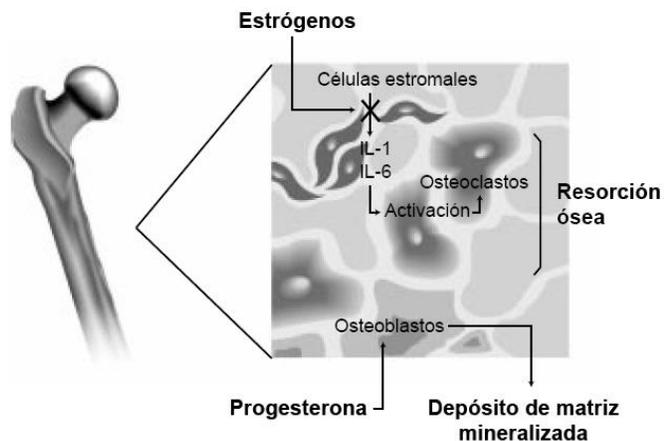


FIGURA 6. Papel regulador de los estrógenos y progesterona, sobre el proceso de remodelación ósea.

FUENTE. Denke²⁸

En consecuencia, durante la menopausia y debido a la ausencia de estrógenos, se presentan dos fenómenos concomitantes: por una parte, aumento de la resorción ósea y por otra, disminución en la formación de hueso.

La deficiencia hormonal introduce profundos cambios en el metabolismo del hueso, que se manifiestan por un incremento de la actividad osteoclástica y una disminución en el depósito de minerales, con el subsecuente incremento de la fragilidad del tejido. Aunque la matriz mineral ósea comienza a perderse a partir de los 30 a 35 años de edad, esta pérdida se acelera, de manera muy significativa, en los primeros años de la menopausia, debido a la caída en los niveles de estrógenos. Es más, se estima que durante los primeros cinco años de la menopausia, se pierde alrededor de la tercera parte del contenido mineral del hueso, lo que incrementa el riesgo de fracturas (sobre todo vertebrales y del cuello del fémur) relacionadas con osteoporosis ⁷⁴

b.1 Fisiología ósea.

El conocimiento de la estructura ósea normal permite una mejor valoración de los cambios patológicos que tienen lugar en la génesis de los trastornos metabólicos.

El hueso desempeña un doble papel en el organismo. Por un lado, constituye la base física para la locomoción y proporciona protección a los órganos internos, y por otro, la fase mineral del hueso actúa como reservorio de minerales esenciales y sistemas tampón. Los principales factores que regulan el metabolismo óseo son el estrés mecánico, los niveles en el espacio extracelular de los iones (fundamentalmente calcio y fosfato) implicados en la formación de hueso mineral y las influencias hormonales, sobre todo las debidas a la hormona paratiroidea, los glucocorticoides, los esteroides gonadales y los metabolitos biológicamente activos de la vitamina D. En términos generales, las enfermedades metabólicas del hueso son el resultado de la alteración en la

función de la célula ósea producida por estímulos patológicos de tipo físico, hormonal o iónico.

Todos los huesos están compuestos por una capa externa de tejido denso compacto o hueso cortical que define los límites de la cavidad medular. La cavidad medular contiene hueso esponjoso, grasa y médula hematopoyética. El hueso esponjoso está formado por una red compleja de trabéculas interconectadas y presenta una superficie mucho mayor que la corteza.

La remodelación normal del hueso ocurre a diferentes escalas a nivel del hueso cortical y del hueso esponjoso, este hecho es muy importante en la homeostasis mineral.

El hueso está constituido principalmente por tres elementos: una matriz proteica, una fase mineral y las células óseas. La matriz proteica ocupa aproximadamente el 50% del volumen óseo total y está formada, en su mayor parte, por una proteína fibrosa, el **colágeno**. Los haces entrecruzados de colágeno actúan como un armazón estructural sobre el cual se sitúa la fase mineral. Esta ocupa la mayor parte del 50% restante del volumen óseo, y constituye aproximadamente las dos terceras partes de su peso. La fase inorgánica está compuesta por minúsculos cristales de un mineral de carácter alcalino, la hidroxiapatita $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$. Estos cristales se incrustan entre las fibras de colágeno para formar un material que reúne las características adecuadas de rigidez, flexibilidad y resistencia. El hueso cortical está formado por sistemas haversianos (osteonas), que son estructuras laminadas de hueso denso, que se organizan alrededor de un canal central en cuyo interior discurre la microcirculación. En todo el espesor de este hueso denso, los osteocitos aparecen diseminados e incluidos en compartimentos profundos denominados lagunas y conectados con los osteoblastos por prolongaciones celulares elongadas. El hueso trabecular consiste en una trama esponjosa y avascular formada por espículas óseas entre las que no existen los sistemas haversianos organizados. Las superficies del hueso trabecular están cubiertas por osteoblastos, osteoclastos y “células de

revestimiento” indiferenciadas de origen mesenquimal, estando los osteocitos diseminados por todo el espesor del hueso trabecular²⁰.

b.2 Células óseas

Todas estas células mesenquimatosas (osteoblastos, condrocitos, mioblastos y células del estroma de la médula ósea que incluye adipositos), las cuales se cree se originan de progenitores mesenquimatosos comunes, componen el tejido óseo. Fisiológicamente, cuatro tipos de células óseas son las principales responsables directas de su formación y mantenimiento: pericitos, osteoclastos, osteoblastos y osteocitos, que representan entre 2-5% del peso total del hueso⁶⁰. La actividad de estas células está determinada por un gran número de factores humorales sistémicos y locales, así como por las interacciones con células vecinas y con diversos fármacos.

Osteoblastos	Osteoclastos
Hormona paratiroidea (HPT)	Calcitonina
1,25-dihidroxi-vitamina D	Bifosfonatos
Corticoides	Interleucina I
Factor de crecimiento similar a la insulina	Factor estimulante de colonias
Factor de crecimiento tisular β	Factor de crecimiento tisular α
Interleucina 6	Factor de crecimiento tisular β
Péptido relacionado con HPT	Nitrato de galio

TABLA 3. Factores humorales y farmacológicos que actúan sobre las células óseas.

FUENTE. Rackley C.E ¹⁰⁵

Pericitos. Células planas similares a los fibroblastos, las cuales forman una membrana continua que recubre por completo las superficies libres del hueso.

Osteoblastos y osteocitos. Los osteoblastos, las células formadoras de hueso, trabajan en grupos para segregar, y después mineralizar, paquetes de matriz ósea. Morfológicamente, el osteoblasto activo presenta un núcleo redondo grande

situado en la base de la célula hacia el lado opuesto de la superficie ósea. Se caracteriza por tener un aparato de Golgi prominente, situado entre el núcleo y el ápice de la célula, y un retículo endoplasmático grande, lo que refleja la alta actividad biosintética y secretora de esta célula. Los osteoblastos presentan unas prolongaciones citoplasmáticas en la cara secretora de la célula que se extienden hasta el fondo de la matriz y sirven de sistema de comunicación entre células. Estas células expresan abundantemente fosfatasa alcalina, enzima que probablemente contribuye a la mineralización de la matriz liberando fosfato inorgánico. Las superficies óseas quiescentes están recubiertas por una mono capa de osteoblastos aplanados inactivos que a menudo se denominan “células de revestimiento”. Los osteoblastos derivan de progenitores mesenquimales presentes en la médula ósea, los cuales son capaces de diferenciarse hacia otras estirpes celulares, como los adipocitos y los fibroblastos. Los osteoblastos, o sus precursores, expresan receptores para muchas hormonas, incluyendo la paratohormona (PTH), la 1,25-dihidroxivitamina D, las hormonas sexuales y los glucocorticoides. También expresan varias moléculas de adhesión (integrinas) y receptores para citoquinas (Fig. 7). En su membrana también expresan citoquinas propias, como el factor estimulante de colonias (CSF) y el ligando del receptor

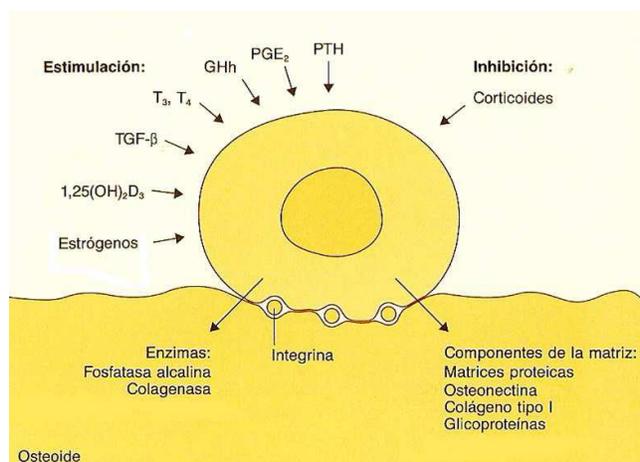


FIGURA 7. Representación esquemática de un osteoblasto. Factores que actúan estimulando o inhibiendo el osteoblasto

FUENTE. TORGERSON D.J ¹³⁵

activador del factor nuclear kappa-B (RANKL) que, como se verá más adelante, es un factor imprescindible para la diferenciación de los osteoclastos (células encargadas de destruir hueso). También segregan osteoprotegerina (OPG), un receptor señuelo de RANKL capaz de inhibir la formación de osteoclastos ⁷³

Durante la formación ósea, algunos osteoblastos quedan englobados en la matriz, que se va depositando a su alrededor y se diferencian a osteocitos, formando una red de células dispersas interconectadas. Se piensa que los osteocitos intervienen en la respuesta del hueso a los estímulos mecánicos, actuando como mecanoreceptores que se comunican con los osteoblastos y osteoclastos presentes en las superficies óseas. ³²

Osteoclastos. El osteoclasto es la célula responsable de la resorción ósea y se encuentra en las superficies óseas calcificadas y dentro de unas estructuras llamadas lagunas de Howship que se forman como resultado de su propia actividad resorptiva. Es una célula gigante multinucleada (contiene de 4 a 20 núcleos). Los núcleos varían dentro de la misma célula (Fig. 8); algunos son redondos y otros tienen un contorno irregular. En estas células destacan abundantes aparatos de Golgi que quedan dispuestos alrededor de los núcleos de

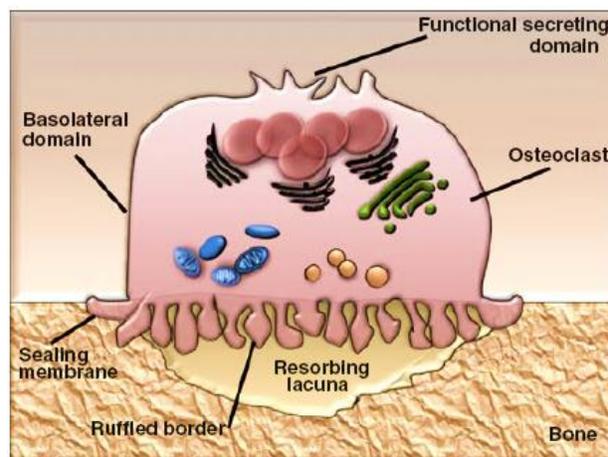


FIGURA 8: Morfología de un osteoclasto, ilustra un osteoclasto polarizado y la distribución específica de la membrana y organelos.

FUENTE. SCHULZ. ¹²⁵

manera característica. También poseen abundantes mitocondrias y vesículas de transporte cargadas de enzimas lisosómicas²².

La zona de la membrana plasmática del osteoclasto en contacto con la superficie ósea, presenta unos pliegues profundos que dan un aspecto de borde rugoso y que recibe el nombre de borde en cepillo (Fig. 9). El borde rugoso que queda en el centro está rodeado de un anillo de actina que sirve para unir la célula a la superficie ósea y crear una zona de cierre hermético formándose así el compartimento de resorción ósea. La unión de la célula a la matriz se realiza mediante receptores de integrinas del osteoclasto que se unen a secuencias específicas de las proteínas de la matriz. Además, también expresan receptores para diversos factores que actúan estimulando al osteoclasto, como a la PTH, la IL-1, el TNF α , o bien inhibiéndolo, como los estrógenos y la calcitonina, entre otros.

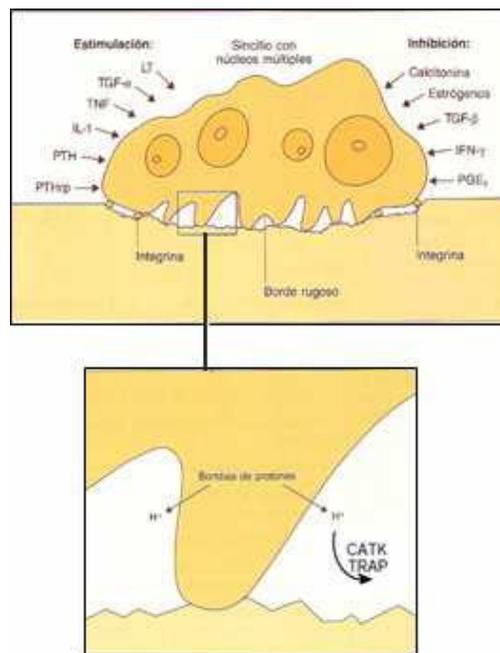


FIGURA 9. Imagen superior: Representación esquemática de un osteoclasto y factores que actúan estimulando o inhibiendo a la célula ósea. Imagen inferior: Detalle del borde rugoso del osteoclasto y enzimas sintetizados (CATK: catepsina K; TRAP: fosfatasa ácida tartrato resistente) para iniciar la resorción.

FUENTE. SCHULZ. ¹²⁵

La membrana plasmática de la zona del borde rugoso contiene proteínas que también se encuentran en la membrana de los lisosomas y organelos, una ATPasa de protones y un canal de cloro específico responsable de la acidificación del compartimento extracelular de resorción ósea (Fig. 10). La membrana plasmática basolateral del osteoclasto es rica en bombas de sodio-potasio, intercambiadores de $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$ e intercambiadores de Na^+/H^+ , además de varios canales iónicos¹²⁶ Los osteoclastos también expresan en su membrana RANK y el receptor del factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF) que son dos factores implicados en la diferenciación de los osteoclastos, además del receptor de la calcitonina, que es capaz de inactivar rápidamente al osteoclasto.

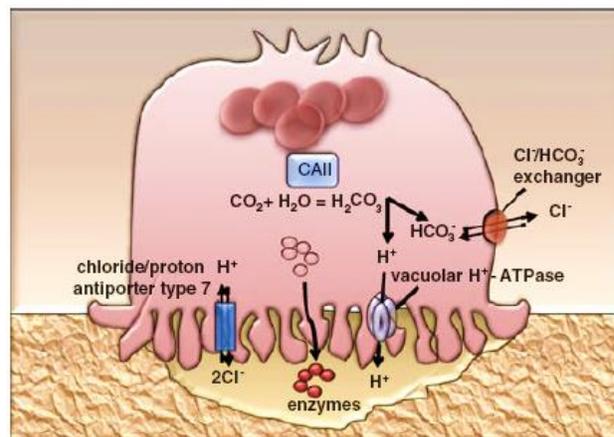


FIGURA 10. Maquinaria molecular dentro del osteoclasto, involucrada en la disolución de la matriz inorgánica y orgánica del hueso

FUENTE. SEIBEL M.J.¹²⁶

Es posible encontrar hasta cuatro o cinco osteoclastos en la misma zona de resorción, pero habitualmente sólo hay uno o dos. El osteoclasto inicia la resorción sintetizando enzimas lisosómicas (Fig. 13) como la fosfatasa ácida tartrato resistente (TRAP), la catepsina K (CATK), la colagenasa, etc, que se encuentran en el retículo endoplásmico, el aparato de Golgi y muchas vesículas de transporte. Estos enzimas se segregan a través del borde rugoso al

compartimento extracelular de resorción ósea. El osteoclasto acidifica el compartimento extracelular mediante la secreción de protones a través de la membrana del borde rugoso (mediante bombas de protones) y así, ya puede iniciar su actividad. Durante el proceso de resorción, en primer lugar, los cristales de hidroxapatita se movilizan por la hidrólisis de su enlace con el colágeno (proteínas no colágenas) y se disuelven por el medio ácido.

Posteriormente, las fibras colágenas residuales se digieren por la activación de la colagenasa y las catepsinas en un pH ácido. Las enzimas, ahora en un pH óptimo, degradan los componentes de la matriz; los residuos de esta digestión extracelular se interiorizan, se transportan a través de la célula y se liberan en la región basolateral, o se liberan durante los períodos de recaída de la zona de cierre hermético.¹¹⁹

Como consecuencia de la actividad del osteoclasto se liberan a la circulación muchos productos procedentes de la degradación del hueso. Estos productos se utilizan clínicamente como medidas indirectas de la resorción ósea en los seres humanos lo cual se verá más adelante en **Marcadores bioquímicos de remodelado óseo.**

El osteoclasto proviene de células madre hematopoyéticas de la estirpe mononuclear fagocítica ¹²⁶ Después, se necesita la presencia del factor estimulador de colonias de macrófagos (M-CSF), sintetizado por células estromales, para atraer a las células de la estirpe monocítica y que puedan proliferar y expresar la superficie celular el receptor RANK, un factor clave para la diferenciación del osteoclasto. Una vez los pre-osteoclastos han expresado RANK, necesitarán la presencia de otra citoquina, RANKL, que como ya hemos visto, es producida por las células estromales/osteoblastos y que se trata de un factor imprescindible para la diferenciación del osteoclasto. La unión RANKL-RANK provoca en el pre-osteoclasto una serie de cambios como reestructuración del citoesqueleto, formación de uniones estrechas entre la membrana basal y la superficie ósea y la creación del compartimento de resorción, que lo llevarán a

iniciar el proceso de resorción ósea. En esta fase también se exige la expresión del factor asociado al receptor del factor de necrosis tumoral-6 (TRAF6), factor nuclear kappa-B (NFkB) y *c-Fos*, todos ellos transductores de la señal de RANK en el interior de la célula. Por tanto, RANK, RANKL y M-CSF son, claramente, tres factores clave para la diferenciación del osteoclasto ya que serán los encargados de asegurar el compromiso de las células precursoras hacia la estirpe osteoclástica y hacia su diferenciación final.¹²⁹

Pese a provenir de la línea mononuclear/fagocítica, los osteoclastos han perdido la expresión de algunos receptores de membrana aunque mantienen la expresión de algunos otros, además de expresar receptores específicos (RANK y calcitonina). Estas células también presentan receptores estrogénicos. Actualmente se cree que el osteoclasto experimenta apoptosis después de un ciclo de resorción, proceso favorecido por la deficiencia estrógenica y que posiblemente explica la mayor resorción ósea después de una gonadectomía o de la menopausia.

b.3 Remodelamiento óseo.

Una correcta salud ósea es indispensable para que el esqueleto pueda cumplir con sus tres funciones fundamentales: mecánica, como soporte del cuerpo; protectora de órganos internos y metabólica como reserva de iones, principalmente calcio (Ca) y fósforo (P). Para ello, el esqueleto cuenta con la habilidad de renovarse continuamente mediante el proceso de remodelamiento óseo (del inglés turnover) que comienza tempranamente, en el útero, y continúa hasta la muerte del individuo.

En los individuos jóvenes el remodelado mantiene la masa esquelética prácticamente invariable. El envejecimiento, la menopausia y distintas enfermedades alteran el balance del remodelado hacia un predominio de la resorción sobre la formación, lo que ocasiona una pérdida ósea y como

consecuencia, osteoporosis. El hueso trabecular es más sensible a las alteraciones del balance óseo debido a su mayor superficie.

El remodelamiento óseo no es más que el reemplazo periódico de hueso viejo y dañado por hueso nuevo, en el mismo sitio, reparando el daño por fatiga del material que pudiera producirse por la acumulación de mineral. Este proceso es el responsable de la completa regeneración del esqueleto adulto cada 10 años.

El recambio óseo comprende dos etapas: resorción y formación ósea que son llevadas a cabo por el esfuerzo colaborativo y secuencial de un grupo de células que se encuentran dentro de una estructura temporaria denominada "unidad de remodelamiento óseo" (URO) (Fig.11). Es decir, la resorción del hueso viejo y su reemplazo por hueso nuevo es producto de la acción principal de dos tipos celulares diferentes: osteoclastos y osteoblastos que, a pesar de no encontrarse separados, son independientes.

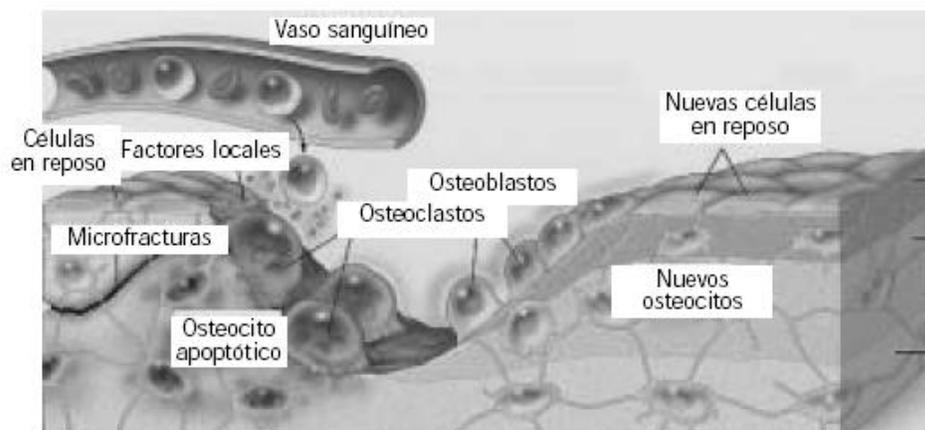


FIGURA 11. Unidad de remodelamiento óseo, donde participan diversos tipos de células óseas.

FUENTE. Murphy M.G.,⁸⁷

En todo el esqueleto y en un período de tiempo dado, millones de estas UROs se encuentran operando en diferentes estadios del ciclo. Cada URO permanece inactiva aproximadamente de 6 a 8 meses aunque continúa acumulándose mineral con lo cual el hueso se endurece y pierde elasticidad. Las alteraciones biomecánicas producidas por este envejecimiento hacen que comiencen a

producirse "microfracturas" las que, por una señal no del todo clara, son detectadas por células inmersas en la matriz mineralizada. Estas células liberan factores hacia la superficie ósea desencadenando el inicio del ciclo de remodelamiento en el que se evidencian 5 fases: quiescente, activación, resorción, reversión y formación.

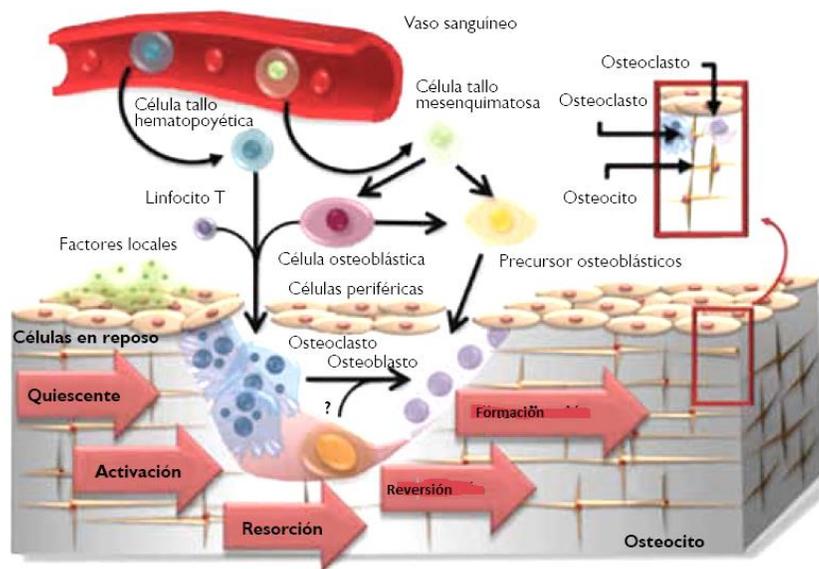


FIGURA 12.Fases del remodelado óseo en la superficie del hueso trabecular. Origen y localización de las células óseas

FUENTE. Murphy M.G.,⁸⁷

La **Fase quiescente** se refiere al estado de reposo del hueso. En esta fase, cierto número de osteoblastos involucrados en la remodelación pueden ser incorporados en la matriz ósea y diferenciarse de osteocitos, otros quedan sobre la superficie ósea como células de revestimiento y otra parte de ellos mueren por apoptosis.

La **activación** produce la atracción desde la circulación de precursores osteoclásticos mononucleares (provenientes de progenitores hematopoyéticos) cuya diferenciación celular a preosteoclastos multinucleados es realizada por citoquinas provenientes de las células en reposo que tapizan la superficie ósea y otras células del mesénquima. También se ha demostrado la influencia de factores hormonales, fuerzas mecánicas locales y cambios ocurridos en el hueso

como consecuencia del envejecimiento o daños por fatiga. Los preosteoclastos se pegan a la superficie a resorber mediante receptores de integrinas presentes en sus membranas que tienen la particularidad de unirse a determinados péptidos presentes en la matriz extracelular que contienen la secuencia arginina- glicina- aspártico. Dicha unión delimita un compartimento denominado "laguna de resorción" y desencadena la polarización del osteoclasto que emite prolongaciones citoplasmáticas llamadas "ribete en cepillo" a través de las cuales volcarán sus productos iniciando la siguiente fase denominada de resorción propiamente dicha.

Durante la **fase resorptiva** una bomba de protones (H^+) específica y otros canales iónicos presentes en la membrana del ribete en cepillo del osteoclasto producen una disminución considerable del pH en la laguna de resorción. Esta acidificación es acompañada por la secreción de una serie de enzimas lisosomales tales como fosfatasa ácida tartrato resistente (TRAP) y catepsina K, así como metaloproteasas de la matriz (MMP) entre las que se encuentran colagenasas como la MMP-9 (Fig. 13). La disminución del pH en forma conjunta con la liberación de enzimas que presentan actividad máxima a pH ácidos produce la degradación del cristal de hidroxapatita y en forma subsiguiente la

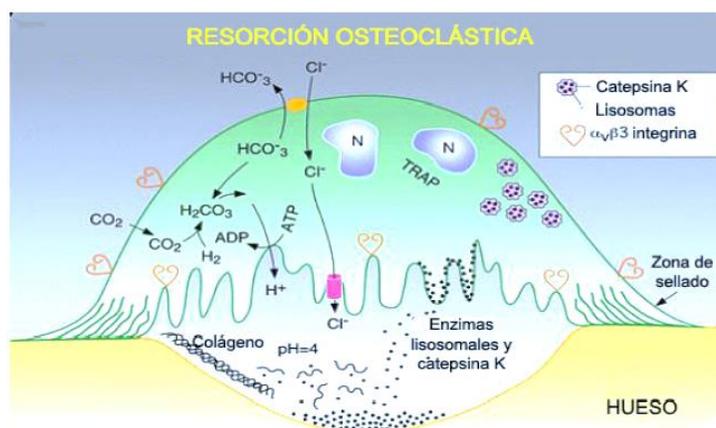


FIGURA 13. Enzimas implicadas en la actividad del osteoclasto.

FUENTE. Gowen M.,⁵²

del colágeno creando cavidades denominadas "lagunas de Howship" en el hueso trabecular y túneles cilíndricos en el hueso cortical.

Generalmente se encuentra sólo uno o a lo sumo dos osteoclastos en el mismo sitio resorptivo pero, en condiciones de resorción exagerada, es posible encontrar hasta cuatro o cinco células resorptivas. La resorción es un proceso rápido que dura aproximadamente 10 a 12 días, finaliza con la apoptosis del osteoclasto y es seguida por la fase reversa.

Durante la etapa de **reversión** la laguna de resorción es reemplazada por monocitos y osteocitos, que fueron liberados de la matriz mineralizada durante la resorción, y por pre-osteoblastos que fueron reclutados para comenzar a formar nuevo hueso. En esta etapa es donde se producen las señales de acoplamiento más importantes y aunque, hasta el momento, la naturaleza exacta de dichas señales es desconocida, se sugiere que, durante la resorción, los osteoclastos liberarían ciertos factores de crecimiento que habían quedado inmersos en la matriz ósea mineralizada, los que actuarían como factores quimiotácticos osteoblásticos estimulando su proliferación y diferenciación. Alguno de los candidatos potenciales sugeridos son factor de crecimiento tumoral beta (TGF); factor de crecimiento insulínico I y II (IGF I y II); proteínas morfogenéticas (BMPs); factor de crecimiento y diferenciación plaquetario (PDGF) y factor de crecimiento fibroblástico (FGF). Entre todos ellos el principal candidato es el TGF beta, ya que diversos estudios demostraron que prolonga la vida media de los osteoblastos inhibiendo su apoptosis, a la vez que inhibe la producción por dichas células de otros factores que aumentan la resorción. En el adulto, y debido al proceso de acoplamiento, los osteoblastos son atraídos al lugar donde se generó previamente la resorción. Esta etapa es la menos conocida de todo el ciclo de remodelamiento, no se observa durante el crecimiento, por ello se denomina de "modelamiento". A diferencia del remodelamiento, el modelamiento no se encuentra acoplado en el sentido de que la formación puede

producirse donde previamente no existió resorción, siendo así el responsable del crecimiento en largo y ancho de los huesos.

La **formación** comprende dos etapas en las que los osteoblastos sintetizan primeramente la matriz del osteoide y luego regulan su mineralización. Los osteoblastos provienen de progenitores mesenquimáticos que pueden proliferar y diferenciarse a precursores osteoblásticos, pre-osteoblastos y osteoblastos maduros. A diferencia del osteoclasto que llega al hueso desde la circulación, los precursores osteoblásticos mayoritariamente lo alcanzan por migración de progenitores desde los tejidos conectivos circundantes. Cuando el hueso está inactivo los osteoblastos se encuentran sobre la superficie ósea y se las denomina células en reposo. Estas células presentan una forma alargada, plana que se modifica hacia una forma cúbica cuando existe formación activa. Dentro de la cavidad de resorción los osteoblastos primeramente forman una capa sintetizando proteínas de la matriz, principalmente colágeno tipo I y otras proteínas no colágenas (osteocalcina, osteonectina, factores de crecimiento, citoquinas, etc.), todas ellas importantes para el proceso de mineralización. A continuación se incorporan factores locales y citoquinas produciendo la maduración del osteoide. Sobre las fibras de colágeno maduro comienza el proceso de *calcificación* correspondiente a la incorporación de cristales de hidroxapatita. Todos estos procesos determinan que, a diferencia de la resorción, la formación sea más lenta (3 meses).

Los osteoblastos gatillan la mineralización liberando pequeñas vesículas pegadas a su membrana denominadas vesículas matriciales, que establecen condiciones óptimas para iniciar la deposición de mineral. Dichas vesículas concentran iones calcio y fosfato y enzimas que degradan a los inhibidores de la mineralización como pirofosfatos y proteoglicanos presentes en la matriz extracelular. A medida que la mineralización continúa, los osteoblastos quedan inmersos en la matriz y cambian su morfología transformándose en osteocitos. Es decir, que al cumplir su función, sólo aproximadamente el 20% de los osteoblastos muere por

apoptosis, el resto queda inmerso dentro de la matriz mineralizada que ellos mismos produjeron transformándose en osteocitos. Estas células no proliferativas corresponden al último estadio de diferenciación de las células del linaje osteoblástico, son relativamente inertes metabólicamente y como se ubican dentro de lagunas osteocíticas rodeadas de un tejido mineralizado duro pierden su capacidad migratoria.

Los osteocitos han tomado un interés creciente en los últimos años ya que se ha descubierto que participan activamente en la regulación homeostática del remodelamiento óseo. Estas células se caracterizan por tener una morfología estrellada que recuerda la trama dendrítica del sistema nervioso. Son las células más abundantes del hueso (10 osteocitos cada 1 osteoblasto) y se comunican entre sí o con células de la superficie ósea mediante múltiples extensiones de sus membranas citoplasmáticas. Su localización las transforma en excelentes células mecano sensoras capaces de detectar señales de "estrés mecánico", las que traducen en señales químicas (citoquinas), son enviadas a la superficie iniciando así el proceso del remodelado óseo. El osteocito se polariza en el sentido de que sus prolongaciones son más numerosas hacia la superficie del hueso para conectarse con células en reposo y/o con osteoblastos. Los osteocitos también participan en la finalización del proceso de formación ya que secretan una citoquina denominada esclerostina que tiene la particularidad de suprimir la función osteoblástica.

b.4 Regulación del remodelamiento óseo

El remodelado óseo es el proceso encargado de asegurar la renovación del hueso manteniendo el equilibrio entre los fenómenos de resorción-formación ósea y conservando así la integridad estructural del hueso y la homeostasis mineral del organismo. Se sabe que alteraciones en este equilibrio pueden derivar en enfermedades óseas como osteoporosis (ver más adelante) u osteopenia, por

tanto, es necesaria la existencia de un sistema de regulación que se encargue de mantener el balance entre ambos procesos. Así pues, podemos encontrar dos tipos de regulación del remodelado óseo: uno a nivel sistémico, encargado de controlar las funciones metabólicas del hueso, y otro a nivel local, encargado del control de las funciones estructurales del hueso.

b.4.1. Regulación sistémica del remodelado óseo

Las funciones metabólicas del esqueleto están controladas por una serie de hormonas entre las que destacan las hormonas calciotropas como la paratohormona (PTH), la 1,25dihidroxitamina D3 o calcitriol y la calcitonina, las hormonas sexuales, las hormonas tiroideas, hormonas de crecimiento y los glucocorticoides.

PTH. Es el regulador más importante en la homeostasis del calcio. Esta hormona es secretada por la glándula tiroidea cuando se produce un descenso en los niveles de calcio en el organismo con el fin de actuar sobre los depósitos de calcio que existen en el hueso y disminuir la pérdida de calcio renal e intestinal. En el riñón la PTH induce la reabsorción de calcio, la eliminación de fósforo y estimula la síntesis de calcitriol o 1,25 dihidroxivitamina D3 (forma activa de la vitamina D) el cuál, al mismo tiempo, inducirá la absorción de calcio intestinal a través de unas bombas de calcio dependientes de vitamina D3 (o calcitriol o vitamina D3). En el caso del hueso, la PTH activa la resorción ósea por los osteoclastos de forma indirecta estimulando a los osteoblastos quienes, en presencia de la hormona, expresan RANKL y otras citoquinas disparando la diferenciación osteoclástica y, por tanto, la resorción ósea¹⁰⁶ Se sabe que una administración de PTH de forma continuada induce la resorción ósea de acuerdo con lo que se acaba de describir. Sin embargo, la administración de forma intermitente de PTH induce la formación de hueso, por lo que en la actualidad se

considera a la PTH un posible agente anabólico¹¹³ Este doble comportamiento de la PTH refleja la complejidad del mecanismo de acción de la hormona.

1,25 dihidroxivitamina D3 o calcitriol. Se trata de la forma activa de la vitamina D. La mayor fuente de síntesis de calcitriol en el organismo es el riñón. Regula la reabsorción del calcio a nivel renal e intestinal y, en el hueso, estimula la resorción ósea ya que promueve la diferenciación de los osteoblastos y la maduración de los osteoclastos. Todas estas funciones las realiza en colaboración con la PTH. También estimula la expresión de IL-6 e IL-11 por las células estromales y osteoblásticas¹⁰⁹

Calcitonina. De forma contraria a la PTH y al calcitriol, que se sintetizan ante un descenso de calcio en el organismo, la calcitonina es una hormona que será secretada por la glándula tiroidea ante unos niveles elevados de calcio en el organismo. La calcitonina actúa de forma directa sobre los receptores de los osteoclastos inhibiendo la resorción ósea inducida por la PTH. Asimismo, esta hormona actúa inhibiendo la reabsorción de calcio en el riñón. De este modo la calcitonina consigue ejercer un efecto hipocalcemiante.

Estrógenos. Los estrógenos desempeñan un papel fundamental en el metabolismo óseo. Este hecho queda de manifiesto en la pérdida de masa ósea que ocurre en los primeros años de postmenopausia tras el cese de la actividad estrogénica que ocasiona un aumento del remodelado debido a la elevación de distintas citoquinas proresortivas como IL 1, M-CSF y TNF α .

Sus efectos sobre las células óseas están mediados por dos clases de receptores estrogénicos expresados en el citoplasma y núcleo: el alfa, presente en los osteoblastos y osteoclastos, y el beta, expresado solo por osteoblastos.

Los estrógenos ejercen además sus efectos positivos a través de un efecto parácrino. El papel de los estrógenos in vitro es la inhibición del desarrollo de los

osteoclastos favoreciendo su apoptosis por estímulo de la producción de TGF β por los osteoblastos además de inhibir la producción de IL-6, el principal estímulo para la resorción. Previenen la apoptosis osteoblástica. La deficiencia estrogénica incrementa la apoptosis de los osteocitos, lo que se ha propuesto que altera la función mecano sensora del sistema canalicular de reparación de microdaños contribuyendo a la fragilidad ósea.

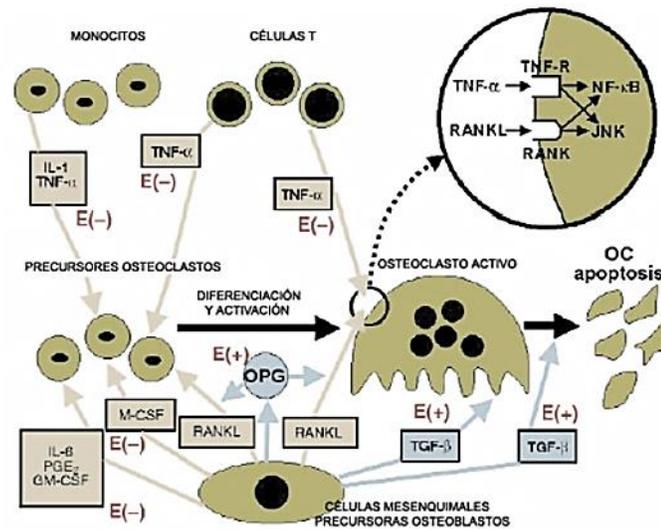


FIGURA 14. Efectos estrogénicos sobre el remodelado óseo, a nivel sistémico.

FUENTE. Garnero P ⁴³

b.4.2 Regulación local del remodelado óseo

En la regulación local del remodelado óseo intervienen un elevado número de factores que se encargan de controlar las funciones del mismo. La mayoría de ellos son citoquinas y factores de crecimiento que actúan sobre las células del hueso estimulando sus funciones.

Entre los factores estimuladores de los osteoclastos cabe destacar una gran variedad de citoquinas como la IL-1, que es un factor activador de los osteoclastos maduros; la IL-3, que estimula la diferenciación de los precursoros osteoclasticos; IL-4, 13 y 10 que inhiben la maduración osteoclástica; IL-6

estimula precursores hematopoyéticos; IL-11 estimula la producción de RANKL por los osteoblastos; IL-12 e IL-18 inhiben la formación de osteoclastos.

Además de estas citoquinas, otros dos factores a destacar son el factor de necrosis tumoral (TNF α), que está implicado en la diferenciación de los precursores monocíticos en pre osteoclastos, y el factor estimulador de colonias de macrófagos (M-CSF), que atrae a las células hacia la estirpe monocítica para que puedan proliferar y expresar RANK, que será el último factor clave para la diferenciación del osteoclasto. A parte de todos estos factores inductores de la osteoclastogénesis, hay otros factores que inhiben la formación de los osteoclastos como es el caso de INF γ .⁷¹ Entre los factores estimuladores de los osteoblastos hay que destacar a las proteínas morfogenéticas del hueso (BMPs) y al TGF- β .

Las BMPs, como ya se ha visto, regulan la diferenciación osteoblástica ya que inducen la expresión de factores de transcripción involucrados en la diferenciación del osteoblasto como, por ejemplo, Runx2, Osterix y proteínas Wnt. En cuanto al TGF- β , se trata de un factor implicado en la inhibición de la apoptosis osteoblástica y, además, estimula la apoptosis de los osteoclastos por lo que favorece la formación ósea.

b.4.3 Sistema RANK-RANKL-OPG

A pesar de todos estos factores involucrados en la regulación del remodelado óseo (citoquinas y factores de crecimiento), recientemente se ha descubierto un sistema de citoquinas propio del hueso que es vital para la homeostasis esquelética; estas citoquinas son RANKL (*receptor activator of nuclear factor KB ligand*), RANK (*receptor activator of nuclear factor KB*), y la osteoprotegrina (OPG)¹⁰¹ RANKL es una proteína de membrana que se expresa en osteoblastos y células del estroma en respuesta a inductores de resorción ósea como los glucocorticoides, IL-1, TNF, PTH, etc. La expresión de RANKL por

los osteoblastos coordina el remodelado óseo ya que inhibe la apoptosis de los osteoclastos y estimula su diferenciación y activación induciendo así la resorción ósea. Se trata, por tanto, de un promotor de la diferenciación y activación del osteoclasto.

La unión de RANKL con RANK, junto con M-CSF, es una señal necesaria y suficiente para generar osteoclastos¹⁰⁴ (Fig.15). En el caso de los preosteoclastos, la unión RANK-RANKL induce su diferenciación a osteoclastos maduros, mientras que en los osteoclastos maduros induce la activación y la prolongación de su supervivencia.

En el hueso, la osteoprotegerina (OPG) es una proteína soluble perteneciente a la familia de los receptores del factor de necrosis tumoral (TNF). Es producida por los osteoblastos y células del estroma, (Fig. 16) en respuesta a factores antirresortivos (TGF β , BMP), aunque actualmente se cree que la mayor fuente de síntesis de OPG en la medula ósea son las células B. Esta proteína no permanece unida a la membrana del osteoblasto sino que es secretada. Funciona como un receptor señuelo para RANKL, compitiendo con RANK en la unión a RANKL.

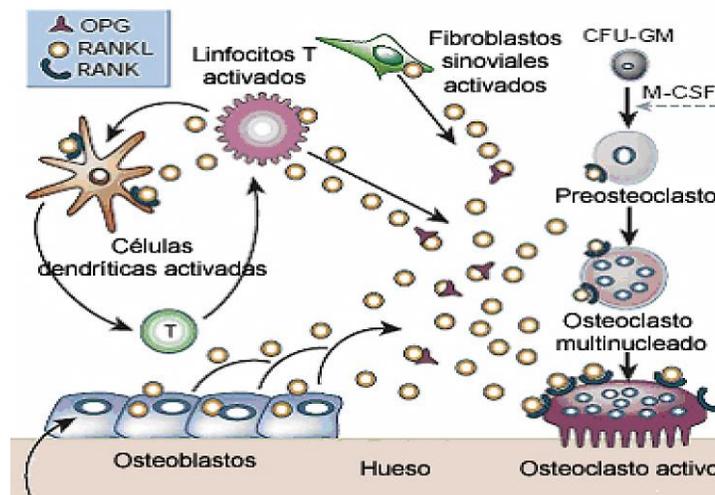


FIGURA 15. Acciones de OPG y RANKL sobre osteoclastos y células osteoblásticas

FUENTE. Seibel M.J.,¹²⁶

Por tanto, la OPG es un potente inhibidor de la formación de osteoclastos. El balance entre RANKL y OPG representa el principal determinante del número y de la actividad osteoclástica.

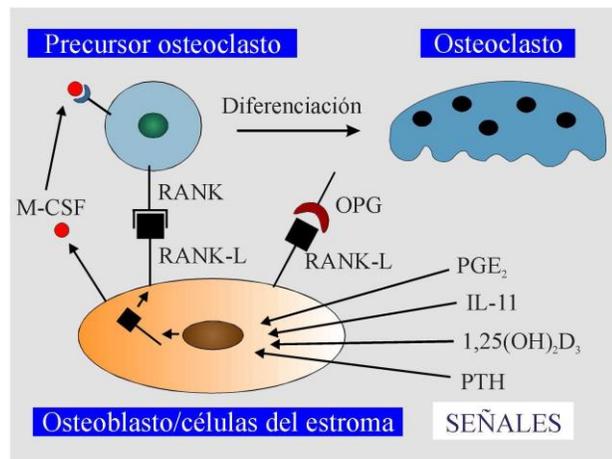


FIGURA 16. Sistema RANK-RANKL-OPG: el osteoblasto expresa RANKL en respuesta a inductores de resorción ósea (IL-11, PTH). RANKL se une a RANK (expresado por el osteoclasto) y, en presencia de M-CSF, inducirá la diferenciación del osteoclasto iniciando la resorción ósea. La OPG, sintetizada por el osteoblasto, se unirá a RANKL para impedir su unión a RANK e inhibir la resorción ósea.

FUENTE.. Seibel M.J.,¹²⁶

b.4.4. Regulación del sistema OPG/RANKL

Existen numerosos factores de crecimiento, hormonas, citoquinas y fármacos que actúan modulando la expresión de RANKL y/o OPG en las células óseas¹⁰⁹ La expresión de RANK sin embargo, se ve mínimamente afectada por estos factores y se cree que realmente es controlada por los niveles de RANKL y OPG.

Muchas de estas moléculas modulan el sistema RANKL-OPG activando la expresión de RANKL y disminuyendo, en casi todos los casos, la expresión de OPG. Así, la mayoría de las hormonas calcitropas y citoquinas resorptivas (calcitriol, PTH, IL-1, IL-6, TNF α) activan la expresión de RANKL en los osteoblastos y disminuyen la expresión de OPG, favoreciendo por tanto la osteoclastogénesis y la resorción ósea. Sin embargo, esta situación puede ser

revertida por la OPG cuya expresión se verá favorecida por la acción de citoquinas antirresortivas (INF γ , IL-4, etc.) y actuará inhibiendo la osteoclastogénesis inducida por RANKL. Por tanto el ratio OPG/RANKL será un factor determinante en el metabolismo óseo

En resumen, el RANKL (factor de diferenciación osteoclastica) y la OPG (factor inhibidor de la osteoclastogenesis), ambos expresados en los osteoblastos, actúan sobre la osteoclastogénesis que precede a la fase de resorción ósea: mientras el primero es un fuerte estímulo del proceso el segundo es su principal inhibidor. La OPG actúa como “receptor señuelo” del primero, evitando su unión al RANK.

Cuando hay un incremento absoluto o relativo de la resorción frente a la formación se produce un desequilibrio en el remodelado óseo y por ende una pérdida de masa ósea. Ello puede ser debido a un aumento de la resorción a consecuencia de que los osteoclastos excavan cavidades muy profundas que los osteoblastos son incapaces de restaurar (recambio óseo alto), o bien por un déficit en la formación, al producir los osteoclastos cavidades normales o incluso de menor profundidad pero que los osteoblastos no pueden rellenar (recambio óseo bajo); lo cual sucede en diferentes patologías óseas, donde el sistema OPG/RANKL juega un rol importante, especialmente en la osteoporosis postmenopáusica, la cual se debe principalmente a la deficiencia de estrógenos.

b.5 Pérdida ósea y deficiencia estrogénica

En el caso de las mujeres, la pérdida ósea experimenta una fuerte caída, respecto a los hombres, tras la menopausia debido a la disminución en los niveles de estrógenos, afectando principalmente al hueso trabecular y desencadenando así la aparición de la osteoporosis posmenopáusica y un aumento en el riesgo de fractura.

La disminución de la DMO que se produce con la deficiencia estrogénica en la menopausia (natural o quirúrgica) y el efecto protector de los estrógenos sobre la

pérdida de masa ósea y la incidencia de fracturas, demuestran claramente la relación que existe entre la deficiencia estrogénica y la pérdida ósea¹³². Sin embargo, el mecanismo preciso de acción de los estrógenos sobre el hueso no se conoce todavía.

El descubrimiento de receptores de estrógenos en las células del hueso (osteoblastos y osteoclastos) sugirió una posible vía de actuación directa de los estrógenos sobre el hueso¹⁴¹. La deficiencia estrogénica provoca un desequilibrio en el remodelado óseo con un predominio de la resorción ósea. En la última década se ha propuesto que los efectos directos que ejerce la deficiencia de estrógenos sobre el hueso se deben a cambios en la síntesis de determinadas citoquinas y factores reguladores por las propias células del hueso.

b.5.1 Alteración en los niveles de citoquinas (IL-1, IL-6 y TNF α).

La principal consecuencia de un aumento en los niveles de citoquinas en el microambiente del hueso, debido a la deficiencia estrogénica, es un incremento en el número de osteoclastos y una mayor tasa de osteoclastogénesis, una mayor actividad de los osteoclastos maduros y un aumento del tiempo de vida media de estas células.

Entre todas las citoquinas reguladas por estrógenos hay que destacar a IL-1, IL-6 y TNF α . Estas tres citoquinas inducen resorción ósea y diversos estudios han demostrado que su expresión disminuye con la administración de estrógenos¹¹⁵. La IL-1 y el TNF α son dos citoquinas con un elevado poder resortivo a nivel local y, además, actúan como inhibidores de la formación ósea¹³⁹.

En cuanto a la IL-6, se trata de un potente factor osteoclastogénico sintetizado por las células estromales y osteoblásticas en la deficiencia estrogénica. Actúa a través de sus receptores (IL-6R) estimulando la osteoclastogénesis de las células precursoras tanto en humanos como en ratones. Por lo tanto son tres factores

clave implicados en la osteoclastogenesis y en la resorción ósea asociadas a la deficiencia estrogénica.

Además de las citoquinas que acabamos de ver, la OPG es otra citoquina cuya expresión también se ve regulada por los niveles de estrógenos. Como ya se ha visto, la OPG es un fuerte inhibidor de la osteoclastogénesis ya que al actuar como receptor señuelo de RANKL impide su unión a RANK inhibiendo así la diferenciación de los osteoclastos y la resorción ósea. Existen estudios que han demostrado que los estrógenos inducen un aumento en la expresión de OPG en cultivos de osteoblastos humanos y como este efecto desaparece con la administración de antagonistas estrogénicos. Por lo tanto; los estrógenos desarrollan un papel muy importante en la homeostasis ósea y que su deficiencia está asociada a la aparición de la osteoporosis posmenopáusia.

Desde hace tiempo se sabe que algunos estados de inflamación se acompañan de pérdida ósea. Sin embargo, ha sido en los últimos años cuando se ha descubierto que algunos miembros del sistema inmune, como la célula T, están implicados en este proceso de pérdida ósea, sintetizando citoquinas resorptivas como RANKL¹⁰⁹ o TNF α , entre otras. No obstante, las células T también secretan citoquinas que inhiben este proceso tales como IFN- γ , IL-12, IL-18 y TGF- β . Aunque la mayor parte de los estudios se han realizado en ratones y no en humanos, todos estos hechos muestran una clara relación entre el sistema inmune y el metabolismo óseo, por lo que recientemente se ha acuñado el término “osteoinmunología” para reflejar este nexo de unión entre ambos sistemas¹³²

Se sabe que los estrógenos también regulan al sistema inmune y a las células T. Sin embargo, hace relativamente pocos años que los investigadores han encontrado una relación entre el sistema inmune y la pérdida ósea por deficiencia estrogénica. La deficiencia de estrógenos induce un aumento en los niveles de IFN- γ sintetizado por la célula T que provoca al mismo tiempo una mayor

presentación antigénica y un incremento en la activación de las células T. Estas células T activadas secretan RANKL, que activa directamente al osteoclasto, y $TNF\alpha$, que induce la expresión de RANKL por las células estromales y osteoblastos, por lo que esta situación desembocará finalmente en un aumento en la osteoclastogénesis y en la pérdida ósea ¹⁰⁹.

Los factores antes mencionados dan lugar a una enfermedad esquelética denominada **OSTEOPOROSIS** caracterizada por una resistencia ósea disminuida que predispone a una persona a un riesgo aumentado de fractura¹²² La resistencia ósea refleja fundamentalmente la integración de densidad y calidad óseas. La densidad ósea viene expresada como gramos de mineral por área o volumen, y en un individuo concreto viene determinada por el pico de masa ósea y por la cantidad de pérdida ósea. La calidad ósea se refiere a la arquitectura, recambio, cúmulo de lesiones (microfracturas) y mineralización. Cuando a un hueso que tiene afectada su resistencia se le aplica una fuerza inductora, aparece la fractura; por tanto, la osteoporosis es un factor determinante en el riesgo de fractura.

La osteoporosis es la enfermedad metabólica ósea más frecuente. Afecta tanto a hombres como a mujeres, aunque el riesgo es más elevado en mujeres.

Según criterios de la OMS, su prevalencia se estima en un 30% en mujeres caucásicas y en un 8% en varones caucásicos mayores de 50 años, y asciende hasta un 50% en mujeres de más de 70 años⁹⁴. Por tanto, según estos hechos, es lógico encontrar un mayor índice de fracturas osteoporóticas en mujeres que en varones. La OMS también estableció los criterios diagnósticos de osteoporosis, válidos para mujeres de raza blanca, en función de los valores de masa ósea obtenidos en la densitometría (DMO). Así se establece como valores de DMO superiores a -1 (DE) con relación a la medida de adultos jóvenes (T score > -1); osteopenia valores de DMO entre -1 y -2.5 DE (T score comprendido entre -1 y

2.5); osteoporosis valores de DMO inferiores a -2.5 DE (T score inferior a -2.5) y osteoporosis establecida cuando alguna de las situaciones descritas asocia una o más fracturas osteoporóticas (Fig. 17)

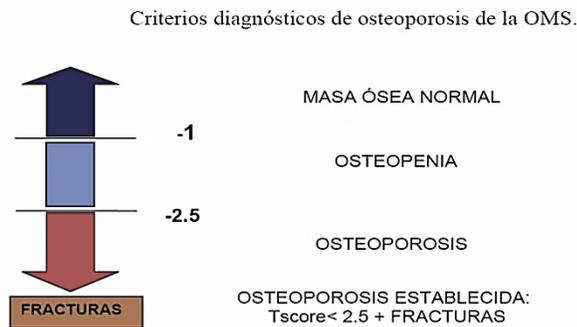


FIGURA 17. Criterios diagnósticos de osteoporosis de la OMS

FUENTE. OMS.⁹⁴

b.5.2 Etiopatogenia, factores de riesgo y clasificación de la osteoporosis

La etiopatogenia de la osteoporosis es desconocida, si bien diversos estudios epidemiológicos han identificado una serie de factores de riesgo para esta patología (Tabla 4), pues según la causa productora de la osteoporosis, podemos diferenciar dos tipos de osteoporosis⁹³

1. Osteoporosis primaria o involutiva.
2. Osteoporosis secundaria.

Modificables	No modificables
Actividad física escasa: sedentarismo	Edad
Escasa ingestión de calcio	Sexo (mujer)
Dieta hiperproteica	Genética
Tabaco	Menopausia
Abuso de alcohol	Hipogonadismo
Abuso de café	Enfermedades Endocrinas
Corticoides	Enfermedades Reumatológicas
Inmunosupresores	Enfermedades Nutricionales
Anticoagulantes	Enfermedades Digestivas
IMC: índice de masa corporal.	Neoplasias

TABLA 4. Factores de riesgo para la osteoporosis

FUENTE. Notelovitz M.⁹³

1. Osteoporosis primaria o involutiva

Es el grupo de osteoporosis más frecuente. Existen tres tipos de osteoporosis involutiva:

- Osteoporosis idiopática juvenil y osteoporosis del adulto joven:

Afecta a niños o adultos jóvenes de ambos sexos con función gonadal normal. La osteoporosis idiopática juvenil es un trastorno raro, que se inicia generalmente entre los 8 y los 14 años con la aparición brusca de dolor óseo y de fracturas con traumatismos mínimos. El trastorno remite espontáneamente en un periodo corto de tiempo. La osteoporosis idiopática del adulto joven se observa en varones jóvenes y mujeres premenopáusicas en las que no se observa ningún factor etiológico. La evolución en este caso es variable aunque no suele producir un fuerte deterioro en el paciente.

- **Osteoporosis posmenopáusica o tipo I:** se produce en la mujer como consecuencia de la deficiencia estrogénica y conlleva una pérdida ósea acelerada que afecta principalmente al hueso trabecular. Existe un aumento en el riesgo de fractura, sobre todo a nivel de vértebras y extremidad distal del brazo⁸⁶ Sobre la cual nos enfocaremos en el siguiente trabajo de investigación.

- Osteoporosis senil o tipo II: se produce en ambos sexos como consecuencia de la pérdida de masa ósea que se produce por el proceso de envejecimiento. Es un proceso de pérdida ósea más lento y afecta tanto a hueso trabecular como cortical. Las fracturas más frecuentes se producen a nivel de la cadera⁸⁹.

2. Osteoporosis secundarias: Este tipo de osteoporosis viene derivada por algún otro tipo de alteración como puede ser enfermedades (hiperparatiroidismo, hipertiroidismo, anorexia nerviosa, hipogonadismo masculino, malabsorción, etc.) o tratamientos (glucocorticoides).

b.5.3. Osteoporosis postmenopáusicas

La reducción en la producción de hormonas sexuales en la mujer a partir de los 50 años se asocia a una desmineralización más intensa de los huesos, tal como se detalló anteriormente en la pérdida ósea por deficiencia estrogénica, esto da lugar a una resistencia ósea disminuida, aumentando el riesgo de fractura. Esta pérdida acelerada o por brotes que ocurren en una tercera parte de todas las mujeres a partir de la menopausia, debe diferenciarse de las pérdidas lentas. Existen factores ginecológicos que ayudan a identificar las mujeres con osteopenia. Están especialmente en peligro las que han sufrido una menopausia prematura quirúrgica y no han recibido tratamiento hormonal sustitutivo.

Se ha sugerido sobre las bases de datos bioquímicos, que la pérdida ósea de algunas mujeres es más rápida que en otras durante la menopausia (son las que llaman perdedoras lentas y perdedoras rápidas). Este concepto si se demostrara que es válido, tendría importantes implicaciones para la identificación de mujeres de alto riesgo para la osteoporosis.

En los 3 primeros años de la menopausia, la pérdida anual en columna es de un 4%, en los siguientes 2 años de un 2%, en el antebrazo es de un 2% y 1,3% respectivamente en los mismos periodos de tiempo.

Estas regiones óseas contienen proporciones variables de hueso cortical y trabecular, con la excepción de la mitad del radio que es casi todo hueso cortical. Aunque el impacto de la menopausia es universal en todo el esqueleto el uso de la tomografía computarizada de las vértebras ha mostrado que la mayor disminución en el hueso ocurre en la parte central de las vértebras que es predominantemente hueso trabecular.

El cálculo de los índices de pérdida ósea después de la menopausia muestra que estos pueden ser considerables. En la región trabecular central de la vértebra los índices de pérdida anual son del 10% durante los dos primeros años. En contraste, el índice de pérdida ósea cortical en el radio oscila del 2 - 3% por año.

Estas diferencias en los índices de hueso cortical y trabecular pueden reflejar simplemente que el hueso trabecular tiene un área de superficie disponible mayor que la resorción.

Este aumento repentino en la resorción neta de hueso durante los primeros 4 años después de la menopausia, refleja un incremento en la activación de muchas más áreas de resorción y puede ser medido bioquímicamente en plasma.

Durante los siguientes 4 años hay un incremento en los marcadores bioquímicos de la resorción ósea y presumiblemente esto refleja un aumento en el número de áreas de remodelación ósea. Un desarrollo adicional puede ser que los osteoclastos produzcan cavidades más profundas de lo habitual y éstas son incompletamente rellenadas por los osteoblastos. Probablemente ocurren ambos procesos. Así el 50% de la disminución de la densidad mineral ósea de la columna ocurre en los primeros 8 años después de la menopausia.

Aunque la deficiencia estrogénica es una causa importante de la pérdida de hueso trabecular, debería hacerse notar, sin embargo, que la pérdida ósea trabecular relacionada con el cuello femoral ocurre independientemente de la actividad estrogénica en el período pre y posmenopáusico tardío.

b.6 El laboratorio como método auxiliar diagnóstico de osteoporosis

En circunstancias fisiológicas, la resorción y formación ósea son procesos complementarios; sin embargo, cuando uno de los dos procesos predomina, el resultado es una pérdida de la masa ósea. La densitometría ósea es incapaz de identificar cambios en la masa ósea a corto plazo cuando se utiliza terapia antirresortiva. Por lo tanto, se ha buscado un método de valoración del remodelado óseo que sea rápido, preciso y de bajo costo. Es importante recalcar que tanto la historia clínica como la exploración física del paciente orientarán al médico a solicitar estudios de laboratorio, partiendo desde lo general hasta lo específico para efectuar el diagnóstico diferencial entre diversas enfermedades

sistémicas. Por lo tanto, las mediciones bioquímicas del remodelado óseo pueden ser de utilidad cuando se evalúan pacientes con alto riesgo de desarrollar osteoporosis. Actualmente, estos marcadores son también el mejor medio disponible para determinar el éxito de la terapia antirresortiva. Cambios tempranos en estos marcadores se asocian con cambios en la masa ósea. Tales marcadores pueden ser divididos en dos grupos: resorción y formación.

Las primeras técnicas para medir los marcadores urinarios de remodelación ósea resultaron imprecisas e inexactas, por lo que se desarrollaron ensayos en suero para determinar su utilidad en la práctica clínica. Básicamente, estos marcadores son o una enzima relacionada directamente con la actividad de osteoblastos u osteoclastos, o un constituyente de la matriz ósea liberado a la circulación. Dentro de estos parámetros bioquímicos se incluyen: marcadores de metabolismo mineral y los de remodelado óseo como tal, donde a su vez se incluyen aquellos que evalúan la resorción y los que miden la formación (Tabla 5)

Estos **Marcadores Bioquímicos de Remodelado Óseo** son productos secretados por la actividad de las células óseas que se liberan al torrente sanguíneo y pueden ser determinados en sangre y/o orina. Los que provienen de la actividad de los osteoblastos se denominan "marcadores de formación" y todos ellos se evalúan en sangre. Los provenientes de la actividad de los osteoclastos se denominan "marcadores de resorción" y aunque en un principio se determinaban en orina, actualmente es posible evaluarlos en suero; o bien productos que se originan durante la formación o la degradación del colágeno tipo 1, la principal proteína que forma la matriz orgánica del hueso. Estos marcadores son de gran utilidad ya que mediante su determinación se puede evaluar la tasa de resorción y formación ósea y, por tanto, reflejan el proceso de remodelado óseo en su conjunto. En Tabla 6 se enumeran los marcadores bioquímicos del remodelamiento óseo actualmente disponibles en forma comercial.

MARCADORES BIOQUÍMICOS ÓSEOS	
Formación ósea	Resorción ósea
Fosfatasa alcalina total	Fosfatasa ácida tartrato-resistente TRAP 5b
Fosfatasa alcalina ósea	Telopéptido del colágeno tipo I carboxilo terminal de la región α_1 (ICTP)
Osteocalcina	Telopéptido del colágeno tipo I carboxilo terminal (CTX o <i>Crosslaps</i>)
Propéptido N-terminal del colágeno tipo I (PINP)	Telopéptido del colágeno tipo I amino terminal (NTX)
Propéptido C-terminal del colágeno tipo I (PICP)	Deoxipiridinolina Piridinolina

TABLA 5. Marcadores bioquímicos óseos más utilizados

FUENTE. Seibel M.J.,¹²⁶

b.6.1 Marcadores de formación ósea. Son proteínas liberadas del tejido óseo o sus fragmentos, o enzimas relacionadas con las células óseas durante el proceso de remodelado óseo, estas proteínas pueden ser producto de la formación de colágena o productos de la degradación de la misma, o bien proteínas no colágenas como son osteocalcina o sialoproteínas óseas.

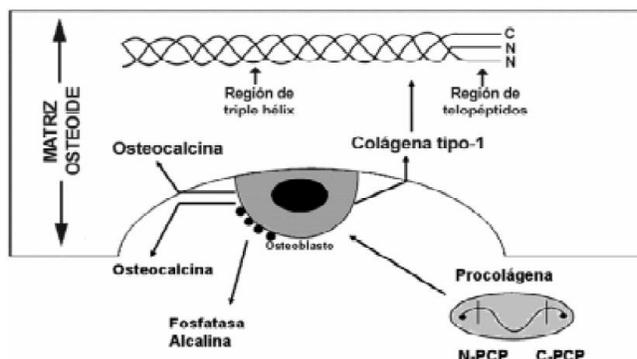


FIGURA 18. Diagrama que muestra la erosi3n producida por los osteoclastos a la matriz 3sea donde los osteoblastos inician el proceso de reparaci3n. En este sitio los osteoblastos se activan sintetizando nueva col3gena tipo-1 tomando para ello mol3culas de pro-col3gena de la circulaci3n; al seccionar los extremos terminales de la mol3cula de pro-col3gena se liberan a la circulaci3n los fragmentos N-PCP y C-PCP. La osteocalcina se sintetiza en el osteoblasto, la mayor parte es depositada en la matriz 3sea, pero parte de ella es liberada a la circulaci3n. La fosfatasa alcalina es una enzima de membrana celular del osteoblasto que se produce cuando el osteoblasto se encuentra activo.

FUENTE. Taguchi.¹³¹

- **Fosfatasa Alcalina Ósea (FAO - BAP).** Es una glicoproteína tetramérica que pertenece a una gran familia de proteínas unidas a las membranas celulares plasmáticas mediante un grupo glicano-fosfatidil-inositol carboxilo terminal. Tiene una vida media de 1-2 días, lo que contribuye a que su variación diurna sea mínima. Existen varias isoenzimas de fosfatasa alcalina: placentaria, intestinal, de células germinales y hepática/hueso/riñón. La isoenzima de fosfatasa alcalina encontrada en el hígado y huesos es el principal componente de esta enzima en el suero y es por ello que la medición de la actividad de fosfatasa alcalina total en el suero es un pobre indicador de la formación ósea. En condiciones normales los niveles sanguíneos de FAO corresponden a sólo el 40% de la FAL total, el resto es fundamentalmente hepático aunque en ciertos casos pueden encontrarse fracciones significativas de naturaleza intestinal o placentaria. En niños y adolescentes la isoenzima predominante es la FAO que puede alcanzar un nivel entre 70% y 90% de la FAL.

En pacientes con osteoporosis pueden producirse ligeros decrementos en la actividad de fosfatasa alcalina, alcanzando 2 veces el límite inferior normal del rango de referencia.

Se ha mejorado la especificidad de la medición de la fosfatasa alcalina mediante el empleo de pruebas específicas para la fracción ósea de la fosfatasa alcalina (B-ALP). Esta enzima juega un papel muy importante en la mineralización y en la formación osteoide. Su fracción ósea es producida por el osteoblasto y puede ser medida mediante desnaturalización con calor, electroforesis, precipitación de lectina, inhibición selectiva y más recientemente por inmunoensayos. Por ello, la medición de su actividad en suero es una medida indirecta del proceso de formación, más sensible y específica que la de FAL. La determinación sérica de FAO presenta poca variabilidad entre sujetos, baja variabilidad metodológica y biológica. En osteoporosis con bajo remodelado no es muy sensible aunque su mayor utilidad radica en detectar el incremento del remodelamiento óseo durante la postmenopausia. En la actualidad, la sensibilidad y especificidad clínica de

FAO se ha incrementado por la disponibilidad comercial de inmunoensayos con anticuerpos monoclonales específicos.

- **Osteocalcina (OC)**, es el constituyente proteico no colágeno más importante de la matriz ósea con un porcentaje que ronda el 15%. Corresponde a un pequeño péptido de 49 aminoácidos sintetizado por los osteoblastos en los últimos estadios de la formación ósea como una molécula precursora llamada pro-osteocalcina y bajo el control de la vitamina D. Este pro péptido contiene tres residuos de ácido glutámico (glu) en las posiciones 17, 21 y 24 que se carboxilan postraslacionalmente a ácido carboxiglutámico (gla) en una reacción dependiente de vitamina K. La fracción propeptídica se elimina de la molécula al mismo tiempo que la proteína carboxilada se vuelca al espacio extracelular donde se une a la hidroxiapatita vía Ca^{++} a través de los residuos de gla. (Fig. 19)

Parte de la OC pasa a la circulación donde es rápidamente degradada en el riñón a un péptido menor. Los tiempos de vida media de este y otros fragmentos son mayores a los de la OC intacta y se acumulan en la insuficiencia renal crónica (IRC). Cuando el hueso se degrada, la OC carboxilada que se encontraba unida a la hidroxiapatita, pasa también a la circulación y sufre la misma metabolización que aquella fracción carboxilada que no fuera utilizada en el proceso de formación ósea. Por ello, actualmente la medición de OC carboxilada intacta se considera un marcador de remodelamiento más que de formación.

En circulación no solo se encuentra la OC carboxilada intacta, sino también los distintos fragmentos de su metabolización, que no pueden discriminarse si provienen del proceso realizado en sangre, tejido óseo o ambos. Esto hace que los distintos métodos de medición de OC den resultados dispares.

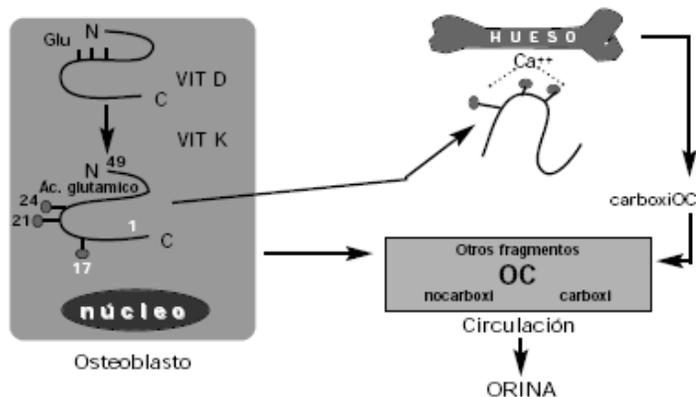


FIGURA 19. Metabolismo de la osteocalcina.

FUENTE. Taguchi G.L.,¹³¹

Los niveles de OC no carboxilada se encuentran suprimidos en individuos con bajo tratamiento con glucocorticoides lo que podría reflejar, en parte, la acción de estos compuestos sobre la expresión del gen de OC. Asimismo, recientemente se la ha señalado como una "hormona" del osteoblasto que regularía el metabolismo lipídico y energético. La secreción de osteocalcina es circadiana con niveles pico a las 4:00 A.M. y a las 5: P.M. Esta actividad cíclica refleja un aumento del *turnover* en la noche.

- **Propéptidos de colágeno (CICP)**, derivan del colágeno tipo I, principal proteína extracelular de la matriz ósea. Aunque el colágeno tipo I no es exclusivo del hueso, el que se encuentra en tejido óseo tiene ciertas características propias. Es un heterodímero constituido por dos cadenas α_1 (I) y una cadena α_2 (I) que presenta una larga cadena media helical y dos regiones cortas no helicoidales propeptídicas a cada extremo de la cadena. Los osteoblastos sintetizan el colágeno tipo I en una fase temprana de su diferenciación en forma de una cadena prepro-alfa. El gen COL1A1 que se encuentra en el cromosoma 17 y el gen COL1A 2 presente en el cromosoma 7 codifican para ambas cadenas. El

preprocolágeno en el retículo endoplasmático rugoso pierde la fracción N-terminal y se transforma en procolágeno el cual será modificado post-traslacionalmente por varias enzimas específicas del tejido óseo. Estas modificaciones incluyen la hidroxilación de residuos de lisina y prolina; glicosilación de la hidroxilisina a galactosil-lisina o gluco-galactosil- hidroxilisina y por último, la fosforilación de residuos de serina. Mientras la glicosilación ocurre en la fracción C-terminal, la fosforilación ocurre en el extremo N-terminal de los propéptidos. Las tres cadenas alfa se ensamblan mediante puentes disulfuro dando el propéptido de colágeno tipo I que se caracteriza por tener largas extensiones terminales propeptídicas amino (N-) y carboxilo (C-) terminal. Mientras el propéptido C-terminal (PICP) es globular, el propéptido N-terminal (PINP) es parte globular y parte helical. El procolágeno tipo I es secretado, vía el complejo de Golgi, al espacio extracelular donde es degradado por endopeptidasas. El PICP o CICP es separado en primer lugar por la Proteína Morfogénica 1 (BMP1), mientras el PINP es liberado luego por otras enzimas. El colágeno tipo I se incorpora a la matriz ósea y los propéptidos pasan a la circulación donde pueden evaluarse como marcadores de formación por inmunoensayos específicos (Fig.20).

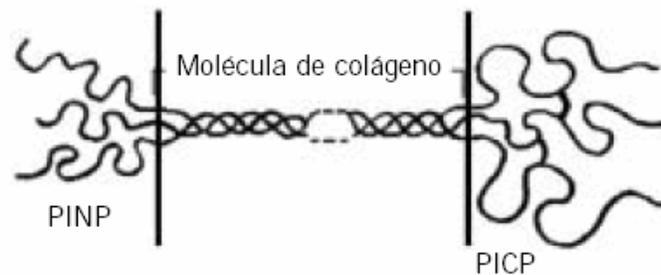


FIGURA 20. Fracciones propeptídicas del colágeno tipo I.

FUENTE. Taguchi G.L.,¹³¹

El colágeno tipo I no es específico del hueso pero, entre aquellos que lo contienen, este tejido es el que presenta mayor remodelamiento por ello sus

propéptidos, en concordancia con estudios histomorfométricos, reflejan la actividad total de formación ósea. Distintos estudios avalan este concepto y demuestran que la fracción N-terminal es la de mayor utilidad clínica. Existen varios ensayos para la medición de PINP, uno de ellos es un ELISA (PINP) que utiliza anticuerpos policlonales dirigidos contra una secuencia sintética de la cadena proalfa 1 obtenida de líquido amniótico; otro es un RIA donde el antígeno se obtiene de cultivos celulares de osteosarcoma. En el primer caso la concentración de PINP obtenida es 100 veces mayor que la del PICP, ya que este ensayo mide tanto la fracción intacta como un pequeño fragmento del Col1 que se obtiene por metabolización renal del PINP y que, por lo tanto, se acumula en IRC. El método RIA sólo mide la fracción intacta. Su medición es utilizada en la menopausia para detectar cambios en la remodelación ósea y para el seguimiento en la terapia con estrógenos. El PICP puede medirse por RIA o ELISA. Sin embargo, presenta poca especificidad y falta de respuesta en condiciones de bajo recambio óseo.

b.6.2 Marcadores de resorción ósea. La resorción ósea es el principal factor que controla tanto la calidad como la densidad de los huesos del esqueleto del adulto. Cuando los osteoclastos reabsorben hueso, degradan la matriz extracelular y liberan diferentes productos de la descomposición de colágeno tipo I hacia la circulación, después son metabolizados en el hígado y los riñones donde se eliminan de la siguiente manera: de forma libre (40-50%) o en forma de péptidos unidos (50-60%). Diversos marcadores de resorción han sido descritos en los últimos años; sin embargo, dentro de los marcadores se incluyen otras proteínas no colágenas como son sialoproteínas óseas o tartrato resistente a la fosfatasa ácida. Pueden ser medidos tanto en orina como en sangre, pero la orina es el espécimen más utilizado.

- **Calcio en orina.** El calcio urinario de 24 h proviene del metabolismo general y representa la cantidad filtrada por los glomérulos y no reabsorbida a nivel de los túbulos renales, siendo los valores de referencia de hasta 250 mg/24 h en la mujer y hasta 300 mg/24 h en el hombre. La calciuria de 2 h se mide en la 2º orina de la mañana recogida en ayunas después de ingerir 200 cm³ de agua destilada. Se expresa en mg/mg de creatinina. Ambas muestras son poco específicas y sensibles pero como se trata de un marcador muy económico y accesible a cualquier laboratorio de rutina se lo utiliza actualmente para detectar cambios en el recambio óseo.
- **Hidroxiprolina.** (OHP) se forma intracelularmente. Es un aminoácido no esencial que proviene de la hidroxilación post-traslacional de prolina y constituye el 10% del contenido de colágeno maduro.

El 90% de OHP es liberada durante la degradación del colágeno tipo I, pasa a circulación, se metaboliza en el hígado y posteriormente es excretada en la orina donde se encuentra en forma libre sólo en un 10%. El mayor porcentaje corresponde a OHP unida a péptidos por lo cual para su determinación colorimétrica es indispensable una hidrólisis previa. Su excreción es mayor en niños que en adultos y además puede estar influida por el contenido de carne o gelatina de la dieta, por lo que debe realizarse una dieta exenta de productos que la aporten durante las 48 h previas a la recolección de orina. Sólo el 10% de la OHP proviene del colágeno tipo I degradado del hueso ya que otras proteínas la aportan, entre ellas el componente C1q del complemento o bien de colágeno recientemente sintetizado. Parte de este aminoácido se metaboliza y reutiliza para la síntesis de nuevas proteínas lo que determina que sea un marcador inespecífico para determinar la degradación del tejido óseo. La mayoría de los métodos utilizados para su detección son engorrosos lo que aumenta su variabilidad con un coeficiente de variación entre 10 a 12%. Puede

determinarse por HPLC (cromatografía de alta presión líquida), aunque dicha metodología no se encuentra disponible para cualquier laboratorio de análisis clínicos. Como los niveles de OHP urinaria reflejan básicamente la cantidad de este aminoácido proveniente de la resorción ósea de colágeno sintetizado recientemente, esto hizo que su uso primordial haya sido determinar la actividad y seguimiento de la enfermedad de Paget. En osteoporosis presenta baja sensibilidad ya que existe gran sobre-exposición con los valores obtenidos en muestras de sujetos normales y si bien la determinación de HOP urinaria fue el marcador de resorción histórico, con el tiempo ha sido reemplazado por otros más sensibles y específicos de hueso.

- **Piridinolinas.** Cuando el procolágeno tipo I pierde sus fracciones propeptídicas y se transforma en colágeno tipo I se deposita en forma de fibrillas longitudinales sobre la matriz ósea. Éstas se contactan con otras fibrillas dando lugar a una fibra colágena que se estabiliza por medio de puentes de entrecruzamiento entre ellas denominados *cross-links*. Su formación comienza con la desaminación del grupo amino de la lisina e hidroxilisina presentes en la región telopeptídica de una molécula de colágeno a su aldehído correspondiente. Este compuesto desaminado reacciona con otros residuos de lisina o hidroxilisina localizados en una molécula de colágeno vecina formando estructuras cíclicas llamada piridinolinas. Los residuos de hidroxilisina son mucho menos abundantes en el tejido óseo respecto de otros tejidos, lo contrario ocurre con los residuos de lisina. Se conocen dos formas de piridinolinas: si el residuo que interactúa dentro de la molécula de colágeno es la hidroxilisina el producto de entrecruzamiento maduro se denomina piridinolina (Pir), mientras que si el residuo es la lisina se denomina deoxipiridinolina (D-Pir) (Fig. 21). Estos productos de entrecruzamiento son importantes ya que determinan las propiedades biomecánicas y estructurales del hueso.

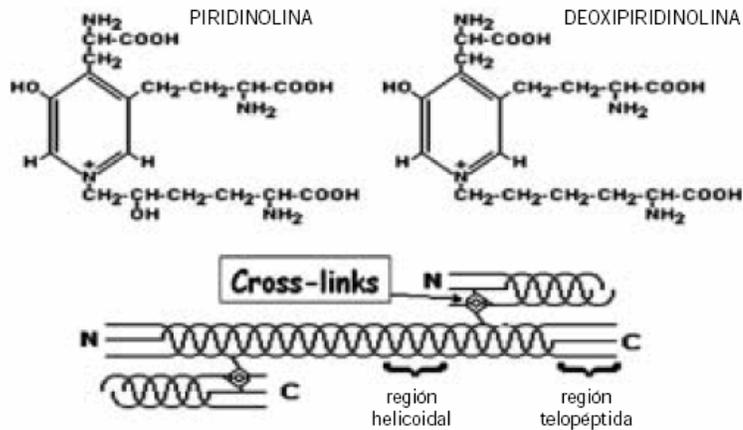


FIGURA 21. Productos de entrecruzamiento del colágeno tipo I (Pir y D-Pir).

FUENTE. SCHULZ.¹²⁵

La Pir y la D-Pir, también llamadas Hidroxilisilpiridinolina (HP) y Lisilpiridinolina (LP), estabilizan la molécula de colágeno maduro y constituyen uniones únicas para las moléculas de colágeno y elastina. Cuando el colágeno es degradado por osteoclastos, ambas se vuelcan a la circulación y, a diferencia de la hidroxiprolina no sufren metabolización posterior y son excretadas directamente en la orina. Estos *cross-links* no son exclusivos del hueso: la Pir está presente en el colágeno tipo II del cartílago y otros tejidos conectivos, mientras que D-Pir se ubica casi exclusivamente en hueso y dentina. Por ello la D-Pir urinaria es más específica como marcador de resorción ósea. 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 la D-Pir presente en la orina de un adulto será la que provenga de la resorción ósea. La D-Pir se encuentra en orina tanto en forma libre (40%) como unida a péptidos (60%). Una ventaja respecto de la determinación de hidroxiprolina es que no es necesaria una dieta previa a la toma de muestra, siendo de esta manera un marcador excelente de pérdida ósea. Sin duda, es evidente que estos productos de la proteólisis del colágeno proporciona un índice

cuantitativo de la resorción del hueso, con una especificidad muy mejorada sobre la hidroxiprolina urinaria

Las piridolinas fueron las primeras que se encontraron en orina hace una década. Debido a que el hueso es excepcional entre tejidos conectivos al ser continuamente remodelado, el contenido de Pyr cross-links en orina es considerado principalmente de origen óseo, una conclusión sostenida por la relación molar de Pyr:D-Pyr en orina que es similar a la del hueso.

Las ventajas teóricas de las Pyr y D-Pyr sobre la hidroxiprolina como marcador de la resorción ósea son variables. Primero, están formadas solamente en las fibrillas del colágeno extracelular y por lo tanto se originan como productos de degradación de matriz madura y no del colectivo de moléculas de colágeno nuevas que fallan en fibrillas extracelulares. Segundo, parece no ser significativo el catabolismo de estos aminoácidos en el cuerpo de modo que proporciona una medida directa de la masa de colágeno resorbido y por lo tanto del tejido de origen. Tercero, el enlace cruzado menos abundante, D-Pyr, es encontrado en cantidades significativas sólo en colágeno de hueso, de modo que su medida constituye un índice aún más específico de resorción ósea que las piridolinas totales. Finalmente, las Pyr en colágeno dietético o gelatina no parece ser absorbida a través del intestino por lo que no hay contribución dietética.

La excreción urinaria de piridinolina y deoxipiridinolina aumenta con la edad y en los pacientes con ciertos estados patológicos, incluyendo el hipertiroidismo y la enfermedad de Paget. Los niveles urinarios de estas moléculas también se encuentran elevados en pacientes con osteoporosis, y los niveles disminuyen durante el tratamiento con medicamentos antirresortivos. La excreción de piridinolina y deoxipiridinolina correlaciona bien con otros marcadores de resorción ósea, confirmando su utilidad como marcador de pérdida ósea.

La excreción urinaria de la deoxipiridinolina, se encuentra aumentada en la postmenopausia temprana y regresa a los niveles pre-menopáusicos con el tratamiento de reemplazo hormonal. Se ha encontrado que el grado de pérdida de

masa ósea en 2 años determinada por densitometría puede ser calculado utilizando una combinación de marcadores, permitiendo detectar a aquellas mujeres que tienen un remodelado alto como perdedoras rápidas.

- **Telopéptidos amino y carboxilo terminal del colágeno tipo 1.** La degradación de la matriz ósea es esencial para que se produzca el remodelamiento óseo. Dos tipos de enzimas proteolíticas se encuentran involucradas en dicho proceso, la catepsina K lisosomal y las MMPs (metaloproteasas de la matriz) cuya actividad depende del estado de remodelamiento y del tipo de hueso a ser remodelado. Actualmente se considera que la catepsina K, cuya actividad es máxima a pH ácido, es la principal colagenasa del proceso de resorción ósea. Esta enzima es capaz de degradar al colágeno en varios sitios dando lugar a pequeños péptidos N- y C-terminales, dejando así expuesta a la molécula de colágeno para la acción de otras colagenasas que actúan a pH neutro, entre ellas las MMPs. Se considera en la actualidad que los telopéptidos N- y C-terminal, conocidos como NTX y CTX, respectivamente son los marcadores más sensibles y específicos de la resorción ósea, ya que los niveles de telopéptidos en sangre o en orina aumentan en pacientes con enfermedades óseas asociadas con aumento en la resorción (osteoporosis posmenopáusicas) y disminuyen en pacientes con osteoporosis en respuesta a tratamiento antirresortivo (véase FIGURA 22). Estos fragmentos se forman por la actividad de la catepsina K y aparecen en cantidades significativas, tanto en sangre como en orina, donde pueden medirse por inmunoensayos específicos. Su especificidad es de 80% y su sensibilidad de 70%.

La medición sérica proporciona una ventaja con respecto al ensayo en orina porque evita el efecto aditivo de la variabilidad biológica de la excreción de creatinina urinaria.

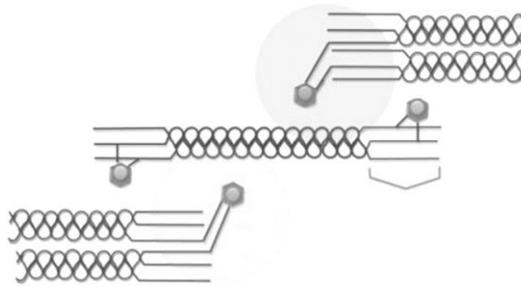


FIGURA 22. Telopéptidos carboxilo (C-) y amino (N-) terminal del colágeno tipo I.

FUENTE. Raisz L.G.,¹⁰⁶

- **Fosfatasa ácida tartrato resistente (TRAP)**, consiste en una familia de isoenzimas que se expresan en diferentes tejidos y células tales como próstata, hueso, hígado, riñón, bazo, plaquetas, eritrocitos, macrófagos y osteoclastos. En sangre la FA circula como dos fracciones diferenciadas por su sensibilidad al tartrato. Todas las fosfatasa ácidas son inhibidas por L-tartrato, excepto la banda 5 que se denomina fosfatasa ácida tartrato resistente (TRAP). Existen dos subtipos conocidos de TRAP: 5a y 5b que se diferencian en que la 5a contiene ácido siálico y la 5b no. Esta última proviene de los osteoclastos; el origen de TRAP-5a es desconocido, pero podría ser expresada por los macrófagos. Los niveles de TRAP-5b representan el número y actividad de los osteoclastos más que el nivel de degradación ósea, aun así su actividad en suero aumenta en las condiciones clínicas en que el remodelamiento óseo se encuentra aumentado y un cambio en su concentración sérica se considera un índice específico de alteración aguda de la resorción ósea. La mayoría de los ensayos para la medición de TRAP utilizaban métodos colorimétricos donde no era posible diferenciar ambas isoformas. En la actualidad existen inmunoensayos con anticuerpos monoclonales específicos para TRAP-5b, aun así la medición de los niveles de TRAP es técnicamente difícil por lo que su utilidad en la práctica clínica ha sido limitada.

- **Catepsina K.** Descubierta en 1994 a partir del análisis diferencial del ADN de osteoclastos y macrófagos en ratones, la Catepsina K es un miembro de la familia de las cisteínas proteasas constituida por 215 aminoácidos, secretada en forma de pro enzima de 329 aminoácidos que a diferencia de otras catepsinas, tiene la capacidad única de cortar las regiones helicoidales y telopeptídicas del colágeno tipo I, así como la de actuar a pH ácido y neutro. Estudios inmunocitoquímicos demostraron que la catepsina K se encuentra intracelularmente en vesículas, gránulos y vacuolas en el citoplasma de los osteoclastos y es secretada dentro de las lagunas de resorción ósea donde participa de la degradación extracelular del colágeno. Debido al hecho de que la catepsina K es expresada y secretada por osteoclastos durante la resorción ósea activa actualmente es considerada un marcador de la actividad osteoclástica. Para su medición existen disponibles inmunoensayos específicos.

- **Otras Proteínas no Colágenas de la Matriz Ósea:** Además de la osteocalcina se han identificado otras proteínas no-colágenas en la matriz ósea. Algunas de ellas son: Glucoproteínas fosforiladas participan en la regulación y el mantenimiento del proceso de mineralización.

Sialoproteína ósea (BSP): sintetizada por los osteoblastos, como por algunos osteoclastos y se deposita en el nuevo tejido osteoide. Se ha sugerido que está involucrada en la regulación del remodelado óseo, si bien recientemente, gracias a la posibilidad de utilizar un inmunoensayo específico, se ha demostrado que refleja procesos asociados con la resorción ósea.

Galactosil-hidroxilisina y glucosil-galactosil-hidroxilisina: Ambos se sintetizan durante la síntesis de procolágeno, el primero sobre todo del colágeno óseo. No se metabolizan y sus niveles se afectan menos por la dieta. De momento no se pueden determinar directamente por inmunoensayo, lo que ha limitado su amplia utilización clínica.

Osteonectina y la osteopontina: La osteopontina y la osteonectina pueden ser sintetizadas por los osteoblastos, pero también están presentes en otros tejidos conectivos. La osteopontina se fija a la hidroxiapatita, pero también a las células y participa durante la resorción osteoclástica posiblemente vía mediación de la fijación de los osteoclastos a la superficie de la fase mineral.

b.6.3 Utilidad clínica de los Marcadores del Remodelamiento Óseo

La utilidad de la determinación de marcadores de remodelado en el campo de la osteoporosis postmenopáusica que a continuación se detalla, es controvertida. Los datos existentes reflejan una mayor tasa de pérdida ósea y de fracturas en pacientes con alto remodelado, pero los resultados proceden de estudios poblacionales y en muchos casos retrospectivos y no está clara su aplicación en la práctica clínica diaria y en la valoración de un paciente individual.

Predicción de la Masa Ósea. Los marcadores bioquímicos evalúan el balance entre la resorción y formación del hueso y aun cuando los marcadores óseos generalmente correlacionan con la DMO, estas correlaciones no son lo suficientemente fuertes para tener valor en términos de predicción de masa ósea para un individuo. Por lo tanto, estos marcadores no pueden, ni deben ser utilizados para diagnosticar osteoporosis o predecir masa ósea. Las mediciones de DMO por densitometría son mucho más precisas para esto.

Predicción del Riesgo de Fractura. Esto representa tal vez el uso más interesante de los marcadores bioquímicos, porque en principio, la valoración del remodelado óseo nos podría dar información adicional sobre el riesgo de fractura más allá de la obtenida por la medición de la DMO. Varios estudios sugieren que el remodelado óseo puede ser un predictor independiente del

riesgo de fractura. En un estudio de cohorte prospectivo de mujeres francesas en edad avanzada (de más de 75 años), se asoció los CTx urinarios y la excreción libre de Deoxipiridinolina por arriba del límite superior del rango de pre-menopausia (media + 2 DS) con un aumento en el riesgo de fractura de cadera aun después del ajuste para la DMO del cuello femoral.

El mecanismo mediante el cual el aumento del remodelado óseo afecta el riesgo de fractura incluye la exacerbación del ritmo de pérdida ósea, el deterioro de la micro arquitectura del esqueleto debido a perforaciones de las trabéculas y pérdida de los elementos estructurales del hueso o una reducción en la fuerza ósea debida a un agrandamiento del espacio remodelado. El remodelado óseo evaluado por marcadores bioquímicos, parece tener un impacto significativo en el riesgo de fractura, independiente de la DMO. Sin embargo, no se puede recomendar el uso rutinario de los marcadores bioquímicos óseos para complementar las mediciones de DMO para la predicción del riesgo de fractura hasta que haya más información prospectiva disponible, particularmente en mujeres jóvenes además de las estudiadas en la cohorte francesa.

Predicción de Pérdida Ósea. La deficiencia de estrógenos en la menopausia aumenta el ritmo de la remodelación del esqueleto, lo que resulta en una pérdida importante de hueso. Esto se traduce en un aumento significativo en el valor promedio de los marcadores de resorción y disminución de los de formación después de la menopausia. La variabilidad individual en los marcadores de remodelado óseo también aumenta después de la menopausia, indicando una respuesta esquelética variable entre diferentes individuos con deficiencia de estrógenos. Esto se refleja en las tasas variables de pérdida de hueso observadas en mujeres después de la menopausia. Varios estudios han indicado que, al menos para grupos de individuos, los marcadores óseos pueden ser utilizados para predecir la tasa de pérdida de hueso.

Estos y otros datos¹⁰⁶ sugieren que los marcadores, de remodelado óseo, ya sea en forma individual o en combinación, pueden predecir las tasas de pérdida de hueso, complementando las mediciones estáticas de la DMO. Sin embargo aún cuando esto parece ser cierto para grupos de individuos, está por establecerse si los marcadores de remodelado óseo pueden predecir la tasa de pérdida de hueso en un individuo, particularmente dada la variabilidad de un día a otro que presentan algunos de los marcadores.

Monitoreo de la Efectividad del Tratamiento. Este es tal vez el mejor uso establecido para los marcadores bioquímicos de remodelado óseo. Considerable información indica que después de la iniciación del tratamiento con antirresortivos, hay una reducción significativa en los niveles de marcadores de resorción ósea entre 4 y 6 semanas, y en marcadores de formación ósea en 2 a 3 meses después de iniciado el tratamiento.¹⁸ Estos marcadores de remodelado óseo pueden ser utilizados para identificar a aquellos pacientes en los que el tratamiento no es efectivo. Los agentes antirresortivos deberían producir una reducción en los marcadores de resorción de entre 20% y 80%, dependiendo del agente y el marcador. A pesar de la potencial variabilidad biológica y técnica de los marcadores, los cambios de esta magnitud son clínicamente importantes.

Para la mayoría de los tratamientos, el nadir se alcanza entre 2 a 3 meses después de la iniciación del tratamiento y permanecen constantes mientras el paciente continúa con el tratamiento. Si los marcadores de resorción fallan en demostrar la reducción esperada, esto puede indicar que no funciona el tratamiento o la necesidad de cambiar la dosis o el tipo de medicamento.

Este uso de los marcadores bioquímicos ofrece una marcada ventaja sobre el uso del DMO para evaluar la efectividad del tratamiento, porque el intervalo entre las mediciones seriadas de DMO deben ser de por lo menos 12 meses antes de que pueda demostrarse un cambio significativo en la DMO o, más importante, se pueda establecer con certeza la falta de cambio en la DMO.

Aunque en teoría todos los marcadores podrían ser útiles para el seguimiento de la enfermedad, actualmente se considera que los más aconsejables para la monitorización del tratamiento son: a) entre los marcadores de resorción, NTX o CTX en orina y CTX sérico para monitorizar el tratamiento con bisfosfonatos, y los mismos marcadores o también la Deoxipiridinilina libre en orina para monitorizar el tratamiento hormonal; b) entre los marcadores de formación, la Fosfatasa alcalina, la Osteocalcina y el Propéptido Amino-terminal.

b.6.4 Interpretación clínica de los Marcadores Bioquímicos Óseos

En un sujeto individual, la interpretación del valor de un marcador bioquímico de remodelamiento óseo es complicada debido a los distintos factores que podrían influir en sus resultados y que, por lo tanto, deben tenerse en cuenta. Entre ellos se encuentran la influencia de las condiciones pre-analíticas, sus características analíticas de sensibilidad y especificidad y su variabilidad biológica. Asimismo, la falta de estandarización hace aún más engorrosa la comparación entre los resultados obtenidos por los distintos laboratorios. La variación pre-analítica incluye la preparación del paciente antes de la obtención de la muestra (horas de ayuno, necesidad de dieta diaria) y tipo de muestra (suero-orina), anticoagulantes utilizados, temperatura de manipulación y almacenamiento, ciclos de congelamiento y descongelamiento, entre otros. Todas estas fuentes de variabilidad técnicas son importantes y pueden ser controladas.

La variación analítica es función de la reproducibilidad y exactitud de las técnicas empleadas. Las muestras sanguíneas presentan menos variación analítica que las urinarias ya que a estas últimas se le debe sumar el error de la determinación de creatinina. Aunque el error de precisión analítica de los marcadores es alto (10 a 20%), el porcentaje de descenso por efecto del tratamiento utilizando un marcador sensible y específico es mayor (40 a 60%

luego de 3 a 6 meses), esto hace que los marcadores sean útiles para determinar la eficacia de la terapia instituida. La variabilidad biológica depende de la regulación del remodelado óseo relacionado con factores mecánicos (actividad física y fuerza muscular) y humorales (concentración de Ca^{++} y fosfatos, hormonas, vitamina D, citoquinas) que actúan sobre la células óseas para el reclutamiento, proliferación y función celular. Ciertos factores biológicos como la edad, género, etnicidad, etc., no pueden modificarse; en cambio, otros factores pueden ser modificables y, por lo tanto, deben tenerse en cuenta para tratar de disminuir su influencia al máximo posible. Distintos estudios han investigado diversas condiciones que influirían en los resultados de los marcadores óseos tales como la dieta, tipo de muestra, cambio diario (ritmo circadiano), ciclo menstrual, menopausia, estación anual, edad, sexo, crecimiento. A continuación se enumeran los más importantes.

- **Variación diaria** (circadiana): salvo las determinaciones enzimáticas, los marcadores bioquímicos presentan variación diaria con valores más elevados en las primeras horas de la mañana y más bajos en horas de la tarde. En general, la amplitud de la variación se encuentra entre el 20-30%, aunque el mayor o menor valor dependerá del marcador utilizado. La etiología de esta variación es desconocida aunque varias hormonas que presentan ritmo diario (PTH, hormona de crecimiento, cortisol, etc) podrían estar involucradas parcialmente en dicho cambio.
- **Edad**: las concentraciones de marcadores óseos, tanto en suero como en orina, no son estables a través de la vida. Son altas al nacimiento y descienden en la niñez siguiendo la curva de velocidad de crecimiento; se incrementan nuevamente en la pubertad debido a la 2ª etapa de velocidad de crecimiento. Es más temprano y de menor intensidad en las niñas. A partir de ahí, decrecen y se mantienen estables hasta la menopausia, en que se incrementan, en la mujer, nuevamente en relación directa a la deficiencia de estrógenos. En los hombres,

en cambio, permanecen sin grandes variaciones. A partir de los 70 años se observa un incremento que es independiente del género

- **Ciclo menstrual:** La mayoría de los marcadores óseos presentan variación durante el ciclo menstrual. La resorción es de mayor amplitud (10- 20%) durante el período medio y tardío de la fase folicular y temprano de la fase luteal. Por tal motivo se recomienda la extracción de la muestra entre el 3er. y 7mo. día del ciclo menstrual.

- **Dieta:** La ingestión de alimentos reduce la resorción ósea en forma postprandial posiblemente mediada por la liberación de péptidos intestinales y/o pancreáticos. La composición de la dieta por largos períodos de tiempo (ingestión de Ca, vitamina D, proteínas y fosfatos) pueden modificar el remodelamiento óseo. Por ello, la medición de marcadores en sangre debería ser evaluada en ayunas y, si es posible, permanecer con una dieta estable durante una o dos semanas previas a la recolección.

- **Funcionamiento hepático y renal:** Un mal funcionamiento hepático puede alterar marcadores que se metabolizan en hígado mientras que la insuficiencia renal crónica produce acumulación de los marcadores óseos que por su estructura química no pueden filtrar en dichas condiciones por el glomérulo.

b.7 Osteoporosis y aterosclerosis

La relación entre dos enfermedades en un principio tan distantes como son la osteoporosis y la aterosclerosis se empezó a estudiar hace escasos años. Aunque tradicionalmente estas enfermedades se han considerado como procesos independientes relacionados con la edad, cada vez existe una evidencia más sólida que confirma que ambas entidades comparten mecanismos fisiopatológicos¹⁹.

La mayoría de los datos disponibles señala que la masa ósea disminuida se asocia con mayor incidencia de enfermedad coronaria. Una baja masa ósea también se relaciona con calcificación aórtica, marcadores de enfermedad cardiovascular subclínica, gravedad de placas carotídeas, riesgo de mortalidad cardiovascular y calcificación de aorta abdominal y lumbar; es decir, una serie de datos avala el nexo entre la etiología y fisiopatología de estas enfermedades. El avance de la edad sería el mayor riesgo para estas dos patologías, pero cuando se realizan ajustes estadísticos por edad, los estudios demuestran que la calcificación arterial está realmente asociada con una masa ósea baja, lo que plantea que la arteriosclerosis y la osteoporosis comparten factores etiopatogénicos²².

Las arterias con arteriosclerosis contienen tejido que es indistinguible del hueso desde el punto de vista morfológico e histológico. Existe una subpoblación de células de la pared arterial, las llamadas células vasculares calcificantes (calcifying vascular cells), que tienen la capacidad de presentar una diferenciación osteoblástica y de expresar una serie de factores y proteínas comunes con el tejido esquelético; es posible identificarlas en las placas ateromatosas, con una metodología especial. En consecuencia, la calcificación arterial es una recapitulación de la osteogénesis y, desde el punto de vista etiológico puede estar relacionada con la deficiencia estrogénica, ya que la relación entre pérdida progresiva de hueso y calcificación aórtica es más significativa durante la menopausia que en la postmenopausia.

Aunque el rol de los estrógenos juega un papel importante, el mecanismo específico que conecta la osteoporosis y la enfermedad cardiovascular no son del todo conocidos, por el complejo nivel de sistemas y vías metabólicas que abarca. Varios mecanismos biológicos (basado principalmente en modelos animales) se han propuesto para explicar la relación entre las enfermedades cardiovasculares y la osteoporosis¹⁰¹. La inflamación crónica se sabe que juega un papel importante en el desarrollo de ambas enfermedades crónicas. Por ejemplo, las citoquinas pro inflamatorias (incluyendo la interleuquina-6 (IL-6) y factor de necrosis tumoral

alfa (TNF- α) se han asociado con la enfermedad vascular, así como el aumento de la resorción ósea. Además, los huesos y vasos se ven afectados por los esteroides sexuales. Por ejemplo, los estrógenos juegan un papel importante en las enfermedades cardiovasculares y la osteoporosis a través de sus efectos sobre las citoquinas (incluyendo IL-6, la osteoprotegerina (como se explica más adelante), y el TNF- α).

Diferentes proteínas producidas por las células óseas, como osteocalcina (OC), osteopontina, osteoprotegerina (OPG), el ligando del receptor activador del factor nuclear kappa- β (RANKL) y las proteínas morfogenéticas óseas (BMPs), están también presentes en lesiones ateroscleróticas. Además, también se ha demostrado la presencia de células de estirpe osteoblástica en la pared vascular.

RANK-L (receptor activator of nuclear factor kappa B ligand) y la osteoprotegerina: Las células óseas y vasculares son fuentes de estos sistemas, lo cual se ha demostrado tanto in vitro como in vivo. Hay que destacar que el sistema OPG/RANKL/RANK puede representar un nexo de unión entre el metabolismo óseo y el sistema vascular, pues la OPG presenta un papel protector en el sistema vascular. En los últimos años han sido publicados varios artículos que destacan el papel del sistema OPG-RANKL en desordenes que afectan al sistema vascular.

La **osteoprotegerina** OPG proteína de la familia de los TNF (factor de necrosis tumoral) ha demostrado ser un factor autocrino que favorece la supervivencia de células endoteliales, que regula el proceso de osteoclastogénesis a través de la inhibición de RANK (receptor activador del factor nuclear kappa B). Es secretada por los osteoblastos y también por células vasculares entre ellas células endoteliales y células musculares de las arterias coronarias. Existe una correlación positiva entre los niveles séricos de OPG y conocidos factores de riesgo cardiovascular, como la circunferencia de la cintura, el colesterol total y su

fracción HDL. Se ha postulado que la OPG pueda constituir un marcador bioquímico de la demencia vascular y de la enfermedad arterial periférica ya que los pacientes con afectación más severa y úlceras arteriales presentaron niveles más elevados de OPG. Datos recientes sugieren que la OPG puede ser un factor importante regulador de la calcificación arterial y que puede constituir un indicador de lesión vascular. Además, la relación que existe entre mayores concentraciones de OPG y una mayor incidencia y mortalidad por enfermedad cardiovascular se ha confirmado en distintas poblaciones de estudio.¹⁰²

Los **lípidos** tendrían un papel fisiopatológico en ambas patologías: in vivo, los lípidos oxidados estimulan la calcificación vascular por vía inflamatoria. La relación entre hiperlipidemia y calcificación vascular está demostrada: se sabe que una mayor cantidad de lipoproteínas de baja densidad (LDL) se asocia con menor densidad mineral ósea en mujeres post-menopáusicas; y se ha demostrado, in vitro, que es posible estimular la diferenciación osteoblástica en las arterias por medio de los lípidos, mientras que en el hueso se puede deprimir la diferenciación osteoblástica y estimular la diferenciación osteoclástica. Las lipoproteínas de alta densidad (HDL) también desempeñan un papel a este nivel: estas moléculas podrían ejercer su efecto de cardioprotección por inhibición de la actividad osteogénica de las células calcificantes vasculares. Según estudios, no se encontró asociación entre triglicéridos y baja masa ósea, ya que estos tienen impactos opuestos en el hueso y en la pared vascular, mientras que las fracciones HDL y LDL colesterol tienen el mismo efecto en ambos tejidos. La oxidación de LDL tiene efectos en la formación de osteoclastos, la ausencia de LDL suprime la formación de los osteoclastos, esto debido al requerimiento de colesterol durante este proceso.

También se demostró que el riesgo de sufrir ECV (Enfermedad cardiovascular) es directamente proporcional a la severidad de la osteoporosis en mujeres post

menopáusicas y se ha demostrado que niveles altos de colesterol pueden influir en la osteoporosis debido a que los metabolitos de la enzima que regula la síntesis de colesterol, la hidroximetilglutaril-coenzima A (HMG-CoA) reductasa están implicados en la diferenciación de los osteoclastos (Erdemli et al., 2005). De tal forma que el aumento incontrolado de la actividad HMG-CoA reductasa implica un aumento de osteoclastos y, por lo tanto, un incremento de su acción resorptiva. El colesterol podría intervenir directamente tanto en la progresión de la osteoporosis como en la calcificación de las lesiones de la pared vascular. Esto da lugar a una interconexión entre el metabolismo del colesterol, el remodelado óseo y el desarrollo de aterosclerosis. Además, se ha puesto de manifiesto que los bifosfonatos nitrogenados utilizados en el tratamiento de la osteoporosis por su capacidad para aumentar la masa, la mineralización y la resistencia ósea, producen la disminución de la concentración plasmática de LDL oxidadas ricas en colesterol¹³³

Otro factor involucrado en ambos procesos, parece ser el estrés oxidativo, ya que la función endotelial implicada en ambos procesos: el endotelio vascular provee una barrera con múltiples funciones: anti inflamación, vasodilatación, vasoconstricción, anti-oxidación; cuando se rompe la integridad del endotelio, con la oxidación de LDL-colesterol ocurre un desbalance en estos roles, dando lugar a una disfunción endotelial, siendo este el primer paso en el proceso de la aterosclerosis. Debido al íntimo contacto con las células endoteliales, la salud del endotelio parece también tener gran significancia con la salud ósea.

Un tono vascular saludable se mantiene por niveles bajos de óxido nítrico (NO). El NO se genera de la L-arginina por isoenzimas de NO sintasa. Tres isoformas de NO sintasa han sido identificados que incluyen la forma neuronal (nNOS), una forma endotelial (eNOS) y una forma inducible (iNOS). Recientemente, se piensa que el NO está involucrado en el proceso del metabolismo óseo, ya que ambos eNOS e iNOS son expresados en hueso; sin embargo estas isoformas

afectan a la diferenciación ósea, siendo que la isoforma eNOS es predominante en el linaje osteoblástico⁹.

La inflamación está asociada con la actividad de iNOS en osteoblastos y en osteoclastos, la activación de iNOS contribuye a la inflamación en la osteoporosis suprimiendo la formación ósea y dando lugar a la apoptosis de osteoblastos. Por el contrario los osteoclastos mostraron bajos niveles de eNOS e iNOS. Sin embargo el NO produce un efecto ateroprotectivo, participando en la función de los osteoblastos y el remodelado óseo.

Por lo tanto, uniendo cada uno de estos conceptos, se concluye que: el tejido óseo es constantemente modificado mediante la resorción por los osteoclastos y la formación por los osteoblastos, el proceso de remodelado se activa por las células de linaje osteoblasto-osteocito incrustados en el hueso, que responden a daño local, como una microfractura. Evidencias crecientes indican que la remodelación ósea ocurre en un compartimiento o cavidad cerrada (probablemente con osteoblastos quiescentes) que es penetrado por un capilar que provee células progenitoras perivasculares que se diferencian en osteoblastos funcionales.

La placa aterosclerótica muestra similitudes notables con el compartimiento de remodelado óseo. Un punto crucial es que una de las consecuencias del proceso de remodelado dentro de la placa es el depósito de calcio, el cual no solo es un marcador de aterosclerosis, sino también contribuye a la ruptura e inestabilidad de la placa, dando lugar a un infarto de miocardio.

Aunque numerosos factores regulan tanto la calcificación vascular como la calcificación ósea, como ser RANKL, OPG, MGP (proteínas gla de matriz) y la osteopontina; existen dos vías que son activadas con la edad y pueden conducir

simultáneamente a pérdida ósea y calcificación vascular: la inflamación y estrés oxidativo: vías que por lo tanto son candidatos potenciales para el enlace de osteoporosis y aterosclerosis. (Fig. 23)

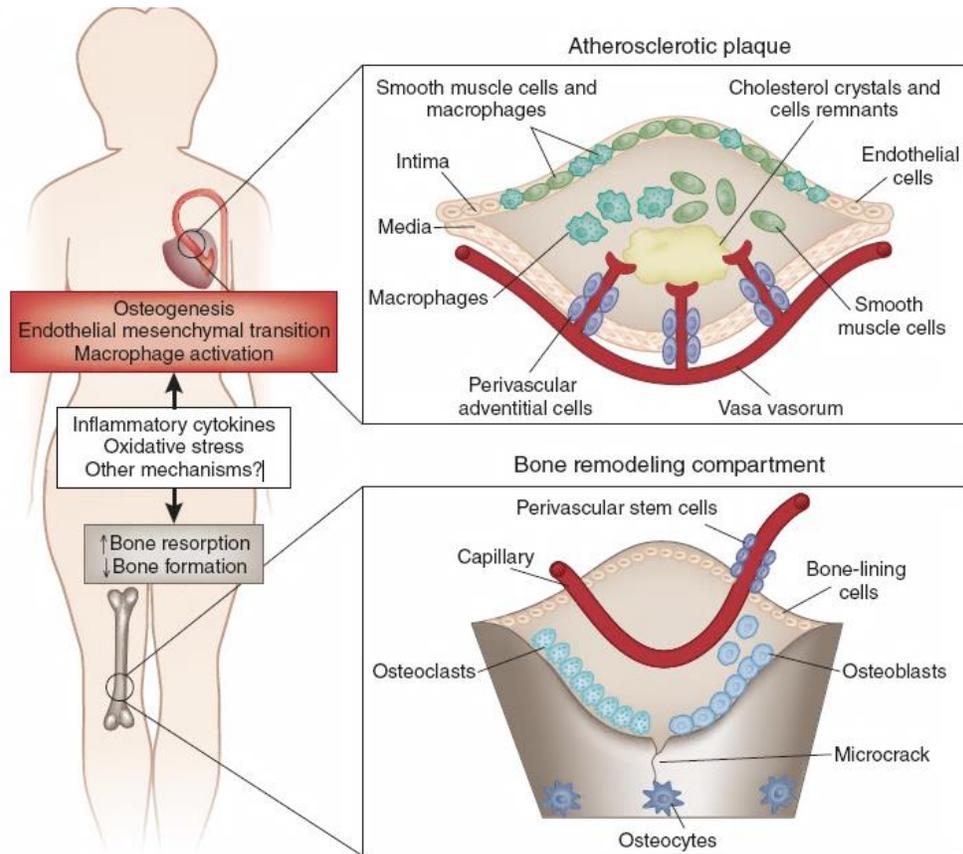


FIGURA 23. Posible mecanismo de relación entre el remodelado óseo y la placa aterosclerótica. Los osteocitos gatillan la resorción de hueso dañado por los osteoclastos y la formación por los osteoblastos; los cuales probablemente deriven de células madre perivasculares. De manera similar la placa aterosclerótica es cubierta por una capa fibrosa, que incluye células musculares (similares a los osteoblastos) y macrófagos (similares a los osteoclastos), además de cristales de colesterol y células remanentes. Mecanismos potenciales, incluyendo la edad, postmenopausia, estilo de vida; incrementan la inflamación y el estrés oxidativo, lo cual podría explicar la asociación entre osteoporosis y la placa aterosclerótica.

FUENTE: AtkinS G.J.,¹⁰

Existe evidencia considerable que muestra que la producción de citoquinas pro-inflamatorias, como el factor de necrosis tumoral α (TNF- α) y la IL-1, por células en el microambiente óseo, incluyendo osteoblastos y células T, conduce el incremento de resorción y el decremento de la formación. Estos efectos son

mediados en parte vía RANKL, la llave que estimula la resorción ósea por los osteoclastos y las células T. El TNF- α es también un inhibidor de la formación ósea, inclinando el balance hacia la resorción con una subsecuente pérdida ósea. En los vasos sanguíneos, sin embargo, el TNF- α y otras citoquinas inflamatorias pueden conducir el desarrollo de un fenotipo osteogénico por las células vasculares del músculo liso y otras células progenitoras, como pericitos en la pared vascular; en parte a través de la activación de la cascada de señalización Msx2-Wnt- β , la cual también está involucrada en la formación ósea normal.

La deficiencia de esteroides sexuales, que ocurre abruptamente después de la menopausia en las mujeres, es un potencial estímulo para la pérdida ósea. La pérdida de esteroides sexuales resulta en un incremento de la cantidad de RANKL en hueso, induciendo la producción de citoquinas inflamatorias por los osteoclastos y células T, disminuyendo la cantidad de receptores para OPG, e incrementando la resorción ósea. Como en el hueso, la deficiencia de esteroides sexuales y las citoquinas inflamatorias pueden incrementar la producción de RANKL, por las células endoteliales de los vasos sanguíneos; RANKL a su vez, incrementa la producción de la proteína morfogenica-2 del hueso, el cual es un estimulador de la osteogenesis, y disminuye la cantidad del inhibidor de la calcificación MPG, el cual es producido por las células vasculares del músculo liso. Por lo tanto la vía OPG-RANKL, impulsado por el incremento de la producción de citoquinas junto con la deficiencia de esteroides sexuales, participa en la pérdida ósea y calcificación vascular.

Además, estas citoquinas pueden activar macrófagos dentro de la placa, los cuales pueden liberar enzimas proteolíticas que dan lugar a la ruptura e inestabilidad de la placa. Una cuestión aun no resuelta es si la transición endotelial a mesenquimal tiene algún rol en la pérdida ósea como resultado de la producción de citoquinas. El estrés oxidativo se incrementa con la edad dando

lugar al incremento de productos de la oxidación de lípidos, como LDL y fosfolípidos oxidados, induciendo la diferenciación osteoclástica e inhibiendo la diferenciación osteoblástica, lo cual resulta en un exceso de resorción sobre la formación ósea. Los lípidos oxidados también incrementan la producción de citoquinas osteoclastogénicas por los osteoblastos y células T. De esta manera, se puede observar que aunque existan mediadores comunes, incluyendo RANKL, OPG, MPG y osteopontina, regulan la calcificación vascular y ósea, el estrés oxidativo y la inflamación son probablemente los enlaces más significativos entre la calcificación vascular y pérdida ósea, tal como se muestra en la figura. (Fig. 24)

Las BMPs (proteínas morfogenéticas óseas) participan en la diferenciación osteoblástica mientras estos simultáneamente producen ROS e incrementan la adherencia de monocitos a la pared vascular. Su acción es bloqueada por MGP (proteínas Gla de la matriz), la cual inhibe la mineralización vascular como cofactor de la glicoproteína α -2-HS glicoproteína (conocida como fetuina A). RANKL es el factor clave de la maduración de osteoclastos y puede actuar como una molécula anti-calcificante. La OPG previene la interacción de RANKL con su receptor. La vía Wnt, la cual es importante para la diferenciación osteoblástica, es inhibida por la esclerostina y DKK-1. En la pared vascular, Wnt es regulada por el factor de transcripción MSX2, el cual bloquea el efecto inhibidor de DKK-1, resultando en el incremento de la calcificación vascular. El fosfato que penetra la pared de las células del musculo liso mediante el co-transportador Pit-1, directamente estimula la calcificación vascular, mientras el pirofosfato actúa como un inhibidor de la calcificación. La OPG une el calcio e iones de hidroxapatita, inhibiendo la formación de cristales y calcificación vascular; este interacciona con receptores induciendo la activación osteoclástica.

La PTH inhibe la activación osteoblástica e incrementa la resorción ósea: vía activación PKA que induce la diferenciación osteoblástica y la mineralización de las células vasculares. La vitamina D incrementa la entrada de calcio en las células vasculares dando lugar también a la calcificación. La oxidación de LDL-col induce la expresión de potentes mediadores de diferenciación osteoclástica. Finalmente, la angiotensina II participa en la activación de osteoclastos.³²

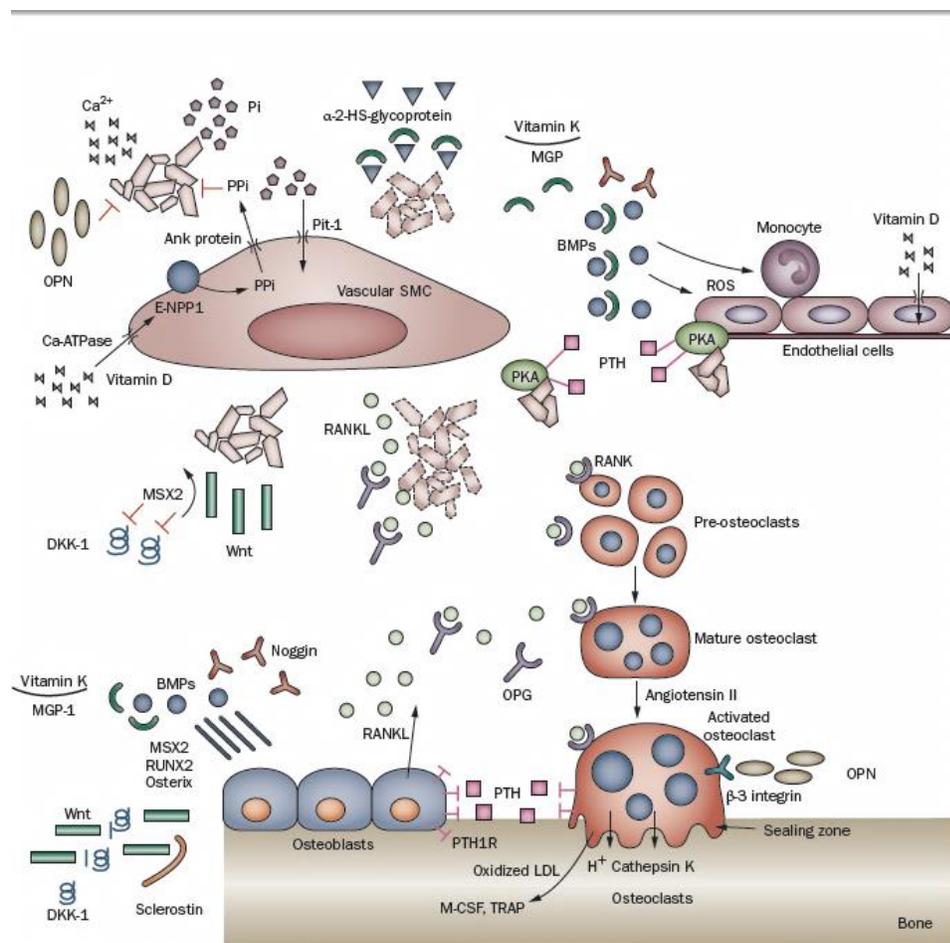


FIGURA 24. Mecanismos fisiopatológicos comunes en la calcificación vascular y osteoporosis.

FUENTE: Cosman F.,²⁵

VI. OBJETIVOS

A. OBJETIVO GENERAL

Establecer la relación entre el Índice Aterogénico y los niveles de osteopenia en mujeres post-menopáusicas, mediante la determinación de los Perfiles lipídico, Hormonal y la detección de Marcadores Bioquímicos y Densitométricos óseos.

B. OBJETIVOS ESPECIFICOS.

1. Explorar la posibilidad de detectar pérdida temprana de masa ósea mediante la determinación de Marcadores Bioquímicos de Remodelado óseo en relación con la Densitometría, en mujeres post-menopáusicas.
2. Determinar la relación entre Marcadores Bioquímicos de Remodelado óseo, la Edad y el Tiempo transcurrido de post-menopausia
3. Determinar el Índice aterogénico mediante el Perfil sérico de Lípidos y Lipoproteínas y su correlación con los niveles de Marcadores de Remodelado óseo en mujeres post-menopáusicas.
4. Explorar aspectos estructurales y funcionales del tejido óseo, mediante la determinación de Marcadores Bioquímicos de Remodelado Óseo y su correlación con los niveles Hormonales del eje gonadal en mujeres post-menopáusicas.

VII. HIPOTESIS.

- **Hipótesis nula (H_0):** No existe relación estadísticamente significativa entre los niveles de Lípidos séricos, el Índice Aterogénico y los Marcadores de Remodelado óseo en mujeres climatéricas.
- **Hipótesis alternativa (H_1):** Existe relación estadísticamente significativa entre los niveles de Lípidos séricos, el Índice aterogénico y Marcadores de Remodelado Óseo en mujeres climatéricas.

A. ESTRATEGIA DE EJECUCION

Para responder a la pregunta de investigación y confirmar o rechazar las hipótesis de trabajo, se propone determinar los Marcadores Bioquímicos Óseos de resorción y de formación, Perfiles lipídico y Hormonal, para establecer la correlación entre estas variables.

VIII. OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES

Variable	Definición	Dimensión	Tipo de escala	Indicador
Edad	Tiempo transcurrido desde el nacimiento por el número de años, según fecha de nacimiento referida.	Biológico Continua	46 - 61 Intervalo	Años
Variable independiente: Post-menopausia	Etapa biológica posterior a la menopausia, hasta los 65 años de edad, con alteraciones hormonales, que dan lugar a cambios orgánicos y psicológicos, los cuales pueden	Biológico Discreta	Nominal	

	constituir una fuente importante de discapacidad y malestar.			
Variables Dependientes: Colesterol total Triglicéridos HDL-col LDL-col VLDL-col Índice aterogénico	Serie de lípidos y lipoproteínas plasmáticas para evaluar riesgo de enfermedades cardiovasculares	Clínico-Biológico	Nominal	Concentración
Variables Dependientes: Marcadores óseos de formación y de resorción.	Productos secretados por la actividad de las células óseas, pueden ser determinados en sangre y/o orina. La actividad de los osteoblastos se denomina "marcadores de formación". La actividad de los osteoclastos se denomina "marcadores de resorción"	Clínico-Biológico	Nominal	Concentración
Variables Independientes Hormonas del eje gonadal femenino	Estradiol: principal estrógeno LH, FSH: hormonas gonadotrópicas Regulan la función del eje hipotálamo hipófisis gonadal. En el cese de la actividad endocrina (menopausia) del ovario se produce una alteración de los niveles de hormonas del eje hipotálamo-hipófisis-ovario.	Clínico-Biológico	Nominal	Concentración

IX. DISEÑO METODOLÓGICO

A. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

1. Tipo de investigación

Esta investigación es de tipo observacional prospectivo y de corte transversal analítico.

2. Métodos generales de la investigación

El relevamiento de información científica sobre el tema, se realizó en la biblioteca de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, en artículos científicos de Internet, Revistas médicas, folletos de técnicas e historias clínicas de las pacientes climatéricas involucradas en el estudio.

Los procedimientos de laboratorio se ejecutaron en los laboratorios de Biomedicina Experimental y Bioquímica Clínica del Instituto SELADIS. El mismo se llevó a cabo en dos etapas, la primera consta de la verificación del método inmunoenzimático y las características principales del mismo para la determinación de los Marcadores de Remodelado óseo; la segunda parte consta en la obtención de una muestra de sangre en ayunas para la determinación del Perfil Lipídico, Hormonal, tres Marcadores de Formación y dos de Resorción ósea y la recolección de la primera orina de la mañana de cada paciente para el respectivo marcador de resorción; de acuerdo a formularios de registro para su posterior procesamiento.

B. DESCRIPCIÓN DEL ÁMBITO DE INVESTIGACIÓN.

El procesamiento de las muestras de sangre obtenidas, se realizó en el Laboratorio de Bioquímica Clínica y Biomedicina experimental del Instituto de Servicios de Laboratorio de Diagnostico e Investigación en Salud SELADIS, ubicado en la Avenida Saavedra N° 2224. Esta institución es un laboratorio de tercer nivel, que realiza determinaciones analíticas complementarias, centrándose siempre en que todos los procedimientos, desde la toma de muestra, su análisis, validación y reporte, conserven y reflejen fielmente los valores encontrados, para lo cual el SELADIS cuenta con los más altos estándares de calidad para ofertar procedimientos, recursos técnicos y científicos que contribuyen a resolver problemas específicos de diagnóstico y seguimiento en diversas patologías.

C. DETERMINACION DE LA POBLACION EN ESTUDIO.

1. Descripción.

El universo de estudio, fue integrado por mujeres post-menopáusicas, comprendidas entre las edades de 46 a 61 años referidas por primera vez a consulta ginecológica **privada***, pero con cambios climatéricos evidentes que motivan la consulta clínica. De las cuales el 65% proceden del centro y el 35% de la zona sur de la ciudad de La Paz.

Para la selección de la **población** a partir de este universo se tomaron en cuenta los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

*Consultorios médicos MEDICENTRO, CENTRO MEDICO GALENUS y consultorio de ginecología y obstetricia de la Clínica Alemana

a. Criterios de inclusión:

- Mujeres post-menopáusicas (la menopausia fue definida como la ausencia de menstruación con por lo menos 12 meses de amenorrea espontanea)
- Mujeres post-menopáusicas que cuenten con historias clínicas que avalen el cese de la función ovárica clínicamente al menos 1 año antes del estudio.
- Se incluyeron también seis mujeres en edad fértil de 20 a 31 años (clínicamente sanas), para evidenciar mejor los cambios en la población en estudio; las cuales asistieron a la consulta ginecológica respectiva y contaron con historias clínicas que descartaron alteraciones ginecológicas, y del metabolismo lipídico y óseo (el número reducido de mujeres en este grupo se debió al costo de los reactivos)

b. Criterios de exclusión:

- Mujeres que estén en tratamiento con fármacos hipolipemiantes y/o con Terapia de Reemplazo Hormonal
- Mujeres que según su historia clínica presenten indicios de enfermedades hepáticas crónicas, e insuficiencia renal.(que influyen en los niveles de los marcadores de remodelado óseo)
- Mujeres con menopausia precoz (antes de los 35 años)
- Mujeres que no consientan su participación en el estudio

2. Cálculo del tamaño muestral

Los criterios que se tomaron en cuenta de acuerdo al tipo de estudio son: el nivel de significancia estadística, cuyo valor aceptado es 95%; la precisión (d) igual a 5% y la prevalencia (P) de que ambas patologías (riesgo cardiovascular y osteopenia) se presenten en una misma paciente en esta etapa biológica, la cual según información disponible en otros estudios realizados en países vecinos P es

igual a 4%. De acuerdo a la pirámide poblacional proporcionada por el Instituto Nacional de Estadística, INE de 2010 ⁶⁴, en nuestro país contamos con 440 000 mujeres post-menopáusicas, a partir de las cuales se calculó nuestro tamaño muestral, mediante el paquete estadístico *EpiDat* para el cálculo respectivo: por lo tanto en el estudio se tomaron en cuenta una muestra de 60 mujeres post-menopáusicas.

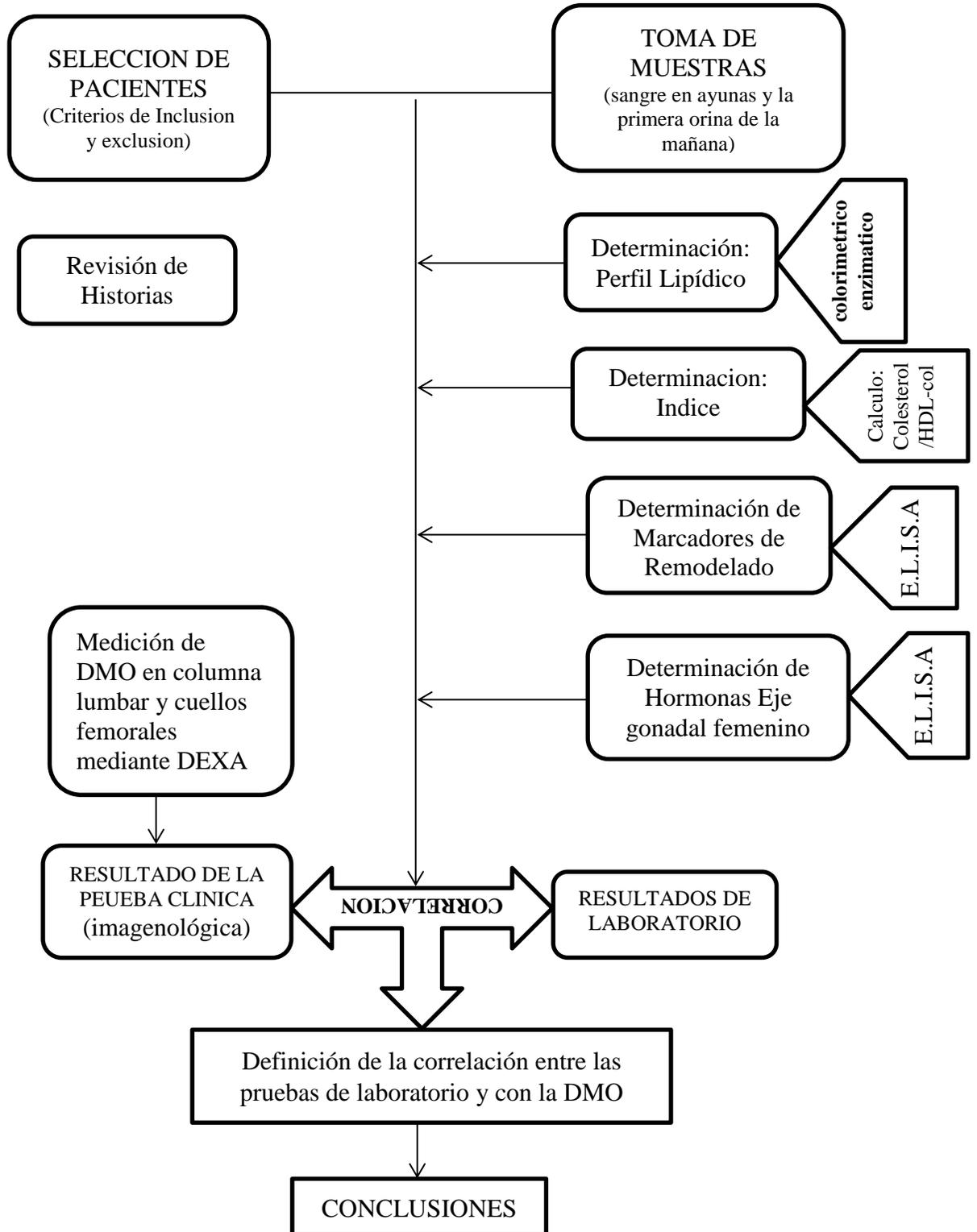
D. EJECUCION DE LA RUTA CRITICA

Tomando en cuenta los criterios de inclusión/exclusión anteriormente mencionados y mediante la revisión de historias clínicas y la realización de cuestionarios a cada una de las pacientes, se determinó la población de estudio, la cual estará conformada por 60 mujeres post-menopáusicas, de las cuales se obtuvieron todos los datos pertinentes mediante un registro (ANEXO 2).

Para la obtención de la muestra de sangre venosa, se explicó detalladamente a cada paciente que debe acudir al laboratorio en ayuno de 12 a 14 horas, evitando la ingesta de alimentos ricos en grasas y bebidas alcohólicas por lo menos 24 horas antes de la toma de muestra. Así como también se instruyó acerca de la recolección adecuada de la primera orina de la mañana.

Las muestras de sangre y de orina obtenidas para la determinación del Perfil lipídico, hormonal y los marcadores de remodelado óseo, fueron procesadas en el Laboratorio de Biomedicina experimental y Bioquímica Clínica del Instituto SELADIS. Respecto a la DMO (Densitometría Ósea), la densidad ósea, fue medida a cada paciente en la Columna Lumbar (promedio L2-L4) y Cuello femoral Izquierdo y Derecho por el por el médico especialista, mediante DEXA (*Dual energy X-ray absorptiometry*).

ESTRATEGIA DE EJECUCION Y RUTA CRÍTICA



La calibración del equipo, incluyó procedimientos diarios de estandarización mediante un patrón de referencia o fantomas (aparatos utilizados para el calibrado de equipos de imagen y que contiene, en su interior, elementos de características similares a los del organismo) de calibración con los que se compara la masa ósea de la región explorada, un mantenimiento regular y una atención cuidadosa en la colocación del enfermo.

Se utilizó siempre el mismo densitómetro óseo en todas las pacientes para evitar la variabilidad en los resultados entre equipos de un mismo fabricante.

Junto a la calibración diaria del equipo, el profesional especializado realizó en forma rutinaria medidas de fantomas de columna. Previamente al inicio de la Investigación se obtuvo una curva de calibración en base a 25 mediciones secuenciales. Este control de calidad se realizó antes de estudiar cada paciente, debiendo estar el valor en $\pm 1,5\%$, para que se considere óptimo.

A todas las pacientes, se les explicó el objetivo del estudio, solicitándoles su autorización mediante consentimiento informado para aplicarles el modelo de recolección de dato primario (ANEXO 1)

E. ASPECTOS ETICOS

- Las pacientes involucradas en este estudio, dieron su consentimiento informado en los términos convencionales para el uso de sus muestras biológicas en investigación.
- En retribución, las pacientes serán beneficiadas mediante la determinación del Perfil Lipídico, Hormonas del eje gonadal y Marcadores Bioquímicos Óseos bajo su consentimiento; para determinar en ellas el Índice aterogénico y el Remodelado óseo.
- No se presentan riesgos de ningún tipo para el paciente ya que la muestra de sangre fue obtenida por personal capacitado.

- La descripción precisa el propósito del estudio, los procedimientos o técnicas que se utilizaron para el procesamiento de las muestras y la duración del mismo fue comunicada por escrito a las pacientes, mediante un consentimiento informado. (ANEXO 1)
- La información obtenida de las pacientes mediante cuestionario así como los resultados obtenidos, fueron manejados con estricta confidencialidad.
- Una vez culminado el estudio, los resultados obtenidos fueron reportados y entregados a las pacientes involucradas en el estudio

F. MATERIAL Y METODOS

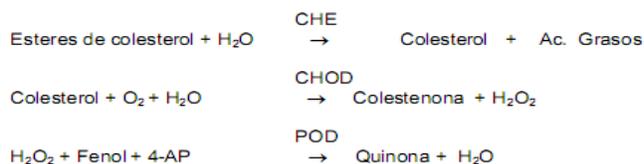
1. Métodos para la determinación del Perfil lipídico, Hormonal y Marcadores óseos

a. Fundamento: Perfil Lipídico

La determinación de las concentraciones de Colesterol, Triglicéridos y HDL-colesterol se realizó por el método **enzimático colorimétrico de Trinder**. La determinación de la concentración de la fracción LDL-colesterol, se obtuvo utilizando la fórmula de FRIEDWALD

Determinación de colesterol total: Para la determinación de colesterol total se utilizan reactivos comerciales que incluyen las enzimas y sustratos necesarios para la cuantificación de todas las formas de colesterol presentes en el suero

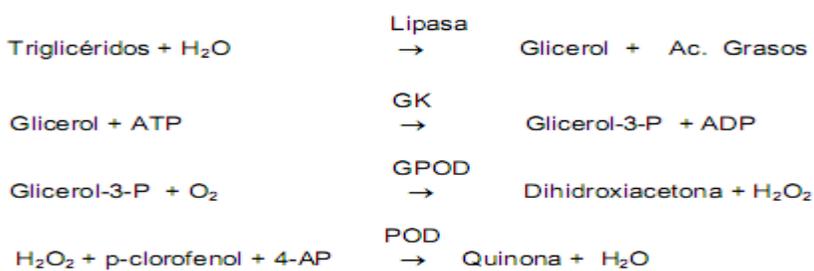
Las reacciones que tienen lugar son:



- Una colesterol estearasa (CHE) hidroliza los ésteres de colesterol a colesterol y ácidos grasos libres.
- A continuación una colesterol oxidasa (CHOD) oxida todo el colesterol a Colesten-ona y peróxido de hidrógeno.
- El peróxido de hidrógeno es sustrato de una peroxidasa (POD) que junto con 4-amino fenazona (4-AP) da lugar a la formación de una quinona roja. La quinona formada es proporcional a la concentración de colesterol en la muestra.

Determinación de triglicéridos: Para la determinación de triglicéridos en suero se utilizan reactivos comerciales que incluyen las enzimas y sustratos necesarios para la cuantificación por espectrofotometría visible.

Las reacciones que tienen lugar son:



- Una lipasa hidroliza los triglicéridos dando glicerol más ácidos grasos libre.
- El glicerol formado es sustrato de una glicerol quinasa que en presencia de ATP lo fosforila a glicerol 3P.
- El glicerol 3P es oxidado a dihidroxiacetona por una glicerol fosfato oxidasa dando también peróxido de hidrógeno.
- El peróxido de hidrógeno junto con los cromógenos p-clorofenol y 4-AP son sustrato de una peroxidasa para formar una quinona roja cuantificable a 505nm. La quinona formada es proporcional a la concentración de triglicéridos presente en la muestra.

Determinación de HDL-colesterol: Para la determinación del colesterol presente en las principales lipoproteínas que lo contienen como HDL (lipoproteínas de alta densidad) y LDL (lipoproteínas de baja densidad), es necesario:

Primero, la separación selectiva de la lipoproteína correspondiente con agentes precipitantes.

Segundo, la cuantificación del colesterol presente en dicha lipoproteína como se indicó anteriormente. (Véase determinación de Colesterol total)

Entre estos reactivos precipitantes está el polietilenglicol que precipita a las LDL y VLDL (lipoproteínas de muy baja densidad) mientras que las HDL permanecen en solución.

Determinación de LDL-colesterol: mediante la fórmula de FRIEDWALD, siempre y cuando los valores de triglicéridos sean menores a 500 mg/dL. En el estudio no se presentaron valores de triglicéridos mayores a 500, por lo que se aplicó la fórmula para todas las pacientes.

$$\text{LDL-colesterol} = \text{Colesterol total} - \text{HDL-colesterol} - \text{Triglicéridos}/5$$

Determinación del Índice aterogénico: llamado también de *Castelli* es el que presenta la menor superposición de poblaciones. De esto se deduce el alto poder discriminador de enfermedad coronaria que presenta el índice colesterol total/ colesterol-HDL, además de una gran capacidad predictiva.

Índice de riesgo aterogénico: Colesterol Total / HDL-colesterol

b. Fundamento: Marcadores óseos y Hormonas del eje gonadal femenino

La determinación tanto de los marcadores óseos como de las hormonas se realizó por ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*), ensayo por inmunoabsorción ligado a enzima; es una técnica de inmunoensayo en la cual un antígeno inmovilizado se detecta mediante un anticuerpo enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable como cambio de color.

MARCADORES DE FORMACION	TIPO DE ELISA	FUNDAMENTO
Fosfatasa alcalina ósea (BAP)	ELISA de captura	Utiliza un anticuerpo monoclonal anti-BAP recubierto en la placa para capturar la BAP de la muestra. La actividad enzimática de la BAP capturada se detecta con un sustrato pNPP.(Fosfato de p-nitrofenil
Osteocalcina (OC)	ELISA competitivo	Utiliza placas recubiertas con osteocalcina, un anticuerpo anti-osteocalcina de ratón, un conjugado de IgG-fosfatasa alcalina anti-ratón y un sustrato pNPP para cuantificar la OC en las muestras de suero
Propéptido Carboxi-terminal del colágeno tipo I (CICP)	ELISA tipo sándwich	Utiliza un anticuerpo anti-CICP monoclonal recubierto sobre la placa, un antisuero anti-CICP de conejo, un conjugado de fosfatasa alcalina anti-conejo de cabra y un sustrato pNPP para la cuantificación de CICP en suero.

MARCADORES DE RESORCION	TIPO DE ELISA	FUNDAMENTO
Fosfatasa ácida tartrato resistente TRAP	ELISA de dos pasos de captura directa	Utiliza 2 anticuerpos monoclonales Trk49 y Trk62, el primero se une a fragmentos inactivos de TRAP5b, haciendo que el segundo esté

		disponible para unirse a TRAP5b activa en la placa.
Enlaces cruzados de Piridinolas (PYD)	ELISA competitivo	Utiliza un anticuerpo monoclonal anti-enlaces cruzados de piridinio para medir el PYD en orina. Las PYD de la muestra compiten por el anticuerpo con PYD recubierto en la placa. La reacción se detecta con un sustrato pNPP
Telopéptidos Amino terminal del colágeno tipo I (NTx)	ELISA de inhibición competitivo	Un epítoto de NTx está unido a la celda, la muestra es añadida seguida de un anticuerpo monoclonal marcado con peroxidasa de rábano. El NTx de la muestra compite con el de la placa por un sitio de unión al anticuerpo

HORMONAS	TIPO DE ELISA	FUNDAMENTO
Estradiol (E2)	ELISA competitivo	Utiliza un anticuerpo monoclonal anti estradiol. El estradiol de la muestra compite por el anticuerpo con el estradiol recubierto en la placa. La reacción se detecta con un sustrato específico.
Hormona Luteinizante (LH)	ELISA tipo sándwich	Utiliza un anticuerpo anti-LH monoclonal recubierto sobre la placa, un antisuero anti-LH de conejo, un conjugado de anti-conejo de cabra y un sustrato específico para la cuantificación del LH en la muestra.
Hormona folículo estimulante (FSH)	ELISA tipo sándwich	Utiliza un anticuerpo anti-FSH monoclonal recubierto sobre la placa, un antisuero anti-FSH de conejo, un conjugado de anti-conejo de cabra y un sustrato específico para la cuantificación del FSH en la muestra.

Los reactivos utilizados en el procesamiento de las muestras y sus instrucciones al igual que los materiales y equipos utilizados se detallan en el ANEXO 4 del presente trabajo.

Antes de proceder con el método durante el proceso analítico se realizó un control de calidad preventivo.

c. Control de calidad preventivo.

Para efectuar el control de calidad preventivo se tomó en cuenta criterios de confiabilidad y practicabilidad.

1) Criterios de practicabilidad

- Se evaluó la solidez, seguridad del método, relación costo/beneficio y el tiempo de ejecución del mismo.

2) Criterios de confiabilidad

- Se verificó el buen funcionamiento del analizador semiautomático (Stat fax Teco Diagnostics TC-84) y del lector de ELISA AWARENESS previa calibración de los mismos, al igual que el mezclador automático o shaker (Awareness) y el baño maría (Menamert)
- Se verificó que el material fungible a utilizar estuviera escrupulosamente limpio para la determinación del perfil lipídico y hormonas; y se utilizó material nuevo para la determinación de los marcadores óseos.

- Se verificó también la integridad, fecha de vigencia y conservación de los reactivos.
- Para evaluar la confiabilidad del método , se calculó el coeficiente de variación y la linealidad de los parámetros del perfil lipídico, marcadores óseos y hormonas, los cuales se detallan a continuación:
- **Calibración y linealidad:** se realizaron las curvas de calibración de los marcadores óseos y hormonas para determinar la linealidad del método, para lo cual se utilizaron calibradores de diferentes concentraciones (sueros de viscosidad y características similares al plasma de concentración conocida) provenientes del kit. Por tratarse de un método inmunoquímico, fue necesario linealizar las curvas de calibración obtenidas mediante un software de cuantificación (BestCurFit que calcula los parámetros de 12 curvas usando el método Lineal de los Mínimos Cuadrados, ajustando cada curva a los datos del usuario. Las ecuaciones no lineales fueron linealizadas. Los parámetros obtenidos se usan para el procedimiento de optimización usando el algoritmo simple y el de Gauss-Newton. Si esto no deriva en una solución, la curva se optimiza con el método Monte Carlo. Se estima la exactitud del ajuste.) con una ecuación de ajuste de curva de calibrado de los parámetros para analizar los resultados, se calculó también el coeficiente de correlación lineal “ r ” y cuadrática “ r^2 ” (ANEXO 6 y 7). En el caso de los parámetros del perfil lipídico, las curvas de calibración de los mismos ya se encontraban establecidas por ser pruebas de rutina en el laboratorio.
- **Coefficiente de variación (CV):** fue calculado para evaluar la Precisión analítica y la reproducibilidad de los métodos utilizados. Para calcular el CV de los parámetros del perfil lipídico (colesterol,

HDL-colesterol y triglicéridos), se recolectó y preparó el POOL DE SUEROS, de aquellos remanentes sueros humanos empleados en los dosajes de rutina, que no presentaban ictericia, hemolisis ni lipemia. Para luego iniciar con el Periodo Previo, para lo cual se realizaron determinaciones durante 20 días consecutivos, al cabo de ese tiempo se calculó el CV de cada uno de los parámetros, el cual fue menor al 5% (ANEXO 8), aceptable para establecer la gráfica de Control de Shewart Jennings, la cual considera los límites de control a un nivel de probabilidad correspondiente a 95%.

Para los marcadores óseos y hormonas se ensayaron los sueros controles alto y bajo del kit. La técnica utilizada reporta que se realizaron 10 determinaciones de cada control para calcular el Coeficiente de Variación (C.V.) de cada metabolito, los cuales fueron menores al 10%, aceptable para métodos inmunoquímicos (ANEXO 8). No se realizaron estas determinaciones de reproducibilidad en el laboratorio, lo cual daría lugar a cierto grado de variación e incertidumbre; esto debido al costo del reactivo y porque se contaba con la cantidad exacta del mismo para las determinaciones de cada paciente y los controles respectivos. Para minimizar el grado de dispersión inter-ensayo o reproducibilidad se realizaron las determinaciones en un solo día, en las mismas condiciones de tiempo, equipo y operador.

d. Determinación del Perfil lipídico, marcadores óseos y hormonas.

Técnica manual: Para la realización de la técnica manual, se efectuó un **control de calidad permanente** tomando en cuenta las fases del proceso analítico, para evitar fuentes potenciales de error durante el procesamiento de las muestras.

1) Fase pre- analítica

- **Criterios de aceptación de la muestra:** para aceptar tanto las muestras de sangre como las de orina, se verificó que todas las muestras estén bien identificadas, además del cumplimiento de las **instrucciones dadas previamente a las pacientes** (ANEXO 3) que conformaron la población en cuanto a la manera correcta de recolección de la muestra de orina, así como el horario de la toma de muestras, debido a la variación circadiana que muestran los marcadores óseos, se ha establecido el horario de obtención de las muestras entre las 8 y 10 de la mañana, tras un ayuno de 12 horas. Cada una de las pacientes cumplió con los criterios mencionados anteriormente, por lo que las muestras fueron aceptadas para continuar con su procesamiento. Se rechazaron muestras hemolizadas y que no cumplieron con los criterios anteriormente mencionados.
- **Interferentes en la muestra sanguínea y orina:** principalmente la hemólisis y el uso de anticoagulantes, interfieren en el análisis de lípidos circulantes, marcadores óseos y hormonas. Así también, ciclos repetidos de congelación y descongelación del suero, interfieren en la medición de los marcadores óseos. En nuestro caso, estas condiciones fueron controladas ya que se trabajó suero y se congelaron varias alícuotas de las muestras (para los marcadores óseos especialmente) para así evitar múltiples ciclos de congelamiento y descongelamiento. No se presentó ningún caso de muestra hemolizada. Otros factores que interfieren en la muestra sanguínea a tomar en cuenta especialmente en los constituyentes del perfil lipídico y los marcadores óseos son:

Medicamentos: aspirina en concentraciones mayores a 350 ug/ml, interfiere en la determinación de BAP especialmente.

Alcohol, tabaco: En el caso del alcohol, los efectos dependen del consumo. Un consumo máximo aumenta el colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad (cHDL). Los fumadores tienen mayor concentración de triglicéridos y colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad (cLDL). Los efectos dependen cuantitativamente del consumo. Se recomienda no variar el consumo alcohólico y tabáquico habitual antes de la obtención de las muestras.

Ejercicio: El nivel de ejercicio habitual debe mantenerse sin cambios antes de las extracciones, aunque se debe evitar cualquier ejercicio extenuante o no habitual 24 horas antes. El ejercicio intenso, especialmente de tipo aeróbico, modifica los constituyentes lipídicos y disminuye especialmente las concentraciones de triglicéridos y aumenta las de cHDL.

Todos estos factores fueron tomados en cuenta y explicados previamente a las pacientes para evitar interferentes.

- Se registró a cada una de las pacientes según el modelo de recolección de dato primario, para luego proceder a la toma de muestra de sangre. Se verificó la **identificación de las pacientes**, cuidando que el nombre y el código coincidan tanto con la muestra de sangre como con la de orina.
- Las muestras de sangre y las de orina recolectadas por los pacientes fueron **transportadas** al laboratorio para su procesamiento, en transportadores adecuados para evitar derrames.

- **Pre-tratamiento de las muestras,** las muestras de sangre fueron centrifugadas a 2500 rpm durante 5 minutos para obtener suero (no hemolizado), el cual fue alicuotado en 3 tubos eppendorf diferentes adecuadamente identificados manteniendo los nombres y códigos de las pacientes, para el perfil lipídico, marcadores óseos y hormonas respectivamente. La muestra de orina, se homogenizó previamente para de igual manera ser alicuotada, para su posterior procesamiento.

- **Conservación de las muestras,** las muestras de sangre pre-tratadas y las muestras de orina se conservaron a una temperatura de 2 a 8 °C durante 1 semana, evitando ciclos de descongelación, tiempo en el cual se tomaron las muestras de todas las pacientes para luego ser procesadas en conjunto; esto para minimizar el grado de dispersión en la reproducibilidad y evitar un gasto excesivo de controles, debido al elevado costo de los reactivos, especialmente de los marcadores óseos y hormonas. En el caso de los parámetros del Perfil lipídico, las muestras fueron procesadas al día, durante 7 días.

2) Fase analítica.

- Las muestras de suero como las de orina fueron atemperadas a temperatura ambiente, conservando el número y código del paciente, y ordenadas de manera secuencial.
- Se llevó los reactivos a temperatura ambiente antes de su uso. El procedimiento a seguir para cada metabolito esta descrito detalladamente en el ANEXO 5.
- Para la determinación del **Perfil Lipídico**, las muestras de las pacientes fueron introducidas dentro de la serie analítica utilizada en química sanguínea, para el respectivo control de calidad interno.

BLANCO	ESTÁNDAR	CONTROL DE PRECISION	CONTROL DE EXACTITUD	MUESTRAS
--------	----------	----------------------	----------------------	----------

- **Precisión analítica:** para el Control de precisión: se trabajó con el Pool de sueros elaborado por el propio laboratorio: el cual consta de valores de analitos del perfil lipídico dentro de la normalidad, pero de concentración desconocida. Este pool fue procesado de manera conjunta con las muestras de las pacientes dentro de la serie analítica, el valor del pool fue ploteado en la Gráfica de Shewart-Jennings Levy, este valor se encontró dentro de las $\pm 2DS$ para de esta manera validar los resultados (ANEXO 9).
- **Exactitud analítica:** se utilizó el suero control de exactitud TC-TROL NORMAL de concentración conocida de la línea TECO para evaluar exactitud e inexactitud del método en caso de los parámetros del perfil lipídico. En caso de los métodos inmuno-químicos como los marcadores óseos y las hormonas, el nivel aceptable de exactitud analítica reportado es del 96%, lo cual demuestra que el sistema cumplió con los requisitos de exactitud aceptados para este tipo de método analítico. Se utilizaron los controles liofilizados altos y bajos provenientes del kit comercial además de un calibrador. (ANEXO 10)
- Para la determinación de los **Marcadores Óseos y Hormonas del eje gonadal femenino**, cuyo procedimiento se detalla en el ANEXO 5, se realizó previamente la verificación del método mediante la elaboración de curvas de calibración (ANEXO 6 Y 7) como se mencionó en la parte de Confiabilidad del método.
- Una vez elaboradas las curvas de calibración, se emplearon muestras de pacientes en edad fértil como controles internos y un control alto y

bajo de concentración conocida provenientes del Kit comercial, para el respectivo control de calidad.

- Los resultados preliminares obtenidos, fueron ploteados en las curvas de calibración respectivas, para de esta manera obtener la concentración de las muestras.

3) **Fase post-analítica:** comprende desde la interpretación de los resultados obtenidos hasta la entrega final del informe.

- Se procedió a la **Validación de los resultados** obtenidos de los parámetros del **perfil lipídico** mediante el control de precisión (valor hallado en negrillas para el **pool** de sueros se encontró dentro de las $\pm 2DS$) (ANEXO 10), tal como se observa en las gráficas de Shewart-Jennings Levi, de los parámetros del perfil lipídico (ANEXO 9) y exactitud (el valor hallado en negrillas se encontró dentro del rango establecido por el kit comercial) (ANEXO 10), ya mencionados en la fase analítica, tomando en cuenta los criterios de confiabilidad: concordancia y plausibilidad. Cabe recalcar que las determinaciones del perfil lipídico se realizaron durante 7 días.
- Para la **Validación de los resultados** de los marcadores óseos y hormonas, la concentración obtenida desde las curvas de calibración correspondientes, fueron evaluados según los controles altos y bajos y un calibrador utilizados de cada kit, como también las muestras de mujeres en edad fértil, las cuales presentaron valores dentro del rango de referencia (ANEXO 10). Cabe recalcar que tanto los marcadores óseos como las hormonas fueron procesadas en las mismas condiciones de equipos, operador y tiempo, ya que una vez reunidas fueron procesadas en conjunto, para evitar el gasto de celdas de reacción y controles.

2. Valores de referencia de los metabolitos determinados

Valores de referencia de los parámetros que conforman el perfil lipídico:

	Deseables (mg/dl)	Límites (mg/dl)
Colesterol total	Menor a 200	200 – 239
Triglicéridos		30 - 150
LDL-c		130 - 159
HDL-c		30 - 85
Índice Aterogénico	Menor a 4.5	
Riesgo moderado		4.5 - 5
Riesgo elevado		Mayor a 5

Valores de referencia Marcadores de Remodelado Óseo:

Fosfatasa ácida: (TRAP 5b) U/L	Mujeres Edad Fértil 1.5 – 4.3	Post-menopausia: 2.8 – 5.8
Telopéptido Amino terminal: NTx nM ECO	Mujeres Edad fértil: 6.2 - 19	
Piridinolinas: PYD nmol/l	Mujeres Edad fértil: 16 – 37	
Fosfatasa alcalina ósea: BAP U/L	Adultos: 11.6 – 29.6	
Osteocalcina: OC ng/ml	Adultos: 3.8 - 30	
Propéptido Carboxilo terminal: CICP ng/ ml	Adultos: 19 - 69	

Valores de referencia Hormonas del eje gonadal femenino:

<p>ESTRADIOL pg/ml</p>	<p>F.Folic. temprana (-12 días):31(ND-84) F.foli. pre-pico (-4 días): 133(34-400) Medio Ciclo (-1 día): 120-375 F. luteal temprana (+ 2 días):50-155 F.luteal media (+ 6 días):60-260 F.luteal (+12 días):15-115 Post-Menopausica: ND(ND-93) ND = No detectable</p>
<p>LH mUI/ml</p>	<p>Fase Folicular: 4,6 (1,1-11,6) Medio Ciclo: 39 (17-77) Fase Luteal : 4,3 (ND – 14,7) Post-menopausia: 24,9 (11,3 – 40) Contracepción oral: 1. 8 (ND-5.9) ND = No detectable.</p>
<p>FSH mUI/ml</p>	<p>Fase Folicular: 6,6 (3,0-14,4) Medio ciclo: 13,6 (5,8-21) Fase luteal: 3,4 (1,2-9,0) Post-menopausia: 90,5 (21,7-1536) ND= No detectable</p>

G. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACION

1. Recolección de datos

Los datos provenientes de las historias clínicas y de los cuestionarios realizados a cada paciente se recolectaron utilizando un formulario y un registro de pacientes (Ver anexo 2). Los datos obtenidos del procesamiento fueron registrados en un formulario

2. Elaboración.

a. Etapa de revisión

Se revisaron los datos obtenidos a través de los cuestionarios, aplicando el registro analizado y verificando si el llenado del mismo es correcto.

b. Etapa de clasificación

Los resultados obtenidos, serán clasificados de acuerdo a las variables: edad, tiempo de post-menopausia, DMO's en columna, cuello femoral izquierdo/derecho, concentración de hormonas, concentración de marcadores de remodelado óseo y concentración de lípidos y lipoproteínas.

c. Procesamiento estadístico y análisis de los datos

Se revisaron los datos obtenidos antes de ser introducidos al computador, para luego aplicar estadísticos descriptivos (promedio, desviación estándar, frecuencias) e inferenciales utilizando los paquetes estadísticos SPSS 15 y Microsoft EXCEL.

La relación entre niveles de marcadores de remodelado óseo, y las demás variables fue analizada por análisis de regresión lineal.

Se utilizó el coeficiente de Pearson para determinar posible correlación lineal entre dos variables cuantitativas con un nivel de significación del 5%, se consideró $p < 0,05$ como significativa.

X. RESULTADOS

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DESCRIPTIVO

Las características generales en cuando a edad, se observa en la Tabla 6, donde el porcentaje de mujeres post-menopáusicas se distribuyen casi de manera homogénea en los grupos de edades. Sin embargo, cabe recalcar que el mayor porcentaje (29.8%) de mujeres post-menopáusicas, se encuentra distribuido entre las edades de 50 a 53 años. Se observa un menor porcentaje (21%) de mujeres post-menopáusicas entre las edades más avanzadas (58 – 61), lo cual indica que nuestro grupo de estudio, se constituye de mujeres post-menopáusicas relativamente jóvenes.

TABLA 6. Frecuencia y porcentaje de mujeres post-menopáusicas según grupos de Edades.

GRUPO DE EDADES	Frecuencia	%
46 -49	14	22,90%
50 - 53	18	29,80%
54 - 57	15	25,90%
58 - 61	12	21,00%
Total	60	100%

Según la Tabla 7, se observa que el número de mujeres post-menopáusicas, está distribuido de manera más dispersa en cuanto al tiempo transcurrido de post-menopausia. Donde el 26.9% se distribuye entre los 2 a 4 y el 8.9% se encuentran en el intervalo de mayor tiempo post-menopáusico (13 – 14).

TABLA 7. Frecuencia y porcentaje de mujeres post-menopáusicas según intervalos de Tiempo de post-menopausia.

Tiempo de post-menopausia (años)	Frecuencia	%
1	10	15,90%
(2 - 4)	17	26,90%
(5 - 6)	13	22,60%
(7 - 10)	9	14,80%
(11 - 12)	6	10,60%
(13 - 14)	5	8,90%
Total	60	100%

TABLA 8. Porcentaje de mujeres post-menopáusicas que presentan DMO (Densitometría ósea) Normal, osteopenia leve, moderada y severa de columna, femorales izquierdo y derecho.

DMO	% Columna	% Femoral izquierdo	% Femoral derecho	Promedio DMO
Normal	70,90%	54,20%	54,30%	57,80%
Osteopenia leve	10,20%	21,80%	20,30%	24,00%
osteopenia moderada	15,20%	16,00%	18,70%	13,50%
Osteopenia severa	3,40%	8,40%	6,80%	5,10%
Total	100%	100%	100%	100%

La población en estudio, estuvo conformada por mujeres post-menopáusicas con DMO normal y diferentes niveles de osteopenia (ninguna paciente presentó osteoporosis), por lo que en la Tabla 9, se observa claramente que el mayor porcentaje de mujeres post-menopáusicas presentaron DMO normal tanto en columna como en cuellos femorales derecho e izquierdo, con un promedio de 57.8% en los tres sitios y un porcentaje bajo de mujeres presentaron osteopenia severa en los tres sitios de DMO con un promedio de 5.10 %.

Se compararon las concentraciones de los marcadores óseos en ambos grupos, lo cual se observa en la Tabla 9, donde el promedio de la concentración de los marcadores de formación en el grupo de mujeres en edad fértil se encuentra dentro del rango de los valores de referencia, por el contrario el grupo de estudio constituido por la mujeres post-menopáusicas presentan valores de sus marcadores de formación en el límite de inferior del rango de referencia. En el caso de los marcadores de resorción, el promedio de la concentración de los mismos en las mujeres en edad fértil se encuentra también en el límite inferior del rango de referencia y en algunos casos por debajo del mismo. Mientras que las mujeres post-menopáusicas presentan concentraciones elevadas y en algunos casos muy por encima del rango de referencia establecido. Cabe destacar, que

los datos presentados especialmente en el grupo de estudio, son bastante dispersos, lo cual se observa claramente en la desviación estándar presentada en cada caso.

TABLA 9. Promedio de la concentración de los Marcadores bioquímicos de Remodelado óseo en el grupo de mujeres en edad fértil y en el grupo de estudio (mujeres post-menopáusicas)

	Promedio de la concentración de BAP U/L	Desviación estándar	Valor mínimo	Valor máximo	Valor de referencia
Grupo en edad fértil	27,8	+/- 6,0	17,8	30,9	11,6 - 29,6
Grupo de estudio	14,9	+/- 5,3	6,1	27,4	
	Promedio de la concentración de OC ng/ml	Desviación estándar	Valor mínimo	Valor máximo	Valor de referencia
Grupo en edad fértil	25,4	+/- 3,7	20	29,3	3,8 - 30
Grupo de estudio	10,1	+/- 4,8	2,7	27,2	
	Promedio de la concentración de CICP ng/ml	Desviación estándar	Valor mínimo	Valor máximo	Valor de referencia
Grupo en edad fértil	40,5	+/- 2,1	38,2	44,1	19 - 69
Grupo de estudio	15,4	+/- 12,7	1,4	51,3	
	Promedio de la concentración de TRAP U/L	Desviación estándar	Valor mínimo	Valor máximo	Valor de referencia
Grupo en edad fértil	0,62	+/- 0,4	0,2	1,5	1,5 - 4,3
Grupo de estudio	2,13	+/- 1,6	0,2	9,4	2,8 - 5,8
	Promedio de la concentración de NTx nM ECO	Desviación estándar	Valor mínimo	Valor máximo	Valor de referencia
Grupo en edad fértil	14,5	+/- 3,4	10,2	19	6,2 - 19
Grupo de estudio	21,3	+/- 8,3	23	41,6	
	Promedio de la concentración de PYD nmol/ml	Desviación estándar	Valor mínimo	Valor máximo	Valor de referencia
Grupo en edad fértil	9,3	+/- 6,7	0,9	17,8	16 - 37
Grupo de estudio	70,6	+/- 49,9	5,4	212	

TABLA 10. Promedio de la concentración del Perfil lipídico en el grupo de mujeres en edad fértil y en el grupo de estudio (mujeres post-menopáusicas).

	Promedio de la concentración de Colesterol mg/dl	Desviación estándar	Valor mínimo	Valor máximo	Valor de referencia
Grupo en edad fértil	172,7	+/- 19,7	149,0	197,0	menor a 200 200 - 239
Grupo de estudio	235,5	+/- 48,9	139,0	364,0	
	Promedio de la concentración de Triglicéridos mg/dl	Desviación estándar	Valor mínimo	Valor máximo	Valor de referencia
Grupo en edad fértil	111,3	+/- 28,3	65	143	30 - 150
Grupo de estudio	166,9	+/- 72,3	60	500	
	Promedio de la concentración de LDL-c mg/dl	Desviación estándar	Valor mínimo	Valor máximo	Valor de referencia
Grupo en edad fértil	111,3	+/- 16,5	90	132	130 - 159
Grupo de estudio	162,6	+/- 42,6	75	264	
	Promedio de la concentración de HDL-c mg/dl	Desviación estándar	Valor mínimo	Valor máximo	Valor de referencia
Grupo en edad fértil	42	+/- 6,3	35	53	30 - 85
Grupo de estudio	39,5	+/- 8,3	21	56	
	Promedio de la concentración de Índice aterogénico	Desviación estándar	Valor mínimo	Valor máximo	Valor de referencia
Grupo en edad fértil	4	+/- 0,9	2,9	4,8	menor a 4,5 4,5 - 5
Grupo de estudio	6,3	+/- 2,5	3	14,5	

En el caso del Perfil lipídico presentado en la Tabla 10, se observa que en las mujeres en edad fértil, el promedio de la concentración de todas las moléculas del perfil lipídico, además del Índice aterogénico se encuentran dentro del rango de referencia establecido. Lo contrario ocurre con las mujeres del grupo de estudio, las cuales presentaron concentraciones de las moléculas del perfil lipídico muy por encima del rango de referencia. Cabe destacar que existe casos en los que las mujeres del grupo de estudio, presentan valores mínimos de colesterol, triglicéridos e Índice aterogénico dentro del valor de referencia, hecho que explica la dispersión de los datos representados por la desviación estándar.

Determinación de los Niveles de los Marcadores Oseos de Remodelación en la Población en Estudio

Los cambios en la dinámica de remodelación ósea pueden ser determinados tanto por la medición de los denominados Marcadores de Formación o los de Resorción a nivel bioquímico, como por la medición de la masa ósea por métodos densitométricos (DMO). En este estudio, se efectuaron ambas mediciones en una población de mujeres postmenopáusicas (N = 60) participantes en el estudio.

Los niveles de los marcadores estudiados: Fosfatasa Alcalina (BAP), Osteocalcina (OC), Propéptido Carboxilo terminal del Colágeno tipo I (CICP), Fosfatasa Acida Tartrato resistente (TRAP), Telopéptido Amino terminal del Colágeno tipo I (NTx) y Piridinolinas (PYD) mostraron diferencias significativas con los del grupo de mujeres en edad fértil que sirvieron como grupo control. La Figura 25 muestra dichos valores, donde se aprecia que en el grupo estudiado (N=60) existe una vasta dispersión de valores expresados en la amplia D.S que, como veremos mas adelante, se relaciona con la edad y con otros parámetros biológicos. Los datos obtenidos en la Densitometría* (DMO) (Score T) se aprecian en la Figura 26, en la que pueden advertirse diferencias entre los tres segmentos oseos examinados.

También se pudo observar que no existen mujeres postmenopáusicas que tengan modificados todos sus marcadores bioquímicos, la mayoría tienen solo algunos y existen otras que tienen todos sus valores dentro de los niveles normales (Fig. 27)

*La unidad de medida de la DMO es **gramos de contenido mineral óseo CMH (hidroxiapatita de calcio), por área en cm²**, con un valor normal de 0,97 y 1,28 CMH /[g/cm²]; los cuales se convierten a un T-Score, el cual compara la Desviación Estándar de la masa ósea de la persona en estudio con respecto a la media de adultos jóvenes del mismo sexo; por esto consideramos una DMO normal cuando tiene un valor comprendido entre +1 y -1 Desviaciones Estándar (DS) con respecto a la media de un adulto joven. La baja densidad ósea u osteopenia, se establece cuando los valores de la DMO se encuentran entre -1 y -2,49 DS (T-Score). Los criterios de la OMS incluyen una cuarta categoría, llamada osteoporosis severa, definida como una DMO por debajo de -2,5 DS.

MARCADORES DE FORMACION

MARCADORES DE RESORCIÓN

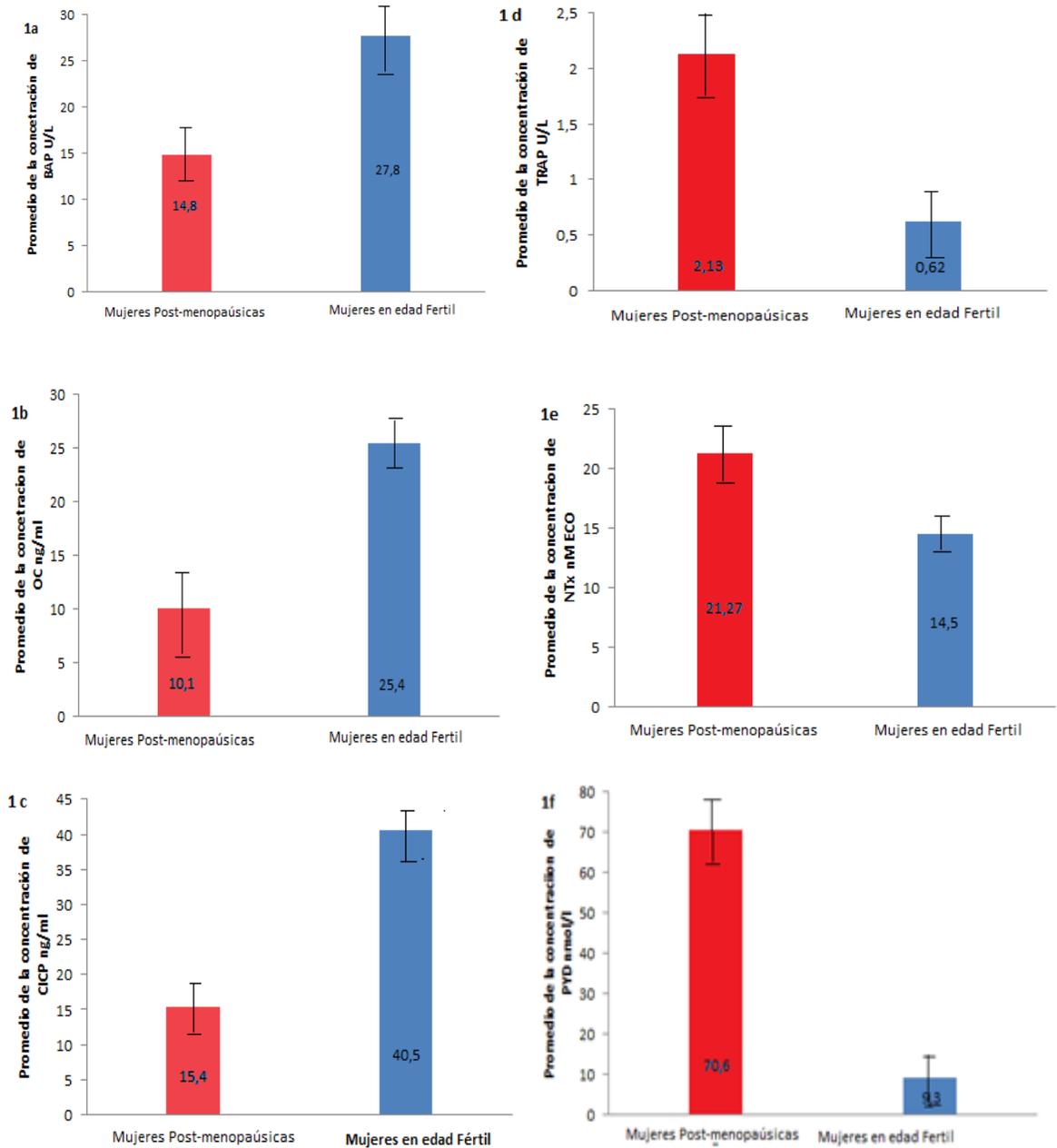


FIGURA 25. Promedio \pm 1D.S. de la Concentración de los Marcadores de Formación y de Resorción en las Mujeres Post-menopáusicas y en las Mujeres en edad Fértil participantes en el estudio.

Valores de la Densitometría Ósea

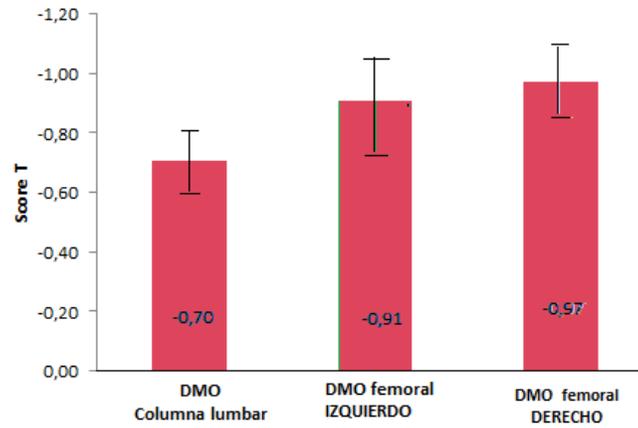


FIGURA 26. Promedio \pm 1 D.S. del valor del Score T de las DMO's en columna y cuellos femorales Izquierdo y Derecho en las mujeres Post-menopáusicas. Se hace notar que los valores que se muestran son negativos y expresan la disminución de la densidad en relación a mujeres normales en edad fértil (S.T.= 0.0)



FIGURA 27. Número de Marcadores de Remodelado Óseo en la población en estudio.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO INFERENCIAL

Correlación entre los valores de los Marcadores Bioquímicos de Remodelado óseo y la DMO.

Sabiendo que la DMO tiene el antecedente de ser un procedimiento ya validado en nuestro medio, su ejecución permitió determinar el Score T que fue importante como parámetro de referencia para evaluar o al menos constatar lo obtenido con los procedimientos bioquímicos. Para esto, fue importante conocer el grado de correlación entre ambos tipos de biomarcadores, lo cual se realizó en la población de mujeres postmenopáusicas (N = 60) participantes en este estudio. En este orden, los valores del SCORE T de las imágenes densitométricas y los valores de los Marcadores Bioquímicos fueron sometidos a procedimientos estadísticos de correlación y regresión lineal. En las gráficas de regresión lineal entre DMO y Marcadores de Formación (Fig. 28), es notable la dispersión de los datos individuales en BAP y en CACP y no así en OC, mostrando este último, una nube de datos más cercana a la pendiente, en relación a los tres sitios de la DMO.

Lo cual indica que a bajos niveles de masa ósea ya se observa un decremento en la concentración de los marcadores de formación; destacando BAP con un coeficiente de correlación más elevado respecto a la DMO en columna. El decremento de los niveles de esta enzima específica de la actividad osteoblástica refleja un proceso de mineralización ósea alterada, ya que pese a que los osteoblastos sintetizan propéptido de colágeno, colágeno tipo I y proteínas no colágenas como la osteocalcina; este proceso de síntesis no se da abasto, debido a un incremento en la resorción ósea, lo cual se ve reflejado en una baja masa ósea especialmente en la etapa postmenopáusica. El papel de los estrógenos como se verá más adelante, jugaría un rol importante en la activación de los osteoblastos, estos últimos debido a la disminución de estrógenos se ven alterados en su función disminuyendo así el proceso de formación ósea.

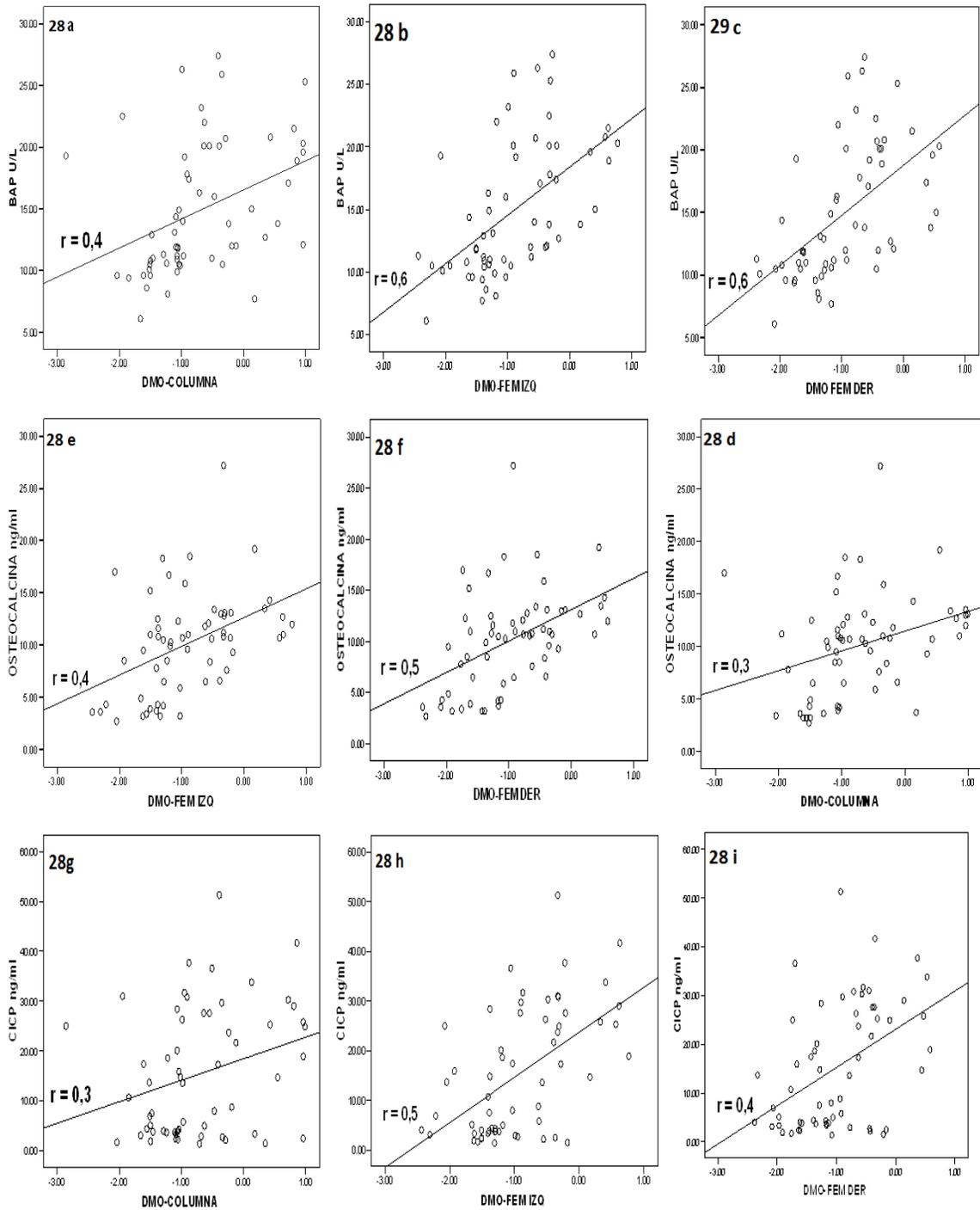


FIGURA 28. Regresión lineal entre las DMO's de columna, cuello femoral izquierdo y derecho vs Marcadores de Formación ósea: Fosfatasa Alcalina Ósea (BAP); Osteocalcina (OC); y Propeptido Carboxilo terminal del Colágeno tipo I (CICP). El coeficiente "r" se muestra en cada línea de tendencia.

Cuando se examina las gráficas de regresión (Fig. 29) entre la DMO de columna, cuellos femorales izquierdo/derecho y los Marcadores de Resorción, es posible notar un alto grado de dispersión de los datos.

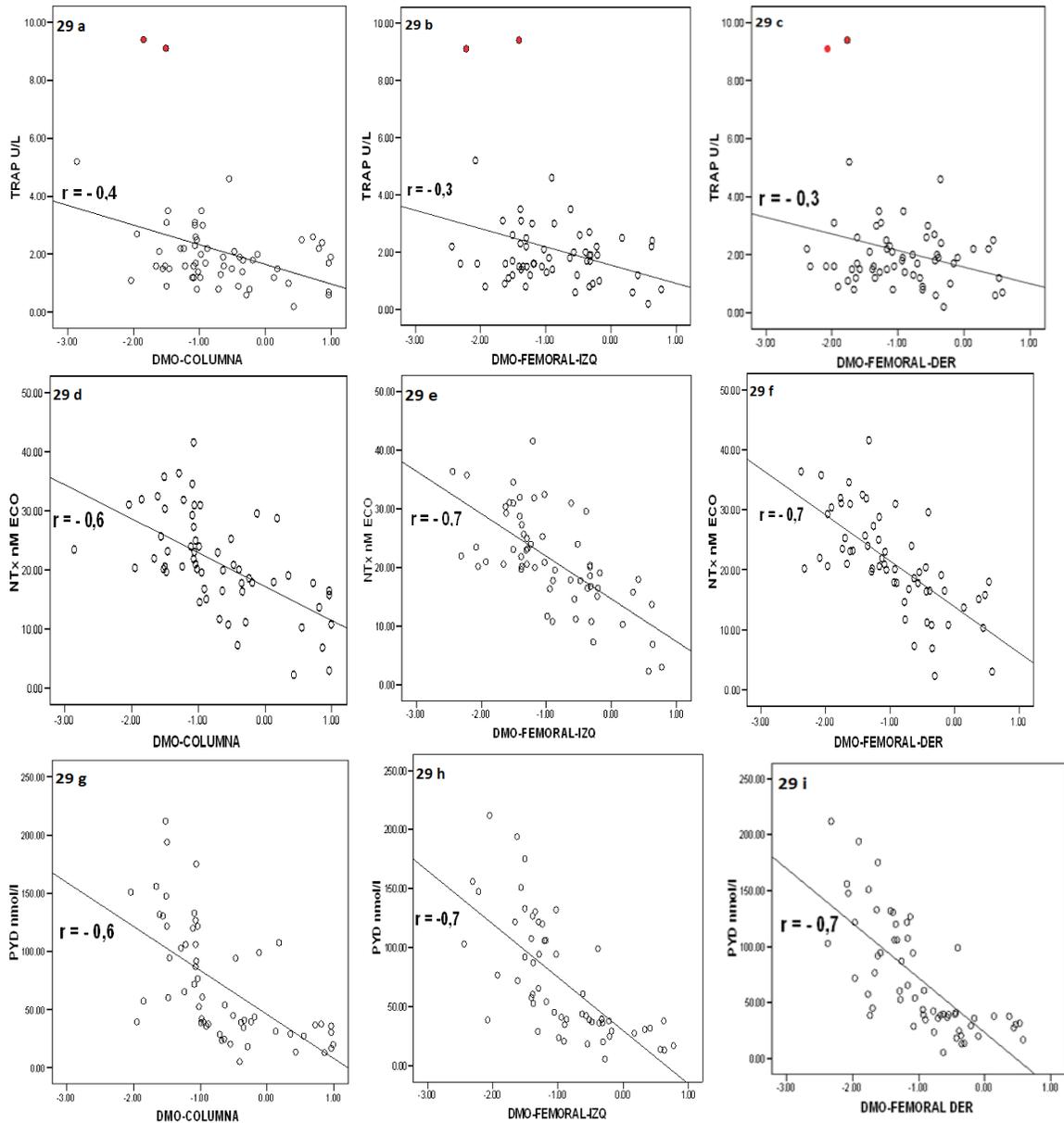


FIGURA 29. Regresión lineal entre las DMO's de columna, cuello femoral izquierdo y derecho vs Marcadores de Resorción ósea: Fosfatasa Ácida Tartrato Resistente (TRAP); Telopéptido Amino terminal del colágeno tipo I (NTx); y Piridinolinas (PYD). El coeficiente r se muestra en cada línea de tendencia.

En algunos casos, como el de TRAP en relación con la DMO de los tres sitios anteriormente mencionados (29a, 29b y 29c), el leve decremento de la línea de tendencia de este marcador, a medida que aumenta la masa ósea, depende solo de algunos puntos (2 en este caso, representados en color rojo) muy alejados de la pendiente normal, sin los cuales no existiría la correlación negativa que se muestra en la Tabla 11 (ver adelante); esta sería solo de $r = 0$ (gráfica no mostrada). Por el contrario, la correlación se aprecia claramente entre los marcadores de resorción NTx y PYD con los tres sitios de DMO con un mínimo grado de dispersión (Figs. 29d-29i).

Esta elevada correlación entre NTx y PYD con los tres sitios de la DMO, los cuales están constituidos principalmente por hueso trabecular el cual presenta mayor actividad metabólica en esta etapa post-menopáusica, indica ya un predominio de la resorción reflejada por estos marcadores, los cuales son producto directo de la degradación del colágeno tipo I óseo.

Todas las gráficas referidas anteriormente, se condensan en la Tabla 11, la cual nos permite correlacionar los datos y apreciar la significancia estadística (p). Se pudo determinar, que los **Marcadores de Formación** (BAP, OC y CICP), presentan un coeficiente de correlación diferente con la DMO practicada en diferentes huesos. Esta correlación fue de baja magnitud con la DMO en columna, y ostensiblemente más elevada con cuellos femorales izquierdo y derecho. Cabe destacar el caso del marcador de aposición BAP, por expresar un coeficiente de correlación más elevado ($r = 0.6$) en los cuellos femorales comparado con los marcadores OC y CICP.

Por otra parte, los **Marcadores de Resorción**, presentan una estrecha correlación negativa con las DMO's medidas en columna, cuello femoral izquierdo y cuello femoral derecho, con un coeficiente de correlación elevado y altamente significativo ($p < 0.01$) en todos los casos, excepto en TRAP, en el que se presenta correlación negativa baja con la DMO de columna ($r = -0.4$) y un ' r ' aún más bajo con la DMO de cuellos femorales (comparado con los demás marcadores de resorción), pero sin dejar de ser significativo

($p < 0.01$). Es importante destacar que NTx y PYD, presentan simultáneamente el coeficiente de correlación más alto en cuellos femorales derecho e izquierdo.

La presencia de niveles elevados de los marcadores de resorción especialmente de NTx y PYD y niveles bajos de los de formación (BAP) en relación con la DMO, indica ya un desbalance en el proceso de resorción y formación ósea, lo cual se ve reflejado en columna y femorales, por ser estos sitios del esqueleto los que presentan mayor actividad metabólica.

TABLA 11. Análisis de correlación entre Marcadores de Remodelado Óseo y Densitometría Ósea (DMO) en la población de estudio.

	DMO-COLUMNA		DMO-FEMORAL IZQUIERDO		DMOFEMORAL DERECHO	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
MARCADORES DE FORMACIÓN						
BAP	0,4	0,003**	0,6	0,000**	0,6	0,000**
OC	0,3	0,009**	0,4	0,001**	0,5	0,000**
CICP	0,3	0,025*	0,5	0,000**	0,4	0,000**
MARCADORES DE RESORCIÓN						
TRAP	-0,4	0,005**	-0,3	0,020*	-0,3	0,045*
NTX	-0,6	0,000**	-0,7	0,000**	-0,7	0,000**
PYD	-0,6	0,000**	-0,7	0,000**	-0,7	0,000**

BAP = Fosfatasa Alcalina Ósea (U/L), OC = Osteocalcina (ng/ml), CICP = Propéptido Carboxilo terminal del Colágeno tipo I (ng/ml), TRAP = Fosfatasa Acida Tartrato Resistente (U/L), NTx = Telopéptido Amino-terminal del Colágeno tipo I (nM ECO), PYD = Piridinolinas (nmol/l).

“*r*” coeficiente de Pearson

“*p*” nivel de significancia

*La correlación es significativa a nivel 0,05

**La correlación es significativa a nivel 0,01

Observando las figuras 29d, 29e y 29f referidas a la regresión entre NTx y las DMO's, se advierte una concentración de los puntos en los cuadrantes superior izquierdo e inferior derecho. Obteniendo el promedio de estos tres sitios de DMO para realizar una regresión lineal con la concentración del marcador de resorción NTx, se observa una

correlación inversamente proporcional entre ambas variables, donde, además, se destacan claramente dos grupos sobre la pendiente de la recta: el primero se define en el cuadrante inferior derecho (puntos en azul), que comprende a las pacientes con densidad ósea normal y niveles de NTx dentro del rango de referencia.

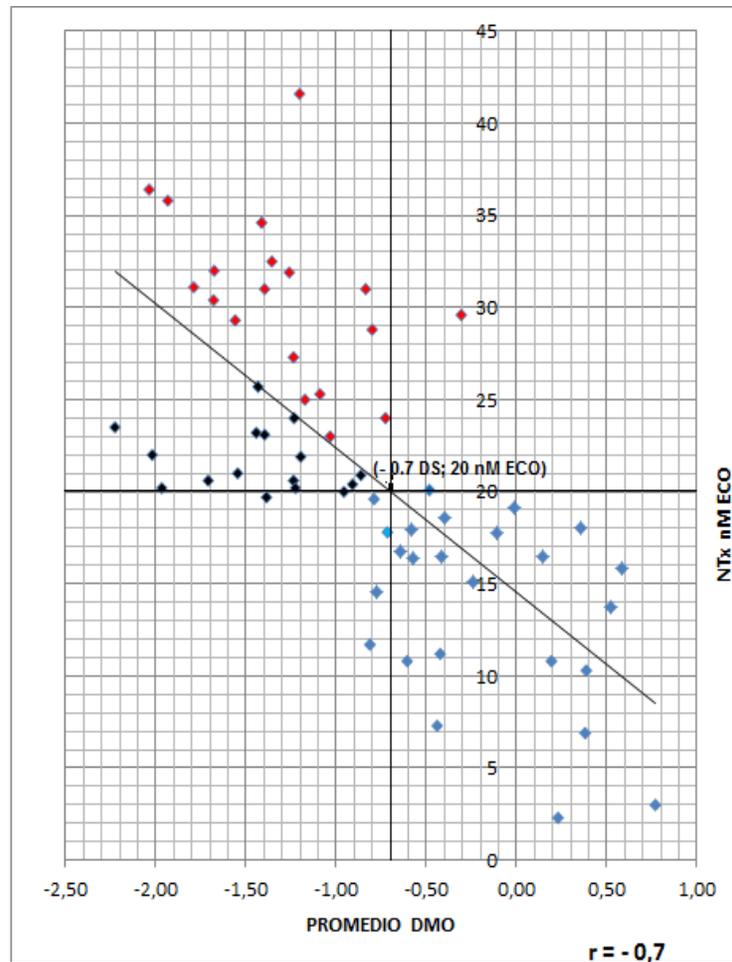


FIGURA 30. Regresión lineal entre la concentración de NTx nM ECO y el promedio de las DMO's (columna y femorales derecho e izquierdo) en la población en estudio.

El segundo grupo ubicado en el cuadrante superior izquierdo, comprende a su vez dos sub-grupos; el primero ubicado por debajo de la pendiente (puntos en negro) donde niveles ligeramente elevados de NTx presentan baja densidad ósea, acercándose a osteopenia severa. Por encima de la pendiente (puntos en rojo), se aprecia claramente a aquellas pacientes en las cuales se observa un incremento progresivo de NTx, a medida

que disminuye la densidad ósea. En este último grupo en particular, se observan niveles marcadamente elevados de NTx, pero no así una disminución marcada de la densidad ósea, ubicándose en el rango de osteopenia leve a moderada.

El mismo procedimiento explicado anteriormente (obtención de los promedios de la DMO en los tres sitios) se aplicó para PYD. La figura 31, muestra la regresión entre el promedio de la DMO y la concentración del marcador de resorción PYD en orina; se aprecia que los puntos conforman una curva de tendencia asintótica (Fig. 31a).

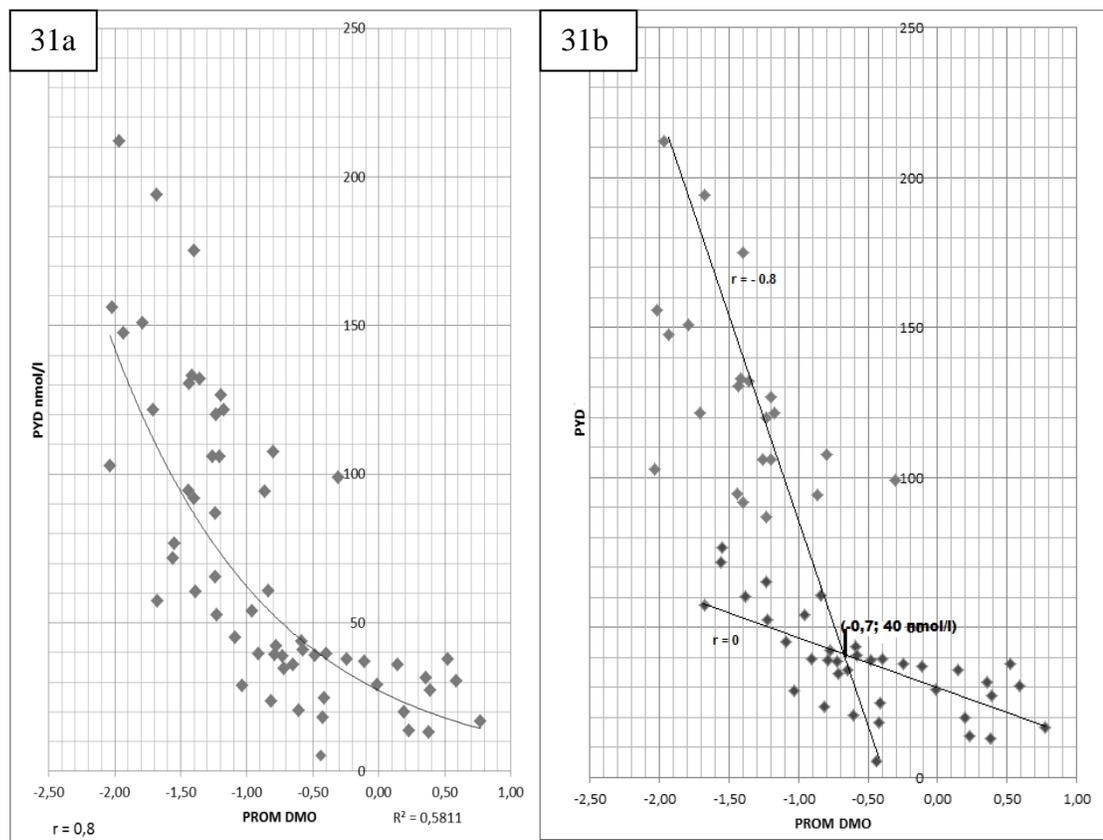


FIGURA 31. Regresión lineal entre la concentración de PYD nmol/l y el promedio de las DMO's (columna y femorales derecho e izquierdo) en la población en estudio

Una observación minuciosa de la gráfica, permitió destacar la presencia de dos poblaciones claramente definidas (Fig. 31b); la primera constituida por los puntos

ubicados en la parte inferior del gráfico, los cuales se incrementan de manera leve pero progresiva a medida que disminuye la densidad ósea ($r = 0$).

En cambio, el incremento del otro grupo (en la parte más pendiente de la curva, $r = -0.8$) es más marcado en relación al primero, alcanzando niveles muy elevados de PYD, especialmente a partir de los 40 nmol/l.

Al proyectar cada segmento de la curva en dos rectas; se obtuvo una intersección, que coincide con el límite superior de los valores normales de PYD en orina de mujeres en edad reproductiva. Esto permitió observar claramente que la mayoría de los datos que se encuentran muy por encima de este punto de intersección, están dentro del rango de osteopenia leve a moderada.

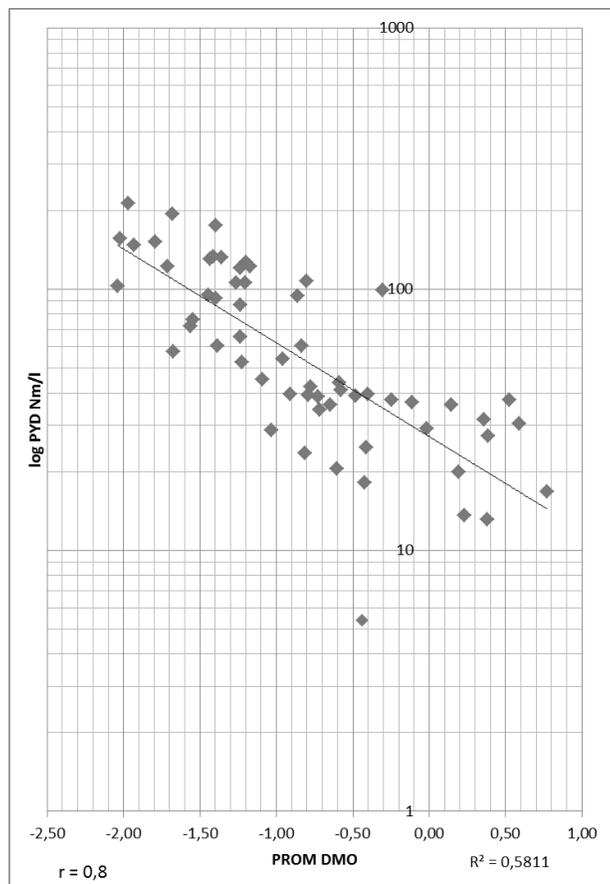


FIGURA 32. Regresión lineal entre el logaritmo de la concentración de PYD nmol/l y el promedio de las DMO's (columna y femorales derecho e izquierdo) en la población en estudio.

Solo obteniendo el logaritmo de la concentración de PYD, se confirma la correlación lineal y directamente proporcional existente entre estas dos variables; con una mínima dispersión de los datos, tal como se observa en la figura 32.

Observando la Fig.30 es posible identificar poblaciones en cada cuadrante: en el superior izquierdo se ubicarían los casos en que hay altos valores del marcador de resorción NTX y baja densidad ósea; en el cuadrante inferior derecho los que tienen valores normales de NTX y DMO en los parámetros prácticamente normales (mujeres en edad fértil); en los otros dos cuadrantes solo algunos casos (cerca de los otros cuadrantes ya mencionados) con discrepancia (alto NTX y DMO normal o NTX normal y DMO baja) entre valores. Lo encontrado anteriormente, explica el hecho de que especialmente estos marcadores de resorción ósea (NTX y PYD) al ser productos directos del metabolismo del colágeno óseo, reflejan el proceso de resorción a nivel de todo el esqueleto y no solo de sitios aislados; lo cual permitiría identificar con antelación a aquellas mujeres con pérdida rápida de masa ósea. Para estudiar mejor este hecho, nos basamos en el procedimiento de identificación de estas sub-poblaciones, las cuales tienen similitud a una tabla de contingencia que permite conocer la sensibilidad, la especificidad, la exactitud y los valores predictivos de un procedimiento respecto a otro. En el presente caso, si utilizamos los datos obtenidos para ser catalogado respecto a los valores normales (obtenidos en mujeres en edad fértil), podremos explorar la capacidad predictiva de los Marcadores Óseos, frente a lo que –por su nivel de validación– podría establecerse como la prueba de oro o “*Gold Standard*”: la DMO, que clasifica a los sujetos según cursen con diferentes grados de osteopenia. Para esto se elaboraron tablas de contingencia, de cada uno de los Marcadores Óseos, lo que permitió obtener la validez de estos Marcadores Bioquímicos Óseos, a través del cálculo de la sensibilidad, especificidad, así como su capacidad: los valores predictivos positivo y negativo.

TABLA 12. Tabla de contingencia entre el promedio de las DMO's y el Marcador de Formación Fosfatasa Alcalina (BAP)

	DENSITOMETRIA OSEA						BAP
Marcador explorado	Normal	Osteopenia Leve	Osteopenia Moderada	Osteopenia Severa	Total	Sensibilidad	68%
						Especificidad	94%
BAP Normal	50%	12%	2%	1%	66%	Exactitud	82%
BAP Bajo	3%	17%	8%	7%	34%	VPP*	0,90%
Total	53%	29%	10%	8%	100%	VPN**	0,77%

*VPP: valor predictivo positivo

**VPN: valor predictivo negativo

En la Tabla 12, el 66% de las pacientes presentaron niveles normales de este Marcador de Formación y 34% niveles bajos del mismo. Del 53% de pacientes con Densidad Ósea normal, 50%, presentó niveles normales y 3% niveles bajos de BAP. Se presentó osteopenia leve en 29% de las pacientes, de las cuales 12% presentaron niveles normales y 17% niveles bajos del mismo. De los 10% de pacientes con Osteopenia Moderada, 2% presento niveles normales y 8% niveles bajos de BAP. Por último, Osteopenia severa presentaron 8% de las pacientes, de las cuales solo el 1% presentó niveles normales y 7% niveles bajos de este marcador. Por tanto, para este marcador, se encontró, en relación a la DMO, una buena sensibilidad (68%) y elevada especificidad (94%).

En cuanto a la Osteocalcina (OC), el 87% de las pacientes presentaron niveles normales de este marcador y 13.3% niveles bajos del mismo. Del 53.7% de pacientes con Densidad Ósea normal, 52%, presentó niveles normales y 1.7% niveles bajos de OC. Osteopenia Leve se presentó en 28.3% de las pacientes, de las cuales 25% presentaron niveles normales y 3.3% niveles bajos del mismo. Se encontró un 10% de pacientes con Osteopenia Moderada de los cuales 6.7% presentaron niveles normales y 3.3% niveles bajos de OC. Por último, Osteopenia severa presentaron 8.3% de las pacientes, de las cuales el 3.3% presentó niveles normales y 5% niveles bajos de este marcador. Por tanto,

se evidencia una baja sensibilidad (25%) y una mediana especificidad (66%) de este marcador

TABLA 13. Tabla de contingencia entre el promedio de las DMO's y el Marcador de Formación Osteocalcina (OC)

Marcador explorado	DENSITOMETRIA OSEA					OC
	Normal	Osteopenia Leve	Osteopenia Moderada	Osteopenia Severa	Total	
OC Normal	52,0%	25,0%	6,7%	3,3%	87,0%	Sensibilidad 25%
OC Bajo	1,7%	3,3%	3,3%	5,0%	13,3%	Especificidad 66%
Total	53,7%	28,3%	10,0%	8,3%	100,0%	Exactitud 63%
						VPP* 0,90%
						VPN** 0,60%

*VPP: valor predictivo positivo

**VPN: valor predictivo negativo

TABLA 14. Tabla de contingencia entre el promedio de las DMO's y el Marcador de Formación Propéptido Carboxilo Terminal del Colágeno tipo I (CICP)

Marcador explorado	DENSITOMETRIA OSEA					CICP
	Normal	Osteopenia Leve	Osteopenia Moderada	Osteopenia Severa	Total	
CICP Normal	31,7%	5%	0%	1,7%	38,4%	Sensibilidad 86%
CICP Bajo	21,7%	23,3%	10%	6,7%	61,7%	Especificidad 89%
Total	53,4%	28,3%	10%	8,4%	100%	Exactitud 73%
						VPP* 0,65%
						VPN** 0,83%

*VPP: valor predictivo positivo

**VPN: valor predictivo negativo

En referencia al Propéptido Carboxilo Terminal del Colágeno tipo I (CICP), según la Tabla 14, el 38.4% de las pacientes presentaron niveles normales de este marcador y 61.7% niveles bajos del mismo. Del 53.4% de pacientes con Densidad Ósea normal, 31.7%, de las mujeres post-menopáusicas presentó niveles normales y 21.7% niveles bajos de este Marcador de Formación. Osteopenia Leve se presentó en 28.3% de las pacientes, de las cuales 5% presentaron niveles normales y 23.3% niveles bajos del mismo. Tenemos 10% de pacientes con Osteopenia Moderada, donde todas las pacientes

presentaron niveles bajos de CICP. Por último, Osteopenia severa presentaron 8.4% de las pacientes, de los cuales solo el 1.7% presentó niveles normales y 6.7% niveles bajos de este marcador. Se destaca, por tanto, elevadas sensibilidad (86%) y especificidad (89%) de este marcador

En lo que se refiere a los **Marcadores de Resorción Ósea**, la Tabla 15, muestra lo que acontece con la Fosfatasa Ácida Tartrato Resistente (TRAP): el 93% de las pacientes post-menopáusicas presentaron niveles normales de este marcador y solo el 7% niveles elevados del mismo. Del 54% de pacientes con Densidad Ósea normal, el 52% presentó niveles normales y el 2 % niveles altos de TRAP. Osteopenia Leve se presentó en 28% de las pacientes, de las cuales todas presentaron niveles normales del mismo. De 10% de pacientes con Osteopenia Moderada, 8% presentaron niveles normales y 2% niveles elevados de TRAP. Por último, Osteopenia severa presentaron 8% de las pacientes, de los cuales el 5% presentó niveles normales y solo 3% niveles altos de este marcador. Todo lo anterior muestra que este marcador tiene una muy baja sensibilidad (11%) y mediana especificidad (55%).

TABLA 15. Tabla de contingencia entre el promedio de las DMO's y el Marcador de Resorción Fosfatasa Ácida Tartrato Resistente (TRAP)

Marcador explorado	DENSITOMETRIA OSEA					TRAP
	Normal	Osteopenia Leve	Osteopenia Moderada	Osteopenia Severa	Total	
TRAP Normal	52%	28%	8%	5%	93%	Sensibilidad 11%
TRAP Elevado	2%	0%	2%	3%	7%	Especificidad 55%
Total	54%	28%	10%	8%	100%	Exactitud 57%
						VPP 0,75%
						VPN 0,55%

*VPP: valor predictivo positivo

**VPN: valor predictivo negativo

Por su parte, el marcador Telopéptido Amino-terminal del Colágeno tipo I (NTx), como se observa en la Tabla 16, el 63% de las pacientes presentaron niveles elevados y el

37% niveles normales del mismo. Del 54% de pacientes con Densidad Ósea normal, 37%, presentaron niveles normales y 17% niveles elevados de NTx. Osteopenia Leve se presentó en 28% de las pacientes, de los cuales todas presentaron niveles elevados de NTx. Tenemos 10% de pacientes con Osteopenia Moderada, de los cuales ningún paciente presentó niveles normales de NTx. Por último, osteopenia severa presentaron 8% de los pacientes, de los cuales ninguno presentó niveles normales de este marcador. Se destacan la muy elevada sensibilidad (100%) y mediana especificidad (69%) de este marcador

TABLA 16. Tabla de contingencia entre el promedio de las DMO's y el Marcador de Resorción Telopéptido Amino-terminal del Colágeno tipo I (NTx).

DENSITOMETRIA OSEA							NTx
	Normal	Osteopenia Leve	Osteopenia Moderada	Osteopenia Severa	Total		
NTx Normal	37%	0%	0%	0%	37%	Sensibilidad	100%
NTx Elevado	17%	28%	10%	8%	63%	Especificidad	69%
Total	54%	28%	10%	8%	100%	Exactitud	83%
						VPP*	0,74%
						VPN**	1%

*VPP: valor predictivo positivo

**VPN: valor predictivo negativo

TABLA 17. Tabla de contingencia entre el promedio de las DMO's y el Marcador de Resorción Piridinolinas (PYD)

DENSITOMETRIA OSEA							PYD
Marcador explorado	Normal	Osteopenia Leve	Osteopenia Moderada	Osteopenia Severa	Total		
PYD Normal	28%	1,70%	0%	0%	30%	Sensibilidad	96%
PYD Elevado	25%	27%	10%	8%	70%	Especificidad	63%
Total	53%	29%	10%	8%	100%	Exactitud	73%
						VPP	0,64%
						VPN	0,94%

*VPP: valor predictivo positivo

**VPN: valor predictivo negativo

La Tabla 17, muestra que el 70% de las pacientes estudiadas presentaron niveles elevados de Piridinolinas (PYD) en orina y un 30% niveles normales del mismo. Del 53% de pacientes con Densidad Ósea normal, el 28%, presentó niveles normales y 25%

niveles elevados de NTx. Osteopenia Leve se presentó en 29% de las pacientes, de las cuales el 27% presentó niveles elevados de PYD y solo el 1.7% niveles normales. Del 10% de pacientes con Osteopenia Moderada, ninguno presentó niveles normales de PYD. Por último, Osteopenia severa se observó en el 8% de los pacientes, de los cuales ninguno presentó niveles normales de este marcador. Se destacan la elevada sensibilidad (96%) y relativa especificidad (63%) de este marcador.

La identificación de estas diferentes subpoblaciones separadas por un punto de corte (NTx = 20 nM ECO y PYD = 40 nmol/l) por encima de los cuales, permiten identificar a aquellas mujeres con pérdida rápida de masa ósea, se complementan con la exploración de la capacidad predictiva de los marcadores óseos, donde se destaca BAP (TABLA 12) y CICP (TABLA 14) con una notable sensibilidad y especificidad en el caso de los marcadores de formación y los de resorción NTx (TABLA16) y PYD (TABLA17) presentando estos últimos una elevada sensibilidad y especificidad clínica, permitirían independientemente de la DMO predecir pérdida de masa ósea, no solo a nivel de sitios específicos, sino que reflejarían eventos bioquímicos de formación y resorción a nivel de todo el esqueleto.

Relación entre Marcadores de Remodelado óseo, con la Edad y el Tiempo de post-menopausia.

La dinámica aposición/resorción de hueso en mujeres post-menopáusicas, explorada por la medición de ciertos productos que componen y derivan del metabolismo óseo, muestra que existe una relación directa tanto entre la Edad, como entre el Tiempo post-menopáusico (período que comienza luego de la menopausia con un lapso de 12 meses de amenorrea espontánea) y la concentración de dichos marcadores en suero y en orina. En las figuras 33 y 34, se aprecia el porcentaje de la dinámica de variación de dichos marcadores respecto a la Edad y Tiempo transcurrido de post-menopausia. Para evaluar esta variación, tanto en la dinámica de incremento de los marcadores de resorción

(Fig.33), como en la de decremento de los de aposición (Fig.34), fueron ajustados en función a los valores de la concentración de los marcadores de remodelado oseo medidos en mujeres en edad fértil; las cuales constituyeron el punto cero, a partir del cual se contruyeron ambas gráficas.

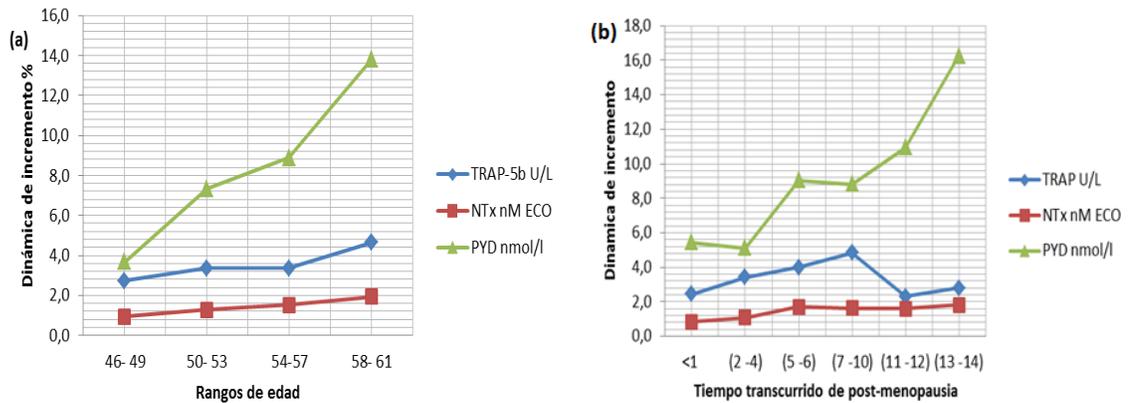


FIGURA 33.- Porcentaje de la Dinámica de incremento de los Marcadores de Resorción Ósea según Edad (33a) y Tiempo transcurrido de post-menopausia (33b). El porcentaje referente al promedio de cada subgrupo que conforma el rango fue obtenido en referencia al promedio de los Marcadores de Resorción de seis mujeres control en edad fértil (Incremento cero).

En la figura 33a, se observa el incremento de los Marcadores de Resorción: Fosfatasa Acida Tartrato Resistente (TRAP U/L), Telopéptido Amino-terminal del Colágeno tipo I (NTx, nM ECO) y Piridinolinas (PYD, nmol/l), en relación a los rangos de Edad y en la figura 33b en relación al Tiempo transcurrido de post-menopausia, los cuales estan representados en intervalos. Ambas dinámicas son similares, ya que el porcentaje de cada marcador de resorcion se incrementa de manera directamente proporcional. Sin embargo, esta proporcionalidad se observa más claramente en el marcado incremento de PYD, tanto con la Edad como con el Tiempo transcurrido de post-menopausia, destacando que en esta última el incremento de PYD es de manera escalonada y recién a partir de los 2-4 años. Por su parte, TRAP se incrementa respecto a la edad solo a partir del rango de (50-53) años; en cambio, cuando se estudia el cambio en el Tiempo post-menopausico, es posible apreciar un incremento leve pero sostenido desde el inicio,

hasta el intervalo de (7-10) años, después del cual este incremento disminuye ostensiblemente. Acerca de NTx, su incremento es muy leve y poco significativo en ambos casos.

Los hechos anteriormente expuestos, explican que la dinámica tanto de incremento como de decremento de los Marcadores óseos respecto a la Edad y Tiempo de post-menopausia, es heterogénea en los marcadores de resorción, debido a la diferente naturaleza metabólica de estos marcadores. Es así que TRAP, al ser una enzima específica del osteoclasto, refleja su actividad resortiva por la presencia de focos de osteopenia, los cuales no se incrementan con la edad ni con el tiempo de post-menopausia, es por esto que se observa un incremento muy leve de la misma. Lo mismo se observa en el marcador de resorción NTx, el cual por su leve incremento, nos lleva a pensar que su actividad de degradación de colágeno no depende de la Edad ni del Tiempo post-menopáusico, sino más bien del estado del remodelamiento y del tipo de hueso a ser remodelado. Lo contrario sucede con PYD, cuyo marcado incremento respecto a la Edad y Tiempo de post-menopausia depende exclusivamente del colágeno óseo maduro.

Cuando se observa el porcentaje de decremento de los Marcadores de Formación: Osteocalcina (OC, ng/ml), Fosfatasa Alcalina Ósea (BAP, U/I) y Propeptido Carboxi-terminal del Colágeno tipo I (CICP, ng/ml), en relación a la edad (Fig. 34a) y al tiempo transcurrido de post-menopausia (Fig. 34b), se aprecia que el mayor decremento corresponde a CICP. En relación a la Edad, la dinámica de decremento de estos marcadores es directamente proporcional y casi de forma paralela (Fig. 34a); en cambio, en relación al Tiempo de post-menopausia (Fig. 34b), OC solo disminuye a partir del intervalo de 5-6 años y CICP lo hace desde el inicio hasta el intervalo de 11-12 años, incrementándose después. El decremento de BAP es leve pero sostenido en ambos casos.

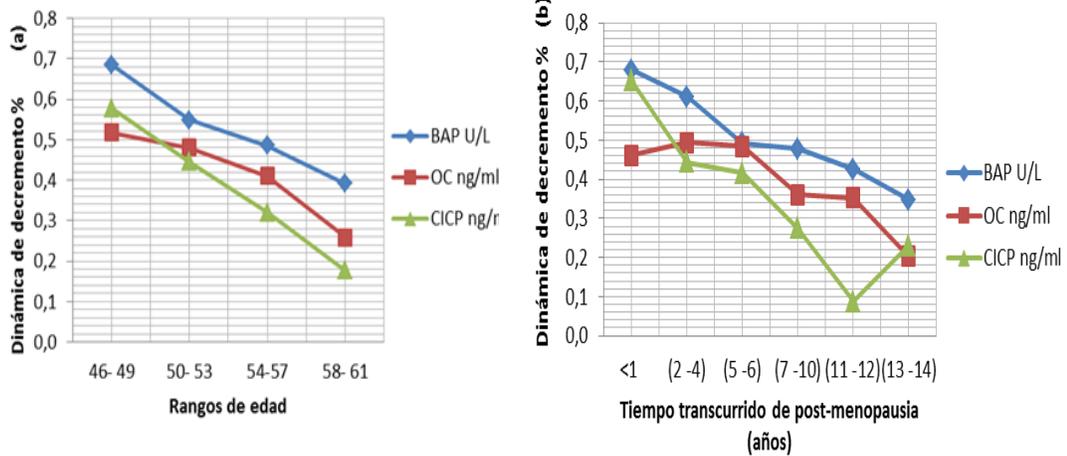


FIGURA 34. Porcentaje de la dinámica de decremento de los Marcadores de Formación ósea según Edad (34a) y según el Tiempo transcurrido de post-menopausia (34b). El porcentaje fue obtenido en referencia al promedio de los Marcadores de Formación de seis mujeres control en edad fértil (decremento cero).

En cuanto al decremento paralelo de los marcadores de formación, este dependería directamente del déficit estrogénico, por esta razón se observa una abrupta caída de los mismos respecto al tiempo de post-menopausia. Todos estos procesos metabólicos, que también fueron representados en las gráficas de regresión lineal, serán detallados a cabalidad en el capítulo de discusión de este trabajo.

Para evaluar mejor la relación directamente proporcional entre los marcadores óseos, la edad y el tiempo de post-menopausia, se determinó el coeficiente “*r*” mediante correlaciones bivariadas; lo cual permitió evaluar el grado de relación existente entre los Marcadores de Remodelado óseo, la Edad y el Tiempo de post-menopausia a nivel de población estudiada. Todas las correlaciones se muestran en la Tabla 18. Se observa que existe una correlación importante y estadísticamente significativa con los Marcadores de Formación, tanto en relación a la Edad y como con el Tiempo de post-menopausia. En referencia a los Marcadores de Resorción, se aprecia claramente una alta correlación entre NTx y PYD, con la Edad ($r = 0.7$), ($r = 0.6$) y con el Tiempo de post-menopausia ($r = 0.6$), ($r = 0.5$) respectivamente; siendo estos resultados estadísticamente

significativos ($p \leq 0.01$). TRAP, muestra una muy leve tendencia con la Edad y ninguna correlación con el Tiempo de post-menopausia

No obstante que la Tabla 18 muestra una significancia estadística importante; cuando se observa el conjunto de datos de la gráfica de regresión lineal es posible apreciar cierto grado de dispersión de los datos especialmente en algunas regresiones.

TABLA 18. Correlación entre Marcadores de Remodelado óseo vs Edad y Tiempo de Post-menopausia.

MARCADORES OSEOS	EDAD		TIEMPO- POSTMENOPAUSIA	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
FORMACION				
BAP	-0,5	0,000**	-0,5	0,000**
OC	-0,4	0,001**	-0,4	0,003**
CICP	-0,4	0,001**	-0,4	0,000**
RESORCION				
TRAP	0,2	0,093	0,04	0,792
NTX	0,7	0,000**	0,6	0,000**
PYD	0,6	0,000**	0,5	0,000**

BAP = Fosfatasa Alcalina Ósea (U/L), OC = Osteocalcina (ng/ml), CICP = Propeptido Carboxi-Terminal del Colágeno tipo I (ng/ml), TRAP = Fosfatasa Acida Tartrato Resistente (U/L), NTx = Telopéptido Amino-terminal del Colágeno tipo I (nM ECO), PYD = Piridinolinas (nmol/l).

‘*r*’ coeficiente de Pearson

‘*p*’ nivel de significancia

*La correlación es significativa a nivel 0,05

**La correlación es significativa a nivel 0,01

Es así, que en el caso del Marcador de Formación CICP se observa gran dispersión en la que un número significativo de casos se encuentra muy por debajo del valor normal (19 a 69 ng/ml) y se distribuye de manera homogénea (línea punteada) entre los 46 a 60 años de edad sin ninguna tendencia. Donde no obstante la edad de las mujeres post-menopáusicas, estas ya presentaron niveles bajos de este marcador de formación (Fig. 35a). Lo cual sugiere que tanto la edad como el tiempo de post-menopausia no serían los únicos factores determinantes de pérdida de masa ósea.

Pero aun así, la tendencia es en todos los casos evidente, excepto en el caso de TRAP (Fig. 35c), en el que se advierte la existencia de dos puntos que se alejan claramente del conjunto de datos y promueven la tendencia de la pendiente; sin estos dos puntos se esperaría la inexistencia de la correlación ($r = 0$) tal como se aprecia en la Figura 35d en la que se excluyeron dichos datos. Este hecho indicaría que este marcador al ser una enzima biológicamente constante dependiente de su sustrato no se incrementa ni con la edad ni con el tiempo post-menopáusico.

Así mismo, para evaluar mejor los cambios en la población en estudio, se grafican los datos dispersos de las mujeres en edad fértil; donde se observa que este grupo, por presentar niveles de TRAP y CICP dentro de los rangos de referencia se aleja notablemente del grupo de mujeres post-menopáusicas.

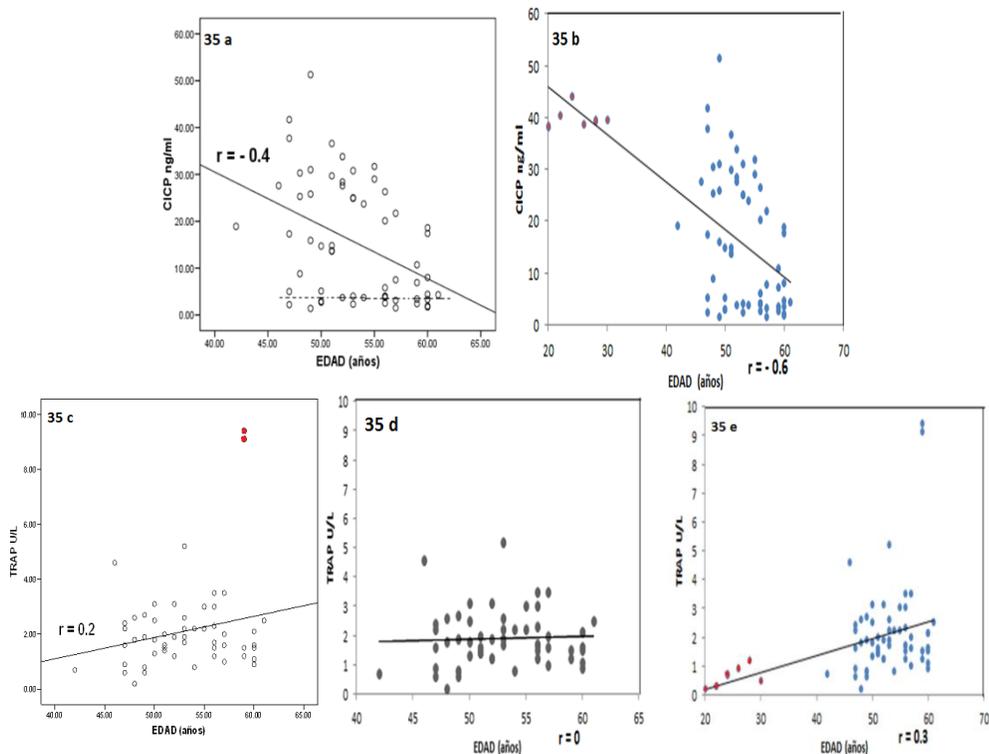


FIGURA 35. Regresión lineal entre dos Marcadores de Remodelado oseo (CICP y TRAP) con la Edad en la población en estudio (Figs. 35a y 35c). CICP vs Edad (Fig. 35a), se resaltan los casos que tienen niveles bajos de este marcador y no varían con la edad (línea punteada). TRAP vs Edad (Fig. 35d), sin los dos datos extremos (datos en color rojo). CICP y TRAP vs Edad (Figs. 35b y 35e) en la población en estudio y en las mujeres en edad fértil (datos dispersos en rojo)

La dispersión en la nube de datos con respecto a la pendiente, ocurre de manera más marcada en las gráficas de regresión obtenidas con el Tiempo de post-menopausia; particularmente en los Marcadores de Formación donde las mujeres del grupo de estudio con valores normales de los mismos presentaban un Tiempo transcurrido de post-menopausia considerable de 6 años o 72 meses (Fig. 36a). Por otro lado, valores de los Marcadores de Resorción van desde la normalidad hasta el incremento muy por encima del rango de referencia al inicio de la post-menopausia (Fig. 36c). Sin embargo, valores de CACP y PYD normales a pesar del largo tiempo de post-menopausia, son pocos, lo cual se constata con el grupo de mujeres en Edad fértil (dato en rojo), representadas por el promedio \pm 1DS de los Marcadores Bioquímicos óseos

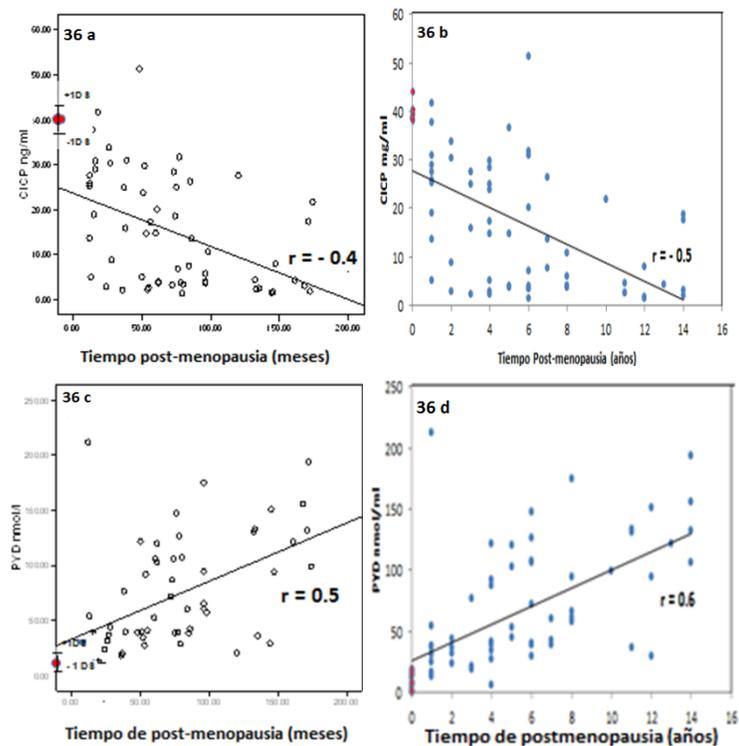


FIGURA 36. Regression lineal entre dos Marcadores Bioquímicos de Remodelado óseo (CACP Y PYD) y el Tiempo transcurrido de post-menopausia en la población en estudio y el promedio de CACP \pm 1DS y PYD \pm 1DS (Figs. 36a y 36c) de las mujeres en edad fértil (dato en rojo), ubicadas en tiempo “cero” del Tiempo de post-menopausia. Los datos dispersos de las mujeres en edad fértil (Figs. 36b y 36d) se ubican en tiempo “cero” de Post-menopausia (datos en rojo).

Se observan también los datos dispersos de las mismas en Figuras 36b y 36d, representados en color rojo, las cuales se ubicaron en el tiempo cero de post-menopausia, las mismas no excretan cantidades significativas de PYD en orina como sucede en la post-menopausia, donde se incrementa su excreción por un aumento de sitios de resorción especialmente a mayor edad y tiempo de post-menopausia, principalmente por la disminución de estrógenos, lo cual induce a un desbalance en el remodelado óseo.

Al encontrarse correlaciones estadísticamente significativas de los Marcadores Bioquímicos de Remodelado óseo respecto a la Edad y Tiempo de post-menopausia, se analizó también la relación entre estas variables y la DMO.

TABLA 19. Correlaciones entre las DMO's (columna, cuellos femorales izquierdo y derecho) con la Edad y Tiempo de post-menopausia.

DMO	EDAD		TIEMPO- POSTMENOPAUSIA	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
COLUMNA	-0,4	0,001**	-0,4	0,002**
FEMORAL- IZQUIRDO	-0,4	0,000**	-0,4	0,002**
FEMORAL- DERECHO	-0,5	0,000**	-0,4	0,001**

DMO: Densitometría Ósea

“*r*” coeficiente de correlación de Pearson

“*p*” nivel de significancia

**La correlación es significativa a nivel 0,01

La Tabla 19 muestra el coeficiente “*r*”, y se aprecian correlaciones significativas con la DMO de los tres sitios (columna, femorales derecho/izquierdo). Sin embargo, el coeficiente “*r*” es inferior respecto a las correlaciones con los Marcadores Bioquímicos de Remodelado óseo, tanto con la Edad como con el Tiempo de post-menopausia (Tabla 14).

Para evaluar el decremento de la densidad ósea, el promedio de las DMO's en columna y cuellos femorales izquierdo y derecho, fueron graficados en función a la Edad (Fig. 37 a) y el Tiempo de Post-menopausia (Fig. 37 b). En ambas gráficas, se observa un decremento directamente proporcional, hasta el rango de 50-53 años en el caso de la Edad y hasta los 5 a 6 años de Tiempo de post-menopausia; a partir de los cuales se observa una meseta hasta los 54 a 57 años de edad y hasta los 7 a 10 años de Tiempo post-menopausico, donde no existe decremento de la densidad ósea.; después del cual esta continua disminuyendo.

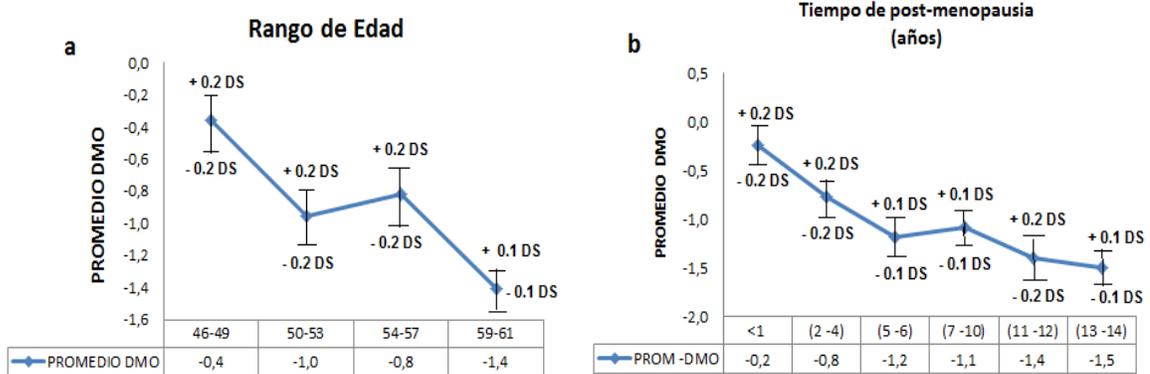


FIGURA 37. Promedio de las DMO's (columna, femorales izquierdo y derecho) y Desviación Estándar según Edad (37a) y según el Tiempo transcurrido de post-menopausia (37b).

La evaluación de la disminución de la masa ósea, se ve restringida al ser medida solamente por DMO en relación a la edad y tiempo de post-menopausia, por presentar mesetas en el decremento que no reflejan completamente la actividad metabólica de remodelado óseo, por lo que los marcadores bioquímicos reflejarían mejor esta dinámica, tal como se detallará en la discusión.

Relación entre el Perfil Lipídico y los Niveles de Marcadores de Remodelado Óseo.

Como se describió en capítulos previos, diversos estudios muestran la existencia de elementos comunes involucrados en el proceso de remodelación ósea y en el metabolismo de lípidos. La presencia de dichos elementos comunes, orienta a pensar en

la posibilidad de que ambos procesos puedan expresarse a nivel clínico en forma de una correlación entre la magnitud de los marcadores de ambos metabolismos. Para evaluar esta asociación se realizaron gráficas de regresión lineal entre los valores de Colesterol Total, Triglicéridos, HDL-col, LDL-col y el Índice Aterogénico en suero con los Marcadores Bioquímicos y densitométricos óseos en mujeres post-menopáusicas.

Entre los marcadores de Formación Osea y colesterol total; se observa gran dispersión de los puntos respecto a la pendiente (Fig. 38a, 38b y 38c). En cuanto a los marcadores de resorción, TRAP presenta rasgos particulares ya que una gran parte de los datos se concentran en las inmediaciones de la línea de tendencia, y dos de ellos quedan bastante alejados de la pendiente (datos en negro) (Fig. 38d). Si se practicara la regresión sin estos datos, no existe correlación entre estas variables (Fig.39a).

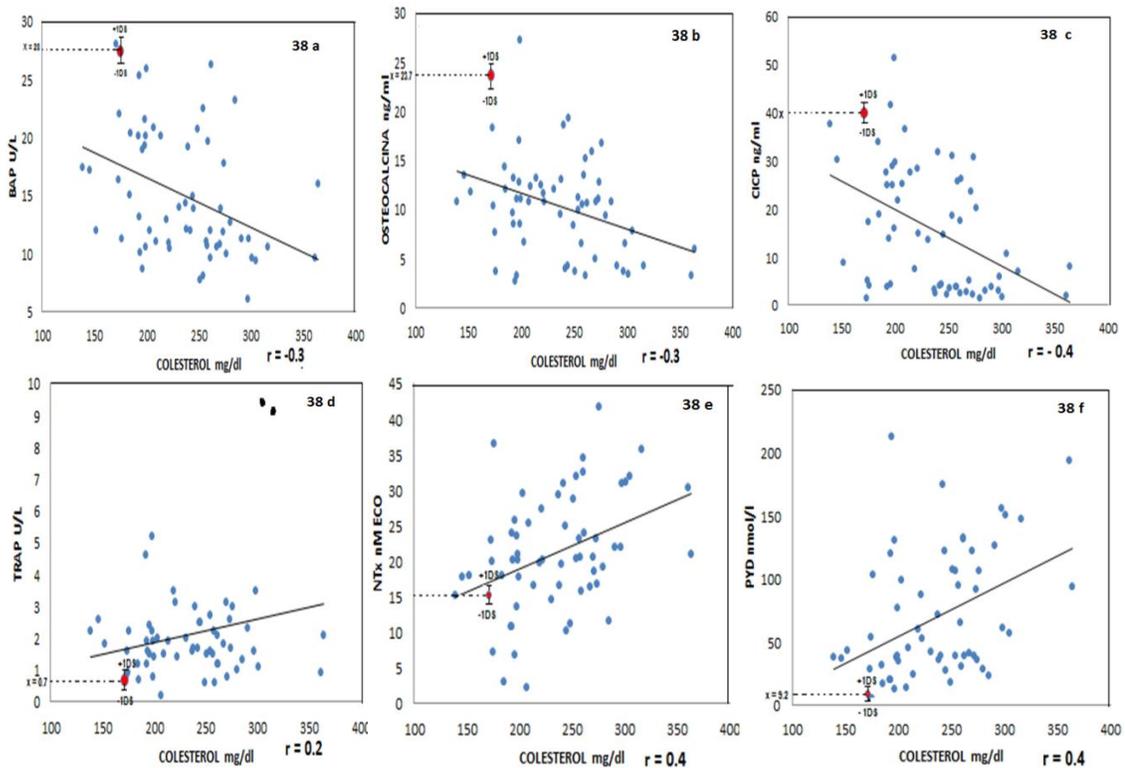


FIGURA 38. Regresión lineal entre el Colesterol total y los marcadores bioquímicos de remodelado óseo en la población en estudio y el promedio de los Marcadores de Remodelado Óseo \pm 1DS, obtenido de los valores de las mujeres en edad fértil (dato en rojo), ubicadas en el promedio del Colesterol total (Fig. 40a – 40f)

Por el contrario, NTx y PYD se incrementan de manera leve y directamente proporcional al incremento de colesterol con un grado de dispersión moderado (Fig. 38e y 38f)

No existe una correlación clara entre el colesterol y los marcadores de formación ósea, por lo que el colesterol total no estaría relacionado y no intervendría directamente en el proceso de formación ósea.

En cuanto a los marcadores de resorción, se esperaría un mayor grado de correlación entre estos y el colesterol total, ya que este según bibliografía interviene directamente tanto en la progresión de la osteoporosis como en la calcificación de las lesiones de la pared vascular. Sin embargo, según las gráficas de regresión lineal mostradas anteriormente, el colesterol por si solo no influiría en el incremento de la resorción; por el contrario los metabolitos de la enzima Hidroximetil glutaril coenzima A reductasa (HMG-CoA-reductasa) que regula la síntesis de colesterol son los que estarían directamente implicados en el aumento de los osteoclastos y por lo tanto en el incremento de su acción resorptiva.

Para evaluar mejor los cambios en la población en estudio, se incluyó en las gráficas de regresión un grupo de mujeres en edad fértil, representadas por el promedio del Colesterol y de cada Marcador Oseo \pm 1DS (Figs. 38a – 38f); lo cual permitió observar que en este grupo, los Marcadores de Formación, se encuentran muy por encima de los de las mujeres post-menopáusicas (Figs. 38a, 38b, 38c). Lo contrario se observa en los niveles de los Marcadores de Resorción, los cuales se encuentran por debajo la mayoría de las mujeres post-menopáusicas (Figs. 38d, 38e, 38f), con valores normales de colesterol en todos los casos. Cabe destacar el caso de NTx (Fig. 38e), donde se observa que algunas mujeres del grupo post-menopausico, presentan valores de colesterol entre normales e incrementados, con niveles de NTx por debajo del de las mujeres en edad fértil.

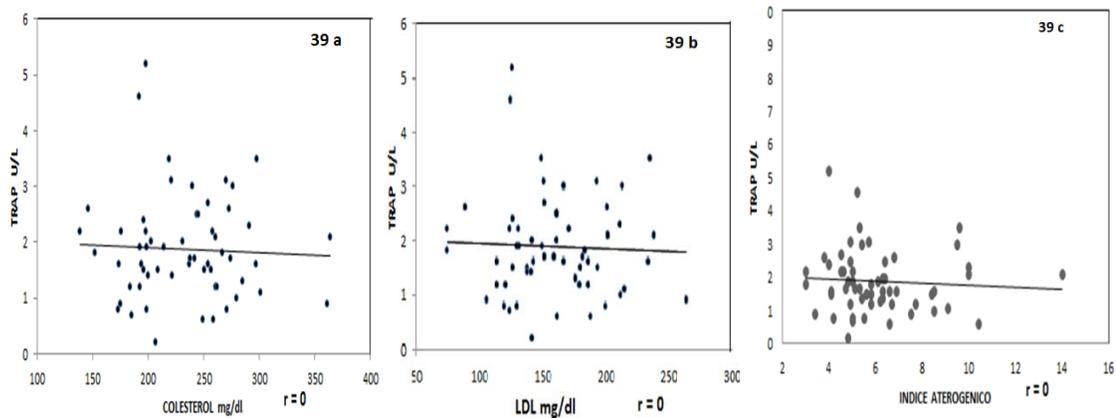


FIGURA 39. TRAP vs Colesterol (Fig. 39a). TRAP vs LDL (Fig.39b). TRAP vs Indice aterogénico, sin los dos datos extremos. (Fig.39c).

Con el incremento de la fracción LDL-col, los marcadores de Formación (BAP y OC), muestra una clara disminución (Fig. 40a y 40b), pero la dispersión de los datos está más relacionada con ciertos casos en los que el valor de estos marcadores se encuentra en el límite superior del valor normal, con niveles de LDL-col dentro de la normalidad. Por el contrario en la Figura. 42c, la dispersión se observa principalmente porque existe una agrupación de casos por debajo de la pendiente (línea punteada) que presentan niveles bajos de CICP, pero niveles normales y algunos casos con niveles altos de LDL-col. Por otro lado, se observa en la misma gráfica otro reducido grupo de casos por encima de la pendiente que presentan niveles normales de CIPC y altos de LDL-col, dando lugar a un gráfico con una nube de datos más disperso.

En cuanto a los marcadores de resorción, esta dispersión se debe a ciertos puntos que se alejan de la pendiente, los cuales son solo algunos casos que refieren un valor de LDL-colesterol normal, pero con un incremento tanto de NTx como de PYD (Fig. 40e y 40f).

En el caso de TRAP, se ve un agrupamiento de la mayoría de los puntos en la parte inferior del gráfico donde solo dos de ellos (representados en negro) se alejan claramente de la pendiente (Fig 40d); sin los cuales no existe ningún tipo de correlación ($r = 0$) (Fig. 39b)

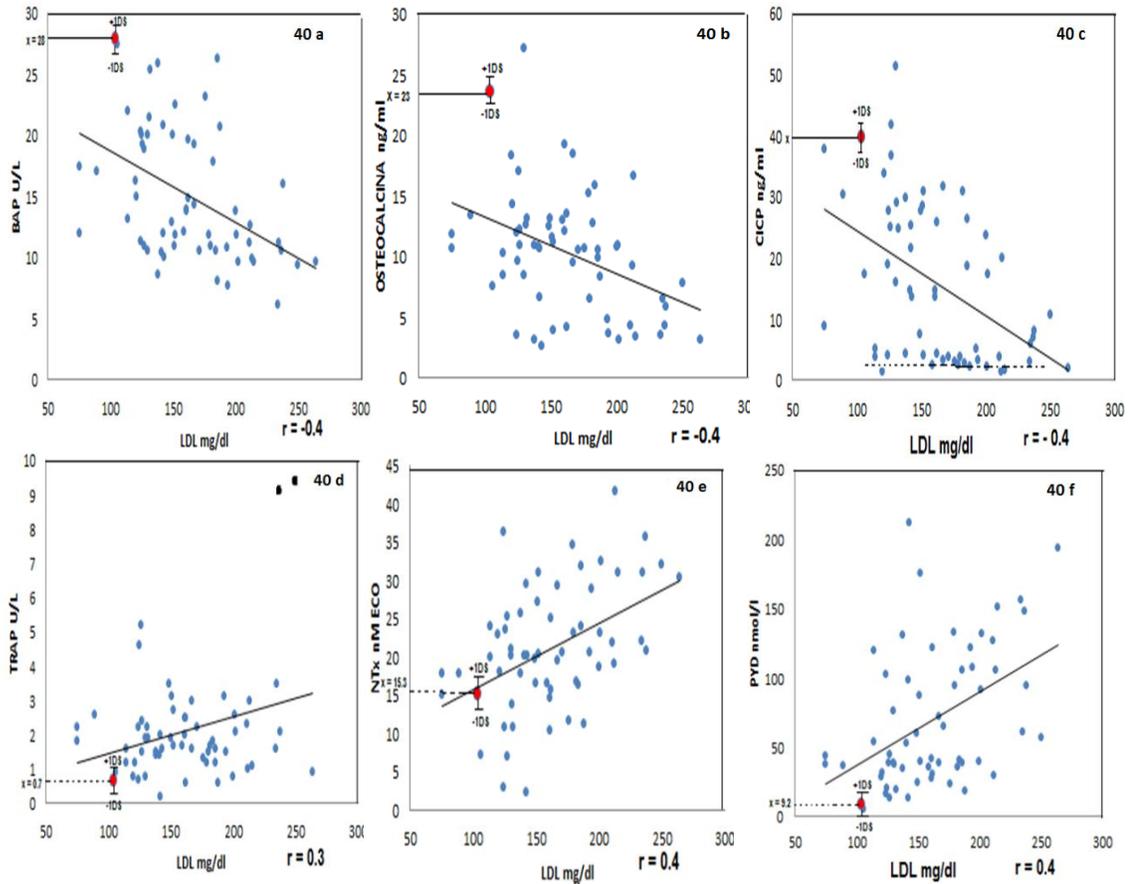


FIGURA 40. Regression lineal entre el LDL-colesterol y los Marcadores Bioquímicos de remodelado óseo en la población en estudio y el promedio \pm 1DS de los marcadores de remodelado óseo, a partir de mujeres en edad fértil (dato en rojo) ubicadas en el promedio del LDL-col (Fig. 40a -40f)

De acuerdo a lo expuesto anteriormente, la fracción LDL-colesterol esta involucrada de manera activa tanto en el metabolismo óseo como en el lipídico, por lo que se observa un coeficiente de correlación aceptable entre esta lipoproteína y los marcadores óseos. En las células endoteliales vasculares esta lipoproteína junto con la OC (osteocalcina), provoca inflamación en la pared vascular, liberando sustancias reactivas de oxígeno, mientras que en el tejido óseo, potencia la actividad de los osteoclastos, incrementando la resorción ósea, de esta manera se observa un elevado coeficiente de correlación de esta fracción con todos los marcadores bioquímicos óseos.

El promedio \pm 1DS de los Marcadores de Remodelado Oseo en las mujeres en edad fértil también se representaron en estas gráficas (Figs. 40a– 40f). Donde se ve claramente que los Marcadores Formación y LDL-colesterol de este grupo, se encuentran dentro de su respectivo valor de referencia, separándose del grupo de estudio (Fig. 40a -40c). En los Marcadores de Resorción, destaca NTx donde, ciertos casos de mujeres post-menopáusicas presentan valores normales de LDL y niveles de NTx muy por debajo del valor que presentan las mujeres en edad fértil (Fig. 40e).

Una correlacion positiva entre el Índice Aterogénico y los Marcadores de Resorción Osea, se observa en la Fig. 41; con una notable dispersión de puntos con respecto a la pendiente. No obstante, la correlacion es significativa, especialmente en el caso de los marcadores de resorcion NTx y PYD (Fig. 41b y 41c) es importante notar que aunque existen pocos datos alejados de la pendiente, estos mismos al encontrarse en los extremos de la nube de datos, tienden a acomodar la pendiente y darle una correlacion que no sería en si la correcta, debido precisamente a la dispersion de dichos datos. Cabe destacar el caso la TRAP frente al Índice aterogénico (Fig.41a), donde se aprecia dos puntos alejados de la pendiente (datos representados negro), los cuales representan los casos en los que existen niveles elevados de TRAP con un Índice Aterogénico muy por encima del rango deseable; siendo estos dos casos los que elevan el grado de correlacion entre estas variables, sin las cuales se observaria una pendiente horizontal, sin ningun grado de correlación (Fig 39c).

Respecto a las mujeres en edad fértil (dato en rojo) (Figs. 41a – 41c), estas presentan un Índice Aterogénico deseable (menor a 4.5) con niveles normales de los Marcadores de Resorción TRAP y NTx (Figs. 41a y 41b) y niveles bajos de PYD (Fig. 41c) donde, se aprecia claramente la separación del grupo post-menopáusico del grupo en edad fértil. Sin embargo, se observa ciertos casos en los que las mujeres post-menopáusicas presentaron niveles normales de TRAP y niveles de NTx por debajo del grupo de

mujeres en edad fértil, con un Índice Aterogénico variable desde valores deseables hasta incrementados.

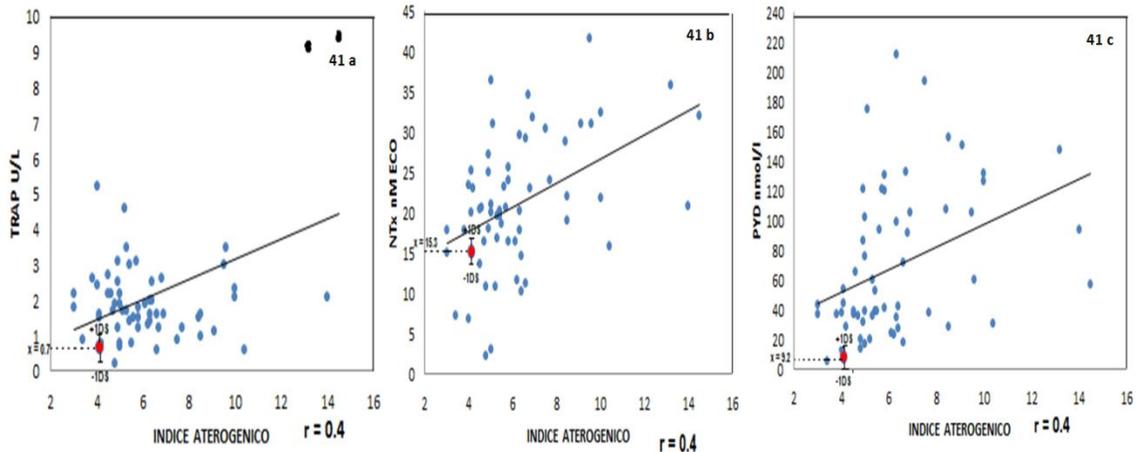


FIGURA 41. Regresión lineal entre el Índice Aterogénico y Marcadores Bioquímicos de Resorción ósea en la población en estudio y el promedio de los Marcadores de Remodelado Oseo \pm 1DS en mujeres en edad fértil (datos representados en rojo) ubicadas en el promedio del Índice aterogénico (Fig 41a, 41c y 41d)

Se esperaría un coeficiente de correlación más elevado entre los marcadores de resorción y el Índice aterogénico y el cual no se observa, ya que este último como tal no sería la expresión de un efecto directo sobre el metabolismo óseo, sino que dependería de sus componentes individuales; colesterol y HDL-colesterol, los cuales están involucrados específicamente con la actividad de los osteoclastos en el tejido óseo. Si bien este es un factor importante en el proceso de resorción, lo es mucho más la fracción LDL-colesterol, al estar presente de manera activa en ambos procesos metabólicos.

Las gráficas anteriores se aprecian de manera general en la Tabla 20, la cual nos permite correlacionar los datos y apreciar la significancia estadística (p). Se observa que solamente el Colesterol total, la fracción LDL-colesterol y el Índice aterogénico muestran datos estadísticamente significativos en cuanto a su relación con los marcadores de remodelado óseo.

Existe, una leve correlación negativa entre los Marcadores Óseos de Formación con el Colesterol total, el LDL-col y el Índice aterogénico; con valores estadísticamente significativos. Estos mismos indicadores del metabolismo lipídico tienen una correlación positiva con los Marcadores Óseos de Resorción, excepto HDL-col, el cual se observa una correlación positiva. Respecto a los Triglicéridos, el coeficiente de correlación es despreciable tanto con los marcadores de formación como los de resorción.

TABLA 20. Correlación entre Marcadores de Remodelado óseo y Perfil Lipídico en la población de estudio.

PERFIL LIPIDICO	COLESTEROL		LDL-COL		INDICE ATEROGENICO		HDL-COL		TRIGLICERIDOS	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
MARCADORES DE FORMACION										
BAP	-0,3	0,006**	-0,4	0,001**	-0,3	0,010**	0,2	0,1	-0,06	0,6
OC	-0,3	0,014*	-0,4	0,005**	-0,3	0,006**	0,2	0,05	-0,1	0,2
CICP	-0,4	0,001**	-0,4	0,000**	-0,3	0,016*	0,1	0,23	-0,2	0,09
MARCADORES DE RESORCION										
TRAP	0,2	0,1	0,3	0,038*	0,4	0,001**	-0,3	0,044	0,1	0,6
NTX	0,4	0,003**	0,4	0,000*	0,4	0,000**	-0,3	0,006**	0,2	0,2
PYD	0,4	0,001**	0,4	0,000*	0,4	0,004**	-0,3	0,3	0,2	0,2

BAP = Fosfatasa Alcalina Ósea (U/L), OC = Osteocalcina (ng/ml), CICP = Propeptido Carboxi-terminal del Colágeno tipo I (ng/ml), TRAP = Fosfatasa Acida Tartrato Resistente (U/L), NTx = Telopéptido Amino-terminal del Colágeno tipo I (nM ECO), PYD = Piridinolinas (nmol/l).

“*r*” coeficiente de Pearson

“*p*” nivel de significancia

*La correlacion es significativa a nivel 0,05

**La correlacion es significativa a nivel 0,01

Los marcadores de resorción NTx y PYD son los que muestran una mejor correlación ($r = 0.4$) y altamente significativa ($p \leq 0.01$) con el colesterol total, la fracción LDL-colesterol y el índice aterogénico, lo cual no ocurre con TRAP, que solo muestra correlación importante ($r = 0.4$) y estadísticamente significativa con el Índice aterogénico.

Como se mencionó anteriormente, TRAP al ser una enzima específica del osteoclasto, que depende directamente del colesterol para su supervivencia, presenta un coeficiente

de correlación bajo con el colesterol total en relación a los demás marcadores de resorción. Hecho que se explica porque, la diferenciación de estas células dependería de recursos externos como las lipoproteínas (LDL-colesterol) para introducir colesterol exógeno a las mismas y no así el colesterol como tal. Así mismo, la remoción del colesterol de estas células, mediante el HDL-colesterol, provocaría su apoptosis. De ahí que el coeficiente de correlación entre TRAP y las lipoproteínas HDL y LDL-colesterol, es más elevado.

Otra ruta importante involucrada en ambos procesos es el sistema de regulación OPG/RANK/RANKL característica de la regulación metabólica ósea, el cual interactúa a la par con las moléculas del perfil lipídico especialmente colesterol total, HDL-colesterol y LDL-colesterol, ejerciendo efectos contrapuestos tanto en el tejido óseo como en la pared arterial. Los eventos anteriormente mencionados, así como las rutas metabólicas comunes involucradas tanto en el tejido óseo como en la pared vascular, se describen detalladamente en la discusión del presente trabajo.

De la misma manera que en los Marcadores Bioquímicos Óseos, la DMO en columna, cuellos femorales izquierdo y derecho fueron examinados en su correlación con el perfil lipídico (Tabla 21); los coeficientes '*r*' son menores comparados con los marcadores óseos (Tabla 20). Solamente el colesterol total y la fracción LDL-col presentan cierto grado de correlación con la DMO en columna y femorales izquierdo y derecho. El Índice aterogénico solo presenta correlación con el cuello femoral derecho. Todos los datos anteriormente mencionados son estadísticamente significativos ($p < 0.05$).

Se observa claramente correlaciones menos ostensibles entre los parámetros del perfil lipídico y las DMO's en los diferentes sitios, lo cual no refleja la actividad dinámica entre ambos procesos, solamente la relación estática de algunos sitios del esqueleto.

TABLA 21. Correlación entre el Perfil Lipídico y las DMO's de columna y cuellos femorales derecho e izquierdo.

	DMO-COLUMNA		DMO-FEMORAL IZQUIERDO		DMO-FEMORAL DERECHO	
	r	p	r	p	r	p
COLESTEROL	-0,3	0,016*	-0,3	0,034*	-0,3	0,020*
TRIGLICERIDOS	-0,1	0,466	-0,1	0,569	-0,04	0,753
HDL-colesterol	0,03	0,837	0,2	0,247	0,1	0,348
LDL-colesterol	-0,3	0,011*	-0,3	0,014*	-0,4	0,006**
INDICE ATEROGENICO	-0,2	0,104	-0,2	0,058	-0,3	0,05*

“r” coeficiente de Pearson

“p” nivel de significancia

*La correlacion es significativa a nivel 0,05

**La correlacion es significativa a nivel 0,01

Relación entre Marcadores Bioquímicos de Remodelado Óseo vs niveles hormonales del Eje gonadal femenino

Se sabe que las hormonas sexuales están involucradas en la regulación del proceso de aposición/resorción, a través de la activación de diversos moduladores moleculares que modifican el funcionamiento de los osteoclastos y osteocitos. En este sentido, se exploró la relación entre ambos procesos, determinando los niveles hormonales del eje gonadal para ser correlacionados con los Marcadores Bioquímicos óseos y Densitométricos.

Las características generales, de la relación entre estas variables se muestran en la Tabla 22; donde se puede observar que solamente el Marcador de Formación BAP, presenta un coeficiente de correlación positivo con una magnitud a ser considerada ($r = 0.3$) y estadísticamente significativo con el estradiol ($p < 0.05$).

Igualmente, los Marcadores de Resorción ósea, donde solamente NTx, presentó un coeficiente de correlación negativo importante ($r = -0.5$) y PYD una correlación leve ($r = -0.3$) con Estradiol. Con la hormona FSH, se observa una leve correlación ($r = -0.3$) con el marcador de resorción NTx.

TABLA 22. Análisis de correlación entre Marcadores de Remodelado Óseo y Hormonas del Eje gonadal femenino en la población de estudio.

MARCADORES OSEOS	ESTRADIOL		LH		FSH	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
Marcadores de Formación						
BAP	0,3	0,032*	0,04	0,043	-0,2	0,1
OC	0,1	0,366	0	0,063	0,09	0,5
CICP	0,2	0,2	0,5	0,03	0,1	0,38
Marcadores de Resorción						
TRAP	-0,2	0,163	0,3	0,3	0,1	0,145
NTX	-0,5	0,000**	0,2	0,019	0,3	0,027*
PYD	-0,3	0,013*	-0,05	-0,048	0,2	0,2

BAP = Fosfatasa Alcalina Ósea (U/L), OC = Osteocalcina (ng/ml), CICP = Propeptido Carboxi-terminal del Colágeno tipo I (ng/ml), TRAP = Fosfatasa Acida Tartrato Resistente (U/L), NTx = Telopéptido Amino-Terminal del Colágeno tipo I (nM ECO), PYD= Piridinolininas (nmol/l).

‘*r*’ coeficiente de Pearson

‘*p*’ nivel de significancia

*La correlacion es significativa a nivel 0,05

**La correlacion es significativa a nivel 0,0

No obstante la significancia de las correlaciones presentadas en la Tabla 22, en las gráficas de regresión, se observa dispersión con un numero de datos importante que no se ajustan a la pendiente (Fig. 42). Tal es el caso del marcador de formación BAP (Fig. 42a) y los marcadores de resorción NTx y PYD (Figs. 42c y 42e), siendo estos los casos mas significativos. Para evaluar mejor los cambios hormonales y su influencia sobre el metabolismo óseo, se incluyeron mujeres en edad fértil a las gráficas de regresión (Figs. 42b, 42d y 42f); en las cuales se observa claramente, que este grupo se aleja del grupo post-menopausico, el cual presenta niveles hormonales menores en relacion a las mujeres en edad fertil, con disminucíon de BAP (Fig. 42b) y el incremento de NTx (Fig. 42d) y PYD (Fig. 42f). Destacan casos de mujeres post-menopausicas con valores de NTx por debajo del grupo de las mujeres en edad fértil (Fig. 42d).

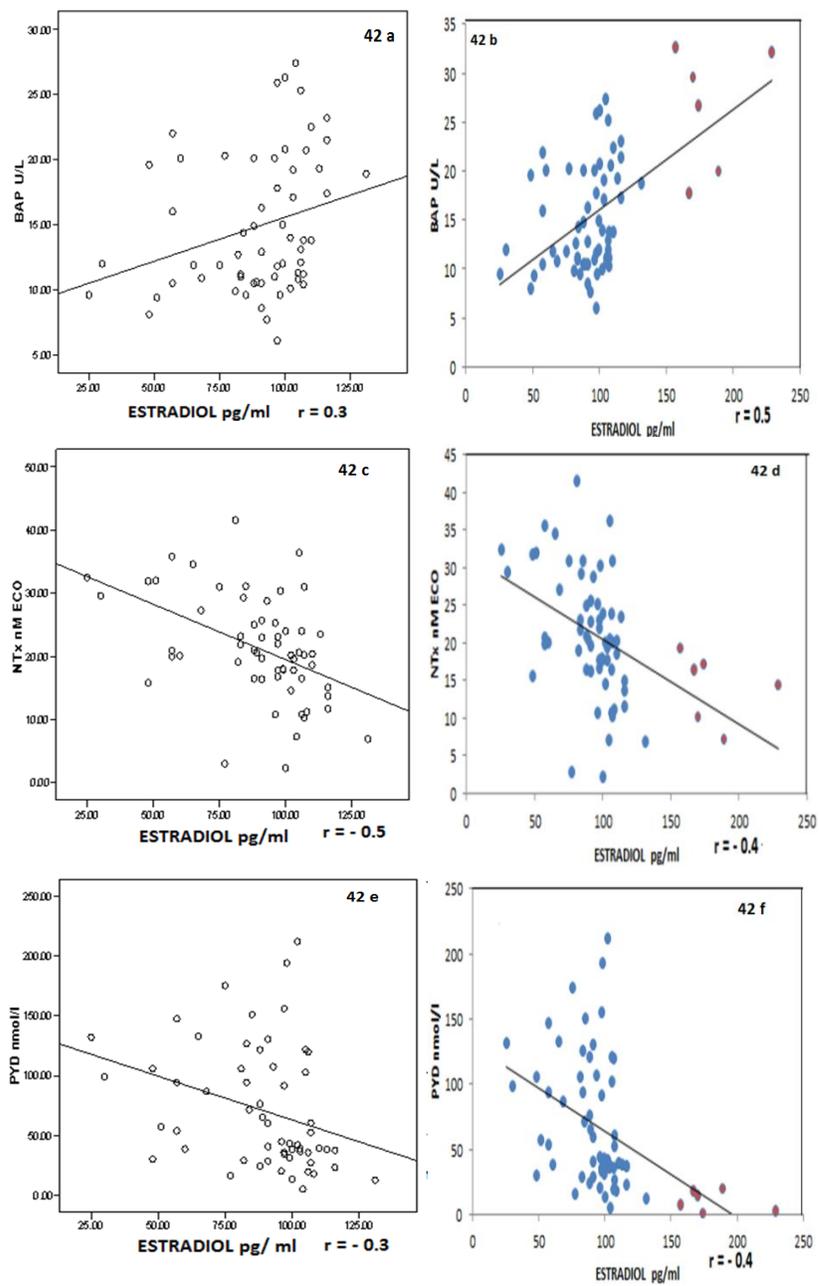


FIGURA 42. Regresion lineal entre el Estradiol y Marcadores Bioquimicos de Remodelado óseo en la poblacion en estudio (Fig 42 a, 42 c, 42 e) y el promedio de los Marcadores de Remodelado Oseo \pm 1DS de mujeres en edad fértil (datos representados en rojo) ubicadas en el promedio de Estradiol (Fig 42b, 42d, 42f).

De acuerdo a los resultados, solo se encontró un coeficiente de correlación positivo aceptable entre el estradiol y BAP, lo cual se debe a la acción directa y específica que ejercen los estrógenos sobre los osteoblastos, reflejados en su actividad por BAP. Además, se observa una estrecha correlación negativa entre el estradiol y NTx y una leve correlación negativa con PYD. Esto indicaría que otros factores aparte de los estrógenos, como ser las hormonas sistémicas (calcitonina y hormona paratiroidea), el sistema RANK/RANKL mediado por citoquinas y factores de crecimiento que no fueron determinados en este estudio y que actuarían en respuesta a la estimulación estrogénica, jugarían un rol importante en los cambios complejos que ocurren en el tejido óseo.

Debido a la dispersión de los datos, mostrados en las gráficas de regresión lineal y para analizar mejor la no muy elevada correlación entre Estradiol y los Marcadores de remodelado Oseo, describimos las características de las correlaciones de las Hormonas (Tabla 23), donde el Estradiol y FSH presentaron un leve coeficiente de correlación ($r = -0.3$) ($r = 0.3$) respectivamente con la Edad y con el Tiempo de post-menopausia, presentando este último una correlación importante con Estradiol ($r = -0.4$)

TABLA 23. Correlacion entre Hormonas del eje gonadal femenino con la Edad y Tiempo de post-menopausia.

HORMONAS	EDAD		TIEMPO- POSTMENOPAUSIA	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
ESTRADIOL	-0,3	0,001**	-0,4	0,002**
LH	-0,1	0,000**	-0,02	0,002**
FSH	0,3	0,000**	0,3	0,001**

“*r*” coeficiente de Pearson

“*p*” nivel de significancia

**La correlación es significativa a nivel 0,01

Para observar mejor la variación del Estradiol respecto a la Edad y al Tiempo de post-menopausia, el promedio de las DMO's fueron ajustados en función a intervalos de edad y Tiempo post-menopausico representados en años.

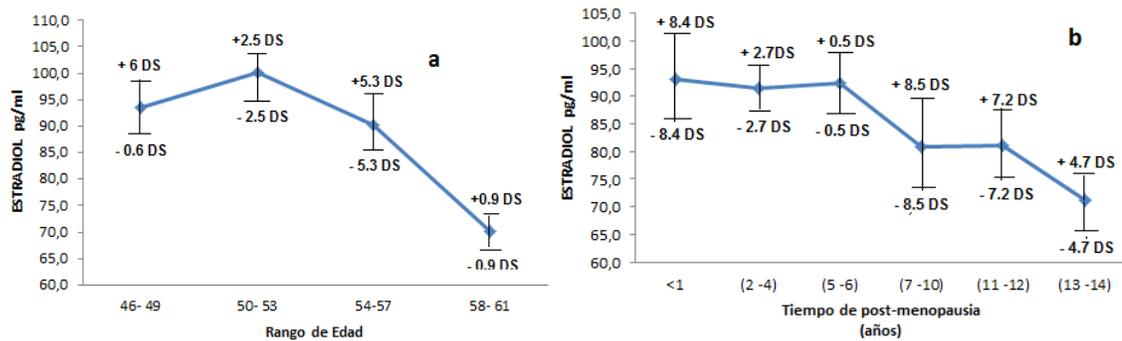


FIGURA 43. Decremento de la concentración de Estradiol según Edad (43a) y según el Tiempo transcurrido de post-menopausia (43b).

El decremento de la concentración de Estradiol es directamente proporcional en ambos casos. Una disminución marcada de esta hormona, se observa a partir del rango de 50 – 53 años de Edad, donde el declive de la concentración es más abrupto. Mientras que el decremento es más bien progresivo cuando nos referimos al Tiempo de post-menopausia, iniciándose de manera clara a partir de los del intervalo de 5-6 años. Se observa que existe cierta variación en el número de casos dentro de cada intervalo, respecto a la Edad y una variación mayor en el Tiempo de post-menopausia; de acuerdo a las Desviaciones Estándar (DS) calculadas a partir del promedio de Estradiol.

XI. DISCUSION

El drástico incremento de la población femenina que se encuentra en la edad post-menopáusica es un hecho reconocido. De este 27% a nivel mundial, actualmente el 21 % cursa con algún trastorno ligado a este estado de cambio hormonal³³. Entre los cambios más relevantes se encuentra la Enfermedad Cardiovascular (ECV) con un 34 % y la Osteoporosis con un 66. %. La frecuencia de ambos de manera simultánea (4%) y la

importancia de este hecho ha sido ya destacada^{61, 120}. La relación entre ambos procesos, está dada porque estos tienen elementos comunes vinculados con la reducción del Estradiol, como génesis de esta correlación. En este sentido, las preguntas importantes sobre este hecho serían: el diagnóstico de ECV en mujeres postmenopáusicas, incluye también el diagnóstico de trastornos en el remodelado óseo?; ambas entidades deben manejarse de manera conjunta?; si se mejora o previene una, también se mejora o previene la otra?; el Índice de riesgo aterogénico es un indicador de osteopenia/osteoporosis?; siendo de elevada importancia esta relación, también es relevante la pregunta: si se observan cambios en el perfil lipídico y no así cambios importantes en la DMO, como se debería proceder?; ante esta posibilidad, queda como alternativa el uso de los Marcadores Bioquímicos óseos como marcadores tempranos?. En el presente trabajo de investigación, se determinó la relación entre los niveles de osteopenia/osteoporosis y el perfil lipídico. Este estudio cobra importancia porque estudios de correlación entre cambios en el perfil lipídico y el perfil óseo medido por Marcadores Bioquímicos, aún no han sido reportados, no obstante que estos ofrecerían mayor precisión y confiabilidad. Por lo tanto, parece de extrema importancia precisar la relación que existe entre el metabolismo lipídico y los trastornos en el remodelado óseo con el nivel clínico.

En primer lugar, corresponde establecer en la población estudiada, las características de la relación entre la medición de los Marcadores Bioquímicos Óseos y la Densitometría ósea. Se conoce de antemano que, al ser la osteoporosis la enfermedad metabólica ósea más frecuente, especialmente en mujeres de edad avanzada, la OMS estableció criterios diagnósticos, en función a los valores de masa ósea obtenidos por DMO, los cuales son hasta ahora los parámetros más utilizados para dicho fin. Sin embargo, este procedimiento proporciona datos que reflejan solamente lo que ocurre en determinados sitios del esqueleto de manera estática, sin considerar al tejido óseo como una unidad dinámica en constante remodelación. Asimismo, es importante tomar en cuenta que los cambios que suceden en el hueso, solo pueden ser observables por este método cuando

ya han ocurrido y no así cuando están ocurriendo, de modo que dichos cambios no pueden ser apreciados en su dinámica. Por esta razón, se han montado procedimientos para detectar cambios en el Remodelado Óseo mediante la cuantificación de cierto tipo de bio-moléculas denominadas Marcadores Bioquímicos de Remodelado Óseo en suero y en orina (PYD), que permiten determinar, en este proceso, la dinámica de aposición/resorción que se lleva a cabo en el conjunto del tejido óseo. En este trabajo, se han efectuado ambos tipos de mediciones: las mediciones densitométricas óseas fueron llevadas a cabo por el método DEXA (*Dual energy X-ray absorptiometry*) en columna y cuellos femorales izquierdo y derecho en 60 mujeres post-menopáusicas, asistentes por primera vez a consulta ginecológica, con cambios climatéricos evidentes que motivaron dicha consulta. Cabe recalcar, que en este estudio no se realizó seguimiento a lo largo del tiempo para ver la variación con la edad; solo se aprovechó la presencia en el grupo de mujeres de diferentes edades y diferentes tiempos de post-menopausia y se hicieron correlaciones poblacionales para observar estas variaciones. De esta manera, se pudo evaluar la posibilidad de detectar pérdida de masa ósea, tanto, mediante la determinación de estos Marcadores Bioquímicos óseos como por Densitometría, y luego establecer la relación entre ambos tipos de determinaciones. Esta correlación, permitió también valorar a los marcadores óseos en relación a la prueba imagenológica de referencia aprobados por la OMS, en la población en estudio.

Para este propósito, estudiamos los niveles de los Marcadores de Remodelado óseo: Fosfatasa Alcalina ósea (BAP), Osteocalcina (OC), Propéptido Carboxilo terminal del Colágeno tipo I (CICP), Fosfatasa Acida Tartrato resistente (TRAP), Telopéptido Amino terminal del Colágeno tipo I (NTx) y Piridinolinas (PYD), cuya génesis y posibilidad de detectarlos ha sido ya descrita la inicio. Las concentraciones detectadas en las mujeres post-menopáusicas mostraron, como se esperaba diferencias significativas con los del grupo de mujeres en edad fértil. Sin embargo, pudo observarse una amplia dispersión en el grupo de estudio; tal variación, tiene sentido si se considera la variabilidad biológica de las mujeres incorporadas en la muestra, la cual se relaciona con la influencia que tienen diversos factores como el tiempo cronológico, el tiempo

hormonal y con otros parámetros biológicos y de conducta que se sabe, tienen incidencia en la dinámica de remodelado óseo. Dichos factores, los cuales se detallarán a lo largo de este capítulo, hacen que existan mujeres postmenopáusicas, desde aquellas que aún no tienen alterados todos sus Marcadores Bioquímicos –con todos sus valores dentro de los niveles normales- hasta las que tienen la mayoría de los mismos francamente alterados. Para estudiar mejor la dispersión mencionada de valores de los Marcadores óseos expresados en las amplias D.S mostradas en la figura correspondiente, se calcularon correlaciones bi-variadas entre los niveles de Marcadores Óseos y los valores de la DMO; se encontró que los Marcadores Bioquímicos de Formación, tienen mayor correlación con la DMO medida en los femorales, -destacando BAP que tiene un coeficiente de correlación más elevado ($r = 0.6$)- respecto a la DMO en columna. Estas diferencias, ya fueron notadas por otros autores como Donaldson C³¹. En el caso de los marcadores de resorción, encontramos que NTx y PYD presentaron una estrecha correlación negativa con columna y femorales, con un coeficiente de correlación elevado: $r = 0.6$ y $r = 0.7$ respectivamente.

Es importante hacer notar que este tipo de correlación, determinada por regresión lineal, incluye tanto los valores que están dentro de los parámetros normales -y varían dentro del rango de normalidad- como los alterados.

La presencia de los marcadores óseos de resorción en niveles altos, principalmente cuando se aprecia osteopenia mediante la DMO, tiene que ver con el hecho de que en la columna como en los femorales predomina el tipo de hueso trabecular que es el que determina más de la mitad de la actividad metabólica del esqueleto, especialmente en la menopausia, y precisamente es en este periodo en el que hay un desbalance en esta actividad metabólica, a expensas de un predominio de la resorción, -representada tanto por NTx como PYD que son productos de la degradación del colágeno tipo I óseo- sobre el proceso de formación ósea. Lo anterior señala la utilidad de los marcadores óseos de resorción, que parecen reflejar de mejor manera incrementos abruptos de la velocidad de pérdida ósea que determinaría un aumento del riesgo de fractura.⁶⁶ Por consiguiente, el deterioro de la micro arquitectura, la perforación de trabéculas, la pérdida de elementos

trabeculares y la reducción en la resistencia por agrandamiento de los espacios de remodelación, son los eventos que se pueden advertir por la presencia de productos del metabolismo óseo en suero y orina (predominando los de resorción) y de manera muy leve en la DMO.

En el estudio EPIDOS en 2005,⁴³ se obtuvieron resultados concordantes con este hecho: el incremento del marcador de resorción ósea PYD en orina, se asociaba más directamente con la DMO y con un aumento del riesgo de fractura de cadera. Estudios similares realizados por Donaldson C,³¹ muestran la asociación de los bio-marcadores óseos de resorción (NTx y CTx) con la densitometría ósea en diferentes localizaciones esqueléticas; con una relación más consistente a nivel del radio distal y calcáneo; en la cadera, la relación era más modesta, mientras que en la columna lumbar fue prácticamente despreciable. Sin embargo, en los resultados hallados en nuestra población, se encontró una elevada correlación de NTx y PYD con las DMO's tanto en columna como en cadera, por lo que destacamos que, al menos en nuestra población, la correlación encontrada respalda que ambos tipos de marcadores serían importantes aunque, NTx y PYD serían los más útiles y reflejarían mejor el proceso de remodelado óseo. También conviene destacar que la diferencia encontrada en este trabajo respecto a lo reportado por Donaldson C³¹, pudiera reflejar diferencias entre las poblaciones examinadas, dadas por peculiaridades como la etnicidad, la dieta y la actividad física. De ser así, se puede postular que en nuestro medio, la DMO en cadera tiene un importante valor, determinado, precisamente, por su elevada correlación con los marcadores bioquímicos, hecho que no ha sido hallado en estudios llevados a cabo en otras poblaciones. Por tanto, de acuerdo con los antecedentes mencionados, se ratifica la capacidad de los marcadores para predecir el riesgo de fractura, ya que brinda información adicional a la DMO. Lo anterior ratifica la idea de que un enfoque combinado, utilizando la DMO y los Marcadores Bioquímicos de Remodelado Óseo aquí sugeridos, podrían mejorar la predicción del riesgo de fractura en mujeres postmenopáusicas.

Por otro lado, al analizar las correlaciones anteriormente mencionadas entre estos marcadores, fue posible observar situaciones que orientan al estudio de las mismas en términos poblacionales. Así, la correlación entre NTx y el promedio de las DMO's (Fig.30), nos permitió observar la existencia de dos poblaciones totalmente diferentes y separadas de manera muy clara por un punto de corte ($\text{NTx} = 20 \text{ nM ECO}$ y DMO promedio de -0.7 DS) presente en la gráfica, a partir del cual ambos grupos se separan y se ubican en el cuadrante superior izquierdo los que tienen valores de NTx por encima de este punto de corte y valores de DMO por debajo de -0.7 DS (osteopenia de leve a severa) y que se constituirían como valores predictores de pérdida drástica de masa ósea en mujeres post-menopáusicas, que incluyen aquellas que presentaron niveles marcadamente elevados de NTx, pero no así una clara disminución de la densidad ósea, con osteopenia leve (-1 a -1.49 DS) a moderada (-1.5 a -1.9 DS).

De igual manera, al correlacionar PYD con el promedio de las DMO's de columna y cuellos femorales derecho e izquierdo, se encontró que la correlación determinaba una curva asintótica (Fig.31a) en la que podía distinguirse una parte con una pendiente negativa con altos niveles de PYD y otra con pendiente cero (PYD bajo y DMO en valores normales). Esto permitió identificar dos poblaciones con correlaciones diferentes para cada una, separadas a partir de un punto de corte ($\text{PYD} = 40 \text{ nmol/ml}$) hallado por la intersección de sus respectivas pendientes (Fig. 31b). De estas, los de niveles altos de PYD sería la población que tendría mayor probabilidad de pérdida rápida de masa ósea por la baja densidad ósea. Estimamos que, el hallazgo de estas poblaciones claramente definidas da lugar a la posibilidad de identificar aquellas mujeres con pérdida rápida de masa ósea después de la menopausia. Estas mujeres son aquellas cuyos datos se ubican por encima de los puntos de corte hallados, con niveles marcadamente elevados tanto de NTx como PYD, pero con densidades óseas con valores de osteopenia leve a moderada. Por tanto este hecho, demostraría que los marcadores bioquímicos óseos serían más útiles en la determinación de la velocidad de pérdida ósea, ofreciendo un mayor poder predictivo los de resorción que los de formación.

Muchos estudios transversales,^{2, 96, 70} indican que la tasa de remodelado óseo valorado por estos marcadores se incrementa después de la menopausia y que el alto remodelado óseo, se sostiene mucho después de la menopausia. Según Melton, et al⁸⁴, la estimación de la tasa de pérdida ósea de un sitio específico del esqueleto usando DEXA, no sería tan eficiente como el uso de los marcadores bioquímicos óseos, ya que los niveles de estos reflejan todo el remodelado óseo; por esto, es razonable pensar, que los marcadores bioquímicos serían más predictivos de lo que ocurre en todo el esqueleto que solamente de los eventos en un sitio que representa una minoría y que, coincidentemente, podían presentar una imagen en la que se detecta un hecho aislado. Esta visión está sustentada por dos estudios prospectivos,^{23, 48} que muestran que el incremento del remodelado óseo determinado por el marcador de resorción PYD es un fuerte predictor de futuras fracturas de cadera independientemente de la DMO en mujeres post-menopáusicas; sin embargo no se puede excluir la posibilidad de que esto tal vez no se aplique de la misma manera en poblaciones, por diferencias de raza, dieta ejercicio, y otros determinantes de tipo cultural mencionados anteriormente.

Por lo anterior, los datos hallados en este estudio, contribuyen a seleccionar a los Marcadores Óseos de Resorción NTx en suero y PYD en orina, como bio-indicadores que permiten identificar pacientes con pérdida temprana de masa ósea. Incluso, cuando una mujer tiene una densitometría normal, los niveles altos de un marcador de resorción son en general predictivos de pérdida ósea sustancial, parece razonable asumir que los marcadores óseos pueden utilizarse preferentemente en asociación con la densitometría como estrategia para identificar y prevenir la osteoporosis. Para explorar mejor la capacidad predictiva de los Marcadores Óseos, se elaboraron tablas de contingencia, de cada uno de los Marcadores Óseos, obteniendo así la validez de estos, a través del cálculo de la sensibilidad, especificidad, así como los valores predictivos positivo y negativo frente a la prueba de oro o “*Gold Standard*”: la DMO. Destacan los Marcadores de Formación: BAP con un 68% de sensibilidad y 94% de especificidad y CICP con una especificidad de 86% y sensibilidad de 89%. En cuanto a los Marcadores de Resorción NTx presentó un 100% de sensibilidad y 69% de especificidad y PYD

96% de sensibilidad y 63% de especificidad. Estos últimos con una elevada sensibilidad y especificidad respecto a la DMO, particularmente NTx con el 100% de sensibilidad. Sin embargo, de acuerdo con los antecedentes reportados por otros autores sobre la validez, pertinencia y ventajas de los Marcadores Bioquímicos en relación a la DMO³¹ y por los resultados de este estudio en los que existen casos en los que los Marcadores de Resorción como NTX y PYD están elevados con DMO normal o que los Marcadores de Formación BAP y CACP presentan niveles bajos en estas mismas pacientes, se puede considerar que la DMO, en realidad no parece ser la prueba de referencia para examinar a los Marcadores Bioquímicos. Por tanto, en ausencia de otra prueba de referencia, y considerando que las pruebas que detectan los marcadores bioquímicos están adecuadamente validadas y que, por lo mismo, es remota la posibilidad de que los casos de niveles elevados o bajos de marcadores de remodelado sean falsos positivos (Ej. De un 54% con DMO normal, el 37% presentaron niveles normales y 17% niveles elevados de NTx), parece razonable pensar que la DMO no deba ser la prueba de referencia o *Gold Estándar*. Por el contrario, los datos encontrados dan lugar a pensar que los marcadores de resorción se anticipan a la pérdida ósea -en el caso del Marcador NTx existe un 28% de mujeres post-menopáusicas con osteopenia leve, las cuales en su totalidad presentaron niveles elevados de este marcador-; el mismo hecho sucede con PYD, donde el 28.7% de las mujeres estudiadas presentó osteopenia leve, de las cuales solo el 1.7% presentaron niveles normales de PYD, el porcentaje restante (27%) presentó niveles elevados de este marcador de resorción. Sin embargo, correspondería realizar estudios longitudinales, para corroborar mejor lo planteado anteriormente, es decir: los “eventos bioquímicos”, anteceden a los imagenológicos, lo que significa que los casos con valores alterados, hallados en nuestro estudio, en un tiempo más manifestarán imágenes de pérdida de tejido óseo. De ser así, basándonos en la sensibilidad y especificidad de los Marcadores Bioquímicos Óseos, podríamos definir a estos dos marcadores de resorción (NTx y PYD) como predictores de pérdida ósea, los cuales reflejarían mejor los cambios en el proceso de remodelado óseo.

Ante la necesidad de establecer cuál de los dos tipos de mediciones reflejan mejor o tienen mayor utilidad respecto a lo que acontece en el tejido óseo, se puede comparar las correlaciones entre la edad con cada uno de estos marcadores; asumiendo que una correlación más alta indicaría que se tiene una capacidad de predicción mayor, ya que anticiparía la deplección de calcio en el hueso durante el Tiempo post-menopáusico que refleja el tiempo hormonal. Como se podrá ver más adelante, los marcadores de resorción NTx ($r = 0.7$) y PYD ($r = 0.6$) presentan correlaciones mucho más altas y significativas que la DMO ($r = 0.4$) tanto con la Edad como con el Tiempo de post-menopausia.

Es bien conocido que el proceso de resorción se incrementa a lo largo del Tiempo de menopausia y continúa incrementándose posteriormente con la Edad. Sin embargo, la dinámica específica de incremento de este proceso, no ha sido expresamente definida aún en poblaciones de mujeres climatéricas. Para contribuir a esclarecer tal efecto, analizamos el comportamiento de la dinámica de los Marcadores Bioquímicos Óseos respecto a la Edad y al Tiempo de post-menopausia. Este último más que un parámetro de tipo cronológico, es en realidad, la expresión de un acontecimiento de tipo hormonal, ya que refleja el decremento post-menopáusico de estradiol y la acumulación de eventos vinculados. Confirmando lo anterior, se encontró que, en las mujeres post-menopáusicas incorporadas en este estudio, agrupadas por rangos de Edad y de Tiempo de post-menopausia, existe un incremento directamente proporcional de los Marcadores de Resorción respecto, tanto con la Edad (tiempo cronológico), como con el Tiempo de post-menopausia (tiempo hormonal).

Las diferencias en el incremento de los marcadores de resorción pueden atribuirse en parte a la heterogeneidad de la naturaleza metabólica de estos marcadores: dos de ellos (NTx y PYD) son productos de degradación del colágeno óseo, en cambio TRAP es una enzima específica del osteoclasto. En el caso de TRAP, su leve incremento puede asociarse con su baja especificidad y sensibilidad, ya que otras células, además de los osteoclastos, presentan actividad de TRAP, que además de ser una enzima muy lábil es fácilmente degradable en condiciones no adecuadas de temperatura y tiempo de

conservación.; por lo demás no debiera esperarse que TRAP se incremente con la Edad, ya que no se incrementan los focos de osteopenia, sino que estos solo se acumulan, siendo el proceso controlado en su magnitud. De la misma manera, NTx se incrementa muy levemente, lo que no coincide con el hecho de que este marcador al ser producto de la degradación del colágeno por diferentes colagenasas, aparece en cantidades significativas en suero y en orina³⁸, por lo cual se apreciaría un mayor incremento del mismo, creemos que esto no se observa en nuestros resultados, porque la actividad de estas enzimas que degradan al colágeno no dependería del tiempo post-menopaúsico ni de la edad, sino más bien del estado de remodelamiento y del tipo de hueso a ser remodelado. Por tanto la degradación del colágeno y la osteopenia sería acumulativa, pero los marcadores de los productos de degradación serían constantes o con leves variaciones con la Edad. Asimismo, la estructura peptídica de este marcador lo hace sustrato directo de proteasas y peptidasas presentes en sangre y en el tracto urinario lo cual explica su variabilidad. En cambio el incremento de PYD respecto a la Edad y Tiempo de postmenopausia procede exclusivamente de la degradación del colágeno óseo maduro; al ser este marcador cada vez más abundante cuando es degradado por osteoclastos. También interviene el hecho de que estas moléculas se vuelcan a la circulación sin sufrir metabolización posterior y son excretadas directamente en la orina³⁶. Queda por tanto explicada la importante correlación existente entre la excreción de PYD y el incremento de resorción ósea medido en nuestro estudio.

El decremento de los Marcadores de Formación, es similar y casi paralelo respecto a la Edad, debido a que estos tres marcadores están constituidos por enzimas (BAP), proteínas (OC) y moléculas de pro-colágeno (CICP) derivadas directamente del osteoblasto. Este decremento, se aprecia mejor respecto al Tiempo de post-menopausia; esto, según otros estudios se debe a que el déficit estrogénico de la mujer en la menopausia provoca un aumento de la apoptosis de los osteoblastos⁶⁰, lo que determina la caída simultánea de los tres marcadores de formación.

Con base en lo expuesto anteriormente, consideramos de mayor importancia, tomar en cuenta el Tiempo de post-menopausia, por la reducción en la producción hormonal que

implica esta etapa de la vida en la mujer, en lugar de la Edad, para estudiar la dinámica de recambio óseo; hecho que excluye considerar la gran variabilidad con la que se da inicio a la menopausia. Elders. et al, ³² en un estudio de cohorte con 370 mujeres climatéricas, determinó que la reducción de hormonas sexuales en la mujer fue a partir de los 50 años, asociándose a una desmineralización intensa de los huesos, lo cual concuerda con nuestros resultados donde a partir del rango de 50 a 53 años se observa un claro incremento de PYD y alta correlación de este con la Edad.

En cuanto al tiempo de postmenopausia, Melton L, et al, ⁸⁴ ponen de manifiesto que los índices de pérdida ósea después de la menopausia se incrementan rápidamente, a partir de los primeros 5-7 años después de la misma. Contrastando con este reporte, nuestros resultados reflejan que la resorción de hueso se inicia a los 2 a 4 años después de la menopausia. Tal hecho, pudiera estar asociado al tipo de población y los factores hallados en este proceso.

Después de 4 años de transcurrido el Tiempo post-menopaúsico, según estudios realizados por Darren, et al, ²⁷ existe una disminución en los Marcadores Bioquímicos de Formación ósea (BAP y OC). En nuestro estudio, el decremento de los Marcadores de Formación, especialmente en BAP y CACP ocurre ya desde el primer año de transcurrida la post-menopausia, solo la OC inicia su declive a los 6 años. Lo anterior concuerda con estudios realizados por Garnero P⁴², quien afirma que durante la menopausia, se da primero el decremento de la formación ósea, y posteriormente se inicia y dispara el proceso de resorción, dando lugar a un desequilibrio en el remodelado óseo. Por otra parte, cabe recalcar que estas diferencias en el inicio tanto del incremento como del decremento de los Marcadores Bioquímicos podría deberse también a las características de la población estudiada, la cual no fue homogénea por presentar mujeres de variadas condiciones de vida relacionadas con la edad, actividad física y otros antecedentes vinculados a estos hechos.

Para apreciar mejor la distribución de los datos a nivel del grupo estudiado, se elaboraron gráficas de regresión lineal entre los marcadores de Remodelado Óseo con la

Edad y con el Tiempo de post-menopausia. Es interesante el caso del marcador de formación CICP en el que, se observa que si bien presenta una tendencia general a disminuir con la Edad y el Tiempo de post-menopausia (Fig. 35a y 36a), existe un grupo de mujeres post-menopáusicas con niveles notablemente disminuidos de este marcador inclusive en relación con los marcadores de las mujeres en edad fértil, desde etapas tempranas de Edad y Tiempo de post-menopausia. Este hecho sugiere que estos parámetros, no serían los únicos factores determinantes de pérdida de masa ósea, ya existirían alteraciones en el proceso de formación ósea incluso a inicios de la post-menopausia.

En el caso del marcador de resorción TRAP, este no presenta gran incremento en sus niveles, la mayoría de los datos se agrupan alrededor de la pendiente (Fig. 35d). De hecho, la leve tendencia presentada parece deberse solo a dos datos lejanos a la línea de tendencia; sin estos no existiría correlación ($r = 0$), lo cual indica que este marcador no se incrementa con la edad ni después de la menopausia. Al comparar esta población con las mujeres en edad fértil, se aprecia claramente que existen casos de la población post-menopáusicas que se ubican dentro del rango de normalidad dado por las mujeres en edad fértil; esto se explica por el hecho de que TRAP es una enzima que biológicamente permanece constante dependiendo de la presencia de su sustrato (las sales de hidroxapatita asociadas a la colágena) y no así de manera directa, de la edad y del tiempo de post-menopausia.

El marcador de resorción PYD, presenta mejor tendencia de regresión que TRAP, ya que se observa claramente que a medida que transcurre el tiempo de post-menopausia, este se incrementa de manera proporcional (Fig. 36c). Esto se aprecia mejor, cuando se incorpora en la gráfica el dato de las mujeres en edad fértil, las cuales representaron el tiempo “cero” de post-menopausia con niveles bajos de PYD, ya que este grupo no excreta concentraciones significativas de este marcador en orina, como sucede en las mujeres post-menopáusicas. Se entiende que las Piridinolinas, al ser el producto de la expresión de la degradación del colágeno, incrementa su concentración en orina, a medida que se incorporan cada vez más sitios de resorción y eliminación de masa ósea

con el tiempo y la edad, con menor concentración de estradiol disponible para equilibrar el metabolismo óseo.

Por otro lado, es importante destacar que se encontraron correlaciones negativas aceptables entre la DMO de columna y femorales, tanto con la edad como con el tiempo de post-menopausia. Sin embargo, está claro que estas correlaciones resultaron menos ostensibles comparándolas con los marcadores bioquímicos, además de que presentan datos muy dispersos en las gráficas de correlación. Si evaluamos los datos del promedio de DMO con la Edad (Fig. 37a) y tiempo post-menopáusicos (Fig. 37b) por estratos de agrupamiento, se ve que existe un lapso en el que no se aprecia una tendencia de disminución (entre los 5 a 10 años de tiempo post-menopáusicos). En cambio, los marcadores bioquímicos tanto de resorción como de aposición tienen un incremento o decremento sostenidos. Este hecho puede ser vinculado con el decremento marcado de Estradiol, recién a partir del mismo tiempo post-menopáusicos (5 a 10 años), en el que no se presenta la meseta sin disminución de masa ósea representado por la DMO. En cambio, en los Marcadores Bioquímicos de Formación ósea, se observa una caída abrupta con el tiempo. Esto podría significar que existe un tiempo en el que la DMO no muestra lo que acontece en el hueso (ventana oscura) a diferencia de lo que ocurre con los Marcadores Bioquímicos.

Nuestros resultados ratifican lo expuesto por Torgerson DJ, et al,¹³⁵ quienes correlacionaron la densidad ósea con años de post-menopausia afirmando que la densitometría ósea presenta una correlación restringida respecto al número de años desde la menopausia. Adquieren, por estos hechos, más importancia, los Marcadores Bioquímicos por reflejar de manera más fidedigna la dinámica aposición/resorción que los marcadores densitométricos. Por todo lo mencionado anteriormente, está claro que los desequilibrios entre osteoblastos y osteoclastos pueden fácilmente reducir la masa ósea a mayor edad y mayor tiempo transcurrido de post-menopausia, pero sin llegar a ser por si solos factores determinantes que induzcan a posible riesgo de fractura.

Considerando que la DMO parece no ser la verdadera prueba “*Gold Standard*” y que según estudios planteados por Garnero et al,⁴⁰ donde los eventos bioquímicos representados por los Marcadores Óseos, pueden ser detectados antes que los imagenológicos, es factible pensar que las mujeres con niveles elevados de los Marcadores de Resorción NTx y PYD (Tabla 16 y 17) pueden ser aquellas en las que se puede anticipar la pérdida ósea

Este porcentaje de mujeres en las que se puede determinar eventos osteopénicos tempranos, mediante los Marcadores óseos, obliga a realizar estudios longitudinales y usar el criterio de Garnero et al., que muestra que los eventos bioquímicos se manifiestan antes que los imagenológicos. Según esto, el porcentaje hallado en este estudio, en un tiempo posterior mostraría recién imágenes de resorción ósea. De ser así, y basándonos en la elevada sensibilidad y especificidad, especialmente de los marcadores de resorción NTx y PYD (Tabla 16 y 17), el estudio de los Marcadores Bioquímicos Óseos podría ser considerado más preciso. El estudio que proponemos, podría conducir a que estos dos marcadores, se conviertan en “Marcadores de Referencia”

El papel de las hormonas en el metabolismo óseo y lipídico es un hecho ampliamente conocido y los eventos fisiológicos y moleculares que involucran esta relación han sido bastante estudiados. Por este hecho, la correlación de la presencia de las hormonas en sangre con la presencia de Marcadores Bioquímicos del Remodelado Óseo y con los componentes del metabolismo lipídico, podría constituirse en la imagen a nivel clínico, de lo que ocurre en el nivel celular y molecular. En este trabajo, fueron estudiados los aspectos estructurales y funcionales del tejido óseo, mediante la determinación de marcadores bioquímicos de remodelado óseo y su correlación con los niveles hormonales del eje gonadal femenino (Estradiol, LH y FSH). Solo se encontró un coeficiente de correlación positivo aceptable entre el estradiol y BAP ($r = 0.3$), además de una estrecha correlación negativa entre estradiol y NTx ($r = -0.5$), y una leve correlación negativa con PYD ($r = -0.3$).

La regresión lineal entre el Estradiol y los marcadores óseos, permitió observar la distribución individual de los datos respecto a la pendiente. Es así que el marcador de formación BAP presenta dispersión con cierta tendencia a incrementarse, a medida que aumenta la concentración de Estradiol (Fig. 42a) hasta niveles cercanos a los del promedio \pm 1DS de esta hormona en el grupo de mujeres en edad fértil (Fig. 42b). La correlación que presenta esta hormona solo con BAP, se debe a la acción directa y específica que ejercen los estrógenos sobre los osteoblastos, para inducir el proceso de formación ósea, actividad que se ve reflejada por BAP.

En el caso de los marcadores de resorción: NTx, pese a presentar una correlación importante con Estradiol ($r = 0.5$), la gráfica de regresión muestra cierto grado de dispersión de algunos datos, con casos en los que los valores de NTx están muy por debajo del rango normal (promedio de las mujeres en edad fértil) pese a presentar niveles normales de Estradiol (Fig. 42d). Esto indicaría que, además del Estradiol, existen otros factores involucrados en la regulación del proceso de resorción, que no se determinaron en este estudio a los que nos referiremos más adelante.

En cuanto a PYD, se observa un claro incremento de este marcador de resorción, a medida que disminuye la concentración de Estradiol, aunque esta disminución no sea creciente en todos los casos, hecho que se muestra en la gran dispersión de los datos. Sin embargo, es importante notar como el grupo de mujeres en edad fértil, con niveles de estradiol típicos de esta etapa biológica y niveles de PYD menores a los de las mujeres post-menopáusicas, se aleja claramente de este último, por presentar diferencias muy notorias. Lo anterior es coherente con los estudios realizados, por Weitzmann¹⁴¹ que muestran que la deficiencia de estrógenos induce un aumento en los niveles del IFN- γ sintetizado por la célula T que provoca, al mismo tiempo, una mayor presentación antigénica y un incremento en la activación de las células T. Estas células T activadas secretan RANKL (ligando del receptor activador del factor nuclear Kappa B), que activa directamente en el osteoclasto induciendo la expresión de RANK (receptor activador del

factor nuclear Kappa B); tal hecho desemboca finalmente en un aumento en la osteoclastogénesis y en la pérdida ósea.

Está claro que, de acuerdo con esos antecedentes, se esperaría una correlación más elevada entre las variables estudiadas, ya que en estudios previos, se reporta que en la post menopausia, la caída brusca de estrógenos circulantes se asocia a una pérdida progresiva de masa ósea. En el presente estudio, las leves correlaciones halladas podrían explicarse porque los estrógenos pueden afectar al hueso a través de otras hormonas sistémicas, como la calcitonina y la hormona paratiroidea, lo cual mostraría que el efecto global de los estrógenos no es directo, hecho que también se muestra por la mediación de diversas células con secreción de citoquinas y factores de crecimiento que se alteran en respuesta a la estimulación estrogénica⁸⁶.

Estos hechos, están a favor de la escasa correlación de estos componentes y los marcadores óseos en el nivel clínico y sugiere que los cambios que ocurren en el hueso, como consecuencia de la pérdida de las hormonas ováricas, es complejo y no completamente definido hasta el momento. De hecho, no existen mecanismos bioquímicos completamente esclarecidos que expliquen el aumento de la resorción, lo cual podría significar simplemente que existe un aumento en la velocidad de activación de un número mayor de sitios nuevos de remodelación. Una característica de la pérdida ósea que sigue a la disminución de la actividad ovárica es la pérdida de la conexión entre las diferentes trabéculas, que ha sido llamado por algunos como “Perfiles Aislados” en la biopsia ósea¹²⁸. Para poder entender este fenómeno, se hace necesario evaluar íntegramente toda la arquitectura, que forma parte del fenómeno óseo que sucede en la menopausia. Además, debe considerarse que, la velocidad por la cual las mujeres pierden hueso después de la menopausia depende de diferentes factores, algunos de los cuales inclusive pudieran ser independientes de la secreción de hormonas sexuales (alimentación, estilo de vida y hábitos saludables). Según los resultados hallados en nuestro estudio, en los cuales la caída de la producción hormonal se inicia partir de los 5 a 6 años con una caída abrupta hasta los 7 – 10 años de tiempo post-menopáusicos. Es

interesante notar, que no obstante la caída hormonal, se inicia recién a partir de los 5 años, el incremento de la resorción (Fig. 33b) y la disminución de la masa ósea (Fig. 37b), comienza ya antes, a partir de los 2 a 4 años del tiempo de post- menopausia, lo cual corroboraría lo anteriormente mencionado en la literatura científica, donde otros factores como el estilo de vida, hábitos (ejercicio/sedentaridad) y alimentación entre otros, aparte de las hormonas, incrementarían la velocidad de pérdida de hueso.

Aunque, la importancia de la deficiencia de estrógenos en la pérdida rápida de hueso, ha sido reconocida por muchos años, según Garnero, et al,⁴³ los niveles circulantes de estradiol explican solo una proporción pequeña de la variedad interindividual de la DMO y la pérdida ósea. Sin embargo, en mujeres postmenopáusicas, tres reportes recientes de estudio de fracturas osteoporóticas sugieren que niveles no detectables de estradiol (menor a 5 pg/ml, lo cual ocurre en aproximadamente un tercio de la población), están fuertemente asociados con una baja DMO, pérdida rápida de hueso y por lo tanto incremento del riesgo de fractura^{21,33,92} Por lo tanto, la correlación no muy elevada entre estradiol y los marcadores óseos que se encontró en este estudio, puede también deberse a una población post-menopausica ‘relativamente’ joven, en quienes los valores de estradiol no presentaron disminuciones considerables. De hecho, la correlación entre Hormonas del eje gonadal con la Edad y Tiempo de post-menopausia, en nuestro estudio, muestra que el Estradiol presenta, con un coeficiente de correlación relativamente bajo con Edad ($r = -0.3$) y aceptable con el Tiempo de post-menopausia ($r = -0.4$). Asimismo, al incorporar a las gráficas de regresión, los datos de las mujeres en edad reproductiva, se aprecia una mejor correlación, particularmente con los marcadores BAP, NTx y PYD. (Fig. 42)

Es de conocimiento generalizado, que la enfermedad cardiovascular (ECV) y la osteoporosis son los principales problemas de salud a nivel mundial, cuya incidencia aumenta con la edad⁵³. Particularmente después de la menopausia, las mujeres parecen estar en riesgo de desarrollar tanto osteoporosis como enfermedades cardiovasculares y a menudo ambas entidades se observan en un mismo individuo. Aunque tradicionalmente

estas enfermedades se han considerado como procesos independientes relacionados con la edad, cada vez existe evidencia más sólida que confirma una relación directa entre ambas entidades, con mecanismos fisiopatológicos compartidos.

Desde el punto de vista metabólico-molecular, en el presente estudio hemos determinado la relación entre estas dos entidades mediante la determinación de la correlación entre el perfil lipídico y los marcadores bioquímicos óseos para así poder evidenciar dicha relación a nivel clínico y así contribuir a explicar los posibles nexos entre estos dos procesos. Se considera este vínculo como una relación de co-producción (no causal), donde existe un factor etiopatogénico común, en este caso, el decaimiento de estrógenos que a través de diversos mecanismos, induce los cambios tanto en el metabolismo óseo como en el metabolismo lipídico.

Para caracterizar y examinar el patrón propio de esta relación, hemos analizado, el tipo de relación existente entre el índice aterogénico y los niveles de osteopenia, mediante correlaciones bivariadas entre los marcadores óseos, tanto bioquímicos como densitométricos con los marcadores del perfil lipídico.

Se encontró que existen evidentes correlaciones entre los Marcadores Bioquímicos de Formación y Resorción con el Perfil Lipídico. Aunque no todas las correlaciones fueron estadísticamente significativas, destacan aquellas en las cuales los Marcadores de Formación presentaron un coeficiente de correlación negativo importante con el colesterol total y con el Índice aterogénico, aunque una correlación más elevada en estos se observó con la fracción LDL- colesterol.

Por su parte, los marcadores de resorción, presentaron mejores correlaciones con las moléculas del perfil lipídico en general. Es así que todos, excepto TRAP, presentaron una correlación positiva importante con el colesterol total, con el Índice aterogénico y una elevada correlación con LDL-col. En cambio, la fracción HDL-col, presentó un coeficiente de correlación negativo aunque menor solo con TRAP. No se encontró correlación entre Triglicéridos y Marcadores Bioquímicos Óseos. El grupo de mujeres en edad fértil, se diferenció notablemente del grupo post-menopáusico en los tres casos (colesterol total, LDL-col, Índice aterogénico) los cuales presentaron niveles tanto de

NTx y PYD como de los marcadores lipídicos, dentro de sus respectivos rangos de referencia. Cabe resaltar, que un importante número de casos de mujeres postmenopáusicas también presentaron niveles normales de NTx y de marcadores lipídicos, los cuales no necesariamente son los casos de mujeres más jóvenes.

En las gráficas de regresión lineal, se puede observar evidente dispersión, especialmente en los marcadores de Formación y solo NTx y PYD en cuanto a los de resorción. Esta dispersión se explica por la gran variabilidad intra-individual que presentaron las pacientes, en cuanto a edad y niveles hormonales especialmente, ya que este factor juega un rol importante monitoreando tanto el metabolismo lipídico como el metabolismo óseo, lo cual se detallará más adelante. La dispersión que presentan los datos, es más evidente en los Marcadores de Resorción NTx y PYD, los cuales presentan una tendencia a incrementar su concentración de manera directamente proporcional con el colesterol total, LDL-col e Índice aterogénico.

Es interesante que en el caso de TRAP respecto a colesterol total, LDL-col, Índice aterogénico, no se observó dispersión de los datos, agrupándose la mayoría de ellos muy cerca de la pendiente ($r = 0.3$) (Fig. 40d). Incluso, una parte importante de los mismos se ubicó dentro del promedio \pm 1DS del grupo de mujeres en edad fértil, lo cual indica que esta enzima no presentó gran variación en respuesta al incremento de la concentración de los valores del perfil lipídico.

De esta manera, y basándonos en los resultados hallados, se puede afirmar que existe evidente relación entre estos dos procesos en el nivel clínico. Esta relación, es compleja debido a que el grado de correlación en todos los casos no se lleva a cabo de la misma manera; hecho que se explicaría por la existencia de otros mecanismos involucrados que participan en estos procesos, los cuales se mencionan a continuación, para una mejor comprensión de la relación entre ambos procesos metabólicos.

Los datos presentados, muestran que el Colesterol total no solo participa en el proceso de formación de las placas ateromatosas en las paredes vasculares, sino también -por el hecho de presentar una correlación aceptable con la mayoría de los marcadores

bioquímicos óseos-, estaría involucrado también en algún proceso del metabolismo óseo. Al ser TRAP una enzima específica liberada por el osteoclasto en el proceso de resorción y que refleja su actividad de manera directa, se podría esperar que la correlación entre esta enzima y el colesterol total fuese mayor en relación a los demás marcadores de resorción, ya que el osteoclasto depende directamente del colesterol para su funcionamiento. Sin embargo, nuestros resultados no reflejaron este hecho (osteoclastos y su relación de manera directa con el colesterol). Luegmayer E⁷⁶ encontró también este hecho y lo explicó examinando el rol del colesterol exógeno en la formación y supervivencia de los osteoclastos, los cuales no respondieron a la remoción de colesterol vía HMG-CoA reductasa, sino a la remoción del mismo vía HDL-col y Apo A1, los cuales inducen la apoptosis del osteoclasto. Además, el bajo nivel de síntesis de colesterol de Novo, sugiere que la diferenciación de estas células dependería de recursos externos, como las lipoproteínas y no así del colesterol como tal para controlar niveles celulares del mismo, lo cual explicaría la baja correlación entre TRAP y colesterol total obtenidos en nuestro estudio. Además, debe recordarse que al ser esta enzima liberada “*in situ*”, es fácilmente degradable y sumamente lábil a tiempo de ingresar al torrente sanguíneo (donde se la determina), lo que reduce la fidelidad en la medición del proceso en el hueso.

Por su parte, se ha establecido que la fracción HDL-colesterol, provocaría la disminución de la concentración de colesterol intracelular (necesario para la sobrevivencia del osteoclasto) mediante la salida del mismo de los osteoclastos provocando su apoptosis y por consiguiente la disminución del proceso de resorción⁸¹. Este proceso denominado cinética de remoción del colesterol, en el cual la vía que induce la salida del colesterol del osteoclasto es un factor muy importante, fue constatado por estudios en cultivos de osteoclastos realizado por Luegmayer E⁷⁶, en los que se indujo la salida de colesterol de estas células por dos vías: la primera mediante un agente farmacológico MBCD (metil-β ciclodextrina) y la segunda mediante HDL-colesterol y Apo A1; observándose diferencias sustanciales, en las que HDL-colesterol

induce apoptosis de los osteoclastos, solamente mediante la remoción de colesterol de estas células. Las correlaciones leves pero significativas entre los niveles de HDL-colesterol y los marcadores de resorción hallados en este estudio, reflejarían lo expuesto anteriormente. Por lo anterior, resalta el papel protector de HDL como vía de eliminación del colesterol del osteoclasto, sin el cual esta célula es incapaz de madurar, inhibiéndose así el proceso de resorción. Por otro lado, varios estudios muestran que, HDL-colesterol también cumple una función protectora en las células vasculares, por efecto indirecto de los estrógenos, bloqueando la vía mitocondrial de la apoptosis, por lo tanto, previniendo la activación de la caspasa-9 y 3 y otras alteraciones apoptóticas en la membrana²⁹.

En el caso de la fracción LDL-col, según estudios de Von K, et al,¹⁴⁰ esta fracción provee de colesterol exógeno al osteoclasto, inhibiendo su apoptosis de ahí el importante papel de las lipoproteínas HDL y LDL-colesterol como vías contrarias de remoción y acceso de colesterol al osteoclasto. En nuestro estudio, LDL-colesterol presentó una alta correlación positiva con todos los Marcadores Bioquímicos Óseos de Resorción y negativa con los de Aposición, corroborando así la evidencia de la expresión clínica de estos parámetros de lo que ocurre en los tejidos.

Además, contribuyen también a esta importante correlación que presenta LDL-col, todos los mecanismos comunes que comparten tanto el metabolismo óseo como el lipídico en los cuales LDL-col está involucrado, junto a diferentes rutas y mediadores de ambos procesos. Tal es el caso, de “la paradoja cálcica”, que indica que mientras en la mujer post-menopausica hay una disminución de calcio en el tejido óseo, es decir huesos descalcificados por deficiencia de hidroxapatita y de factores osteoblasticos, en las células de tipo endotelial hay un incremento de enzimas de origen osteoblástico. En las arterias, este proceso se instala con ateromas calcificados, en los que se encuentran hidroxapatita, proteínas óseas y factores segregados por la línea osteoblástica. De esta manera, las arterias con ateromas tendrían tejido indistinguible del hueso desde el punto de vista morfológico e histológico; es decir, se formaría hueso en las arterias. Otros estudios,^{15, 39,62} indican que existe una subpoblación de células de la pared arterial, las

llamadas ‘células vasculares calcificantes’ que tienen la capacidad de presentar una diferenciación osteoblástica y de expresar una serie de factores y proteínas comunes con el tejido esquelético; siendo posible identificarlas en las placas ateromatosas, con una metodología especial. En consecuencia, la calcificación arterial es una recapitulación de la osteogénesis y, desde el punto de vista etiológico puede estar relacionada con la deficiencia estrogénica, ya que la relación entre pérdida progresiva de hueso y calcificación aórtica sería más significativa durante la postmenopausia. Cabe recalcar que no se determinó el calcio en las pacientes en estudio, porque en los casos de osteopenia, que son los que caracterizan a la mayor parte de la población en este estudio, los valores de calcio no se modifican significativamente por estar estrechamente regulada en los fluidos extracelulares. Estos se ven alterados solo en aquellas formas generalizadas de osteoporosis severa y debidas generalmente a enfermedad subyacente; en estos casos los niveles de calcio sérico y urinario pueden incrementarse indicando aumento en la absorción intestinal. Estas alteraciones son: la enfermedad de Paget, el hiperparatiroidismo y las fracturas con inmovilización prolongada. Es por esta razón, que debido a las características de nuestra población en estudio, no se realizaron las determinaciones de Calcio y Paratohormona, ya que esta última es liberada por la glándula paratiroidea en caso de incremento o disminución del calcio sérico, el cual como se mencionó anteriormente no se ve modificado en caso de osteopenia sin ninguna enfermedad subyacente como ser enfermedades renales, según lo reportado por Body JJ, Bouillon R. en su estudio “Emergencies of calcium homeostasis”. Por otro, las mediciones de calcio total tienen una utilidad limitada, por ser poco específicas y poco sensibles, ya que la mitad del calcio sérico total se encuentra unido a proteínas (fundamentalmente albúmina), una pequeña proporción se une a aniones (citrato, sulfato) y el resto es calcio en forma ionizada, que constituye la fracción regulada por el organismo y biológicamente importante.

Por otro lado, la estrecha correlación entre LDL-colesterol y osteocalcina encontrada en nuestros resultados, han sido también reportados por Genest, et al⁴⁶, quienes indican que,

al igual que los osteoblastos, las células endoteliales vasculares, liberan también la proteína Osteocalcina, que a su vez estimula la liberación de BMPs (proteínas morfogenéticas del hueso), que tiene efectos pro-inflamatorios oxidantes al liberar sustancias reactivas de oxígeno (ROS), provocando inflamación en la pared vascular para posteriormente dar lugar a la formación del ateroma, participando activamente el LDL-col oxidado en este proceso. Por el contrario, en el tejido óseo, el LDL-col potencia la actividad de los osteoclastos, provocando el aumento de la resorción sobre la formación, lo que da lugar a la osteoporosis en el hueso y calcificación vascular en arterias coronarias principalmente. Por tanto en ambos mecanismos existiría una especie de factor común, aparte de los estrógenos, que aún no se ha terminado de aclarar, donde la misma molécula, produciría dos efectos diferentes en ambos metabolismos.

Otra ruta que presenta mediadores comunes en ambos procesos, es la que involucra el sistema de regulación OPG/RANK/RANK-L. En ambos procesos, las células óseas y vasculares son fuente común de estos sistemas, lo cual se ha demostrado tanto *in vitro* como *in vivo*. Por estudios *in vitro*, Hurtel⁵⁹; muestra que en el tejido óseo, los osteoblastos, por la ruta OPG-RANK, liberan RANK-L (ligando de RANK), el cual actúa sobre los precursores de osteoclastos, inhibe su apoptosis y estimula su diferenciación y activación induciendo así la resorción ósea. Pero en el caso de la pared vascular, al igual que el INF- γ , RANK-L al actuar sobre los macrófagos de la pared vascular, los induce a fagocitar lípidos, dando lugar a células espumosas, para de esta manera inducir la presencia de células calcificantes (calcificación vascular).⁷⁷ Por otra parte, se ha demostrado que la placa ateromatosa calcificada tiene numerosos elementos celulares y moleculares que participan en la formación de hueso, incluyendo la proteína morfogenética del hueso (BMPs), el colágeno tipo 1, osteonectina (ON), osteopontina (OPN), proteínas de la matriz Gla, la osteocalcina (OC) y la osteoprotegerina (OPG)⁶¹. Esta última, es secretada por los osteoblastos y también por células vasculares entre ellas células endoteliales y células musculares de las arterias coronarias y actúa como regulador de la resorción ósea al bloquear la unión de RANK con RANKL, y a su vez

regula la calcificación arterial, constituyéndose un factor común importante entre estos dos metabolismos.

El papel de los estrógenos, ya detallado anteriormente, incluye la inducción de la liberación de RANK-L que actúa en el remodelado óseo, por lo que queda claro que este proceso es en general, una actividad del aparato inmunológico al igual que la aterosclerosis (en el que intervienen los linfocitos-T, monocitos, fibroblastos y células dendríticas), que también actúan mediante el RANK-L/RANK.

Todos los eventos anteriormente mencionados, ocurren a la par tanto en hueso como en la pared arterial; donde osteoblastos/osteoclastos y moléculas del perfil lipídico (colesterol total, HDL-col y LDL-col), el sistema de regulación OPG/RANK/RANK-L, además de procesos inmunológicos que involucran a los linfocitos T, participan e interaccionan ejerciendo efectos contrapuestos tanto en el tejido óseo como en la pared arterial. Es esta la razón más importante, para explicar la correlación encontrada en nuestros resultados. Sin embargo, se debe tomar en cuenta que muchos de los otros factores mencionados anteriormente, están involucrados en ambos procesos, por lo cual el efecto que ejercen las moléculas del perfil lipídico sobre el metabolismo óseo y viceversa, no es directo, sino que está mediado por los agentes moleculares ya mencionados, los cuales no fueron medidos en este estudio, como ser: osteoprotegerina (OPG), osteonectina (ON) y osteopontina (OPN).

En esta misma línea, Ammann, et al,⁶ al examinar la relación entre la concentración de triglicéridos y la baja masa ósea medida mediante DMO de columna, no se encontraron asociación entre estas dos variables. Dichos hallazgos fueron ratificados en nuestro estudio al no encontrarse correlación entre la concentración de los Marcadores Bioquímicos y Triglicéridos. Aunque, en las gráficas de regresión, se observa muy leve correlación, (donde parte importante de los datos se acumulan alrededor de una especie de columna) esto sería el producto de la existencia de algunos datos no representativos de toda la población estudiada que se encuentran muy alejados del grupo y que generan dicha tendencia, la misma que en este marco, no sería verdadera.

En cuanto al Índice Aterogénico en este estudio, encontramos que existe correlación leve solo con los marcadores de resorción. Pese a no obtener un coeficiente de correlación más elevado como se esperaba y al no encontrarse estudios previos respecto a la relación de este con los marcadores óseos, se podría afirmar que el Índice aterogénico como tal, no sería expresión de un efecto directo sobre el metabolismo óseo, sino que dependería de los componentes por separado que conforman su fórmula (COLESTEROL/HDL-COL). Ambas moléculas, como se explicó anteriormente, están involucradas solo en procesos relacionados con los osteoclastos. Si bien este es un factor importante en el proceso de resorción; lo es mucho más la fracción LDL-colesterol, la cual está implicada directamente en ambos metabolismos, interactuando con los diferentes mediadores químicos e inmunológicos que estos incluyen. Podría explicarse, este hecho, porque la fórmula del Índice aterogénico que fue utilizada en este estudio, no presentó la correlación esperada.

En cuanto a la correlación entre los marcadores lipídicos con los resultados densitométricos, encontramos correlaciones leves entre la DMO de columna y femorales solo con el colesterol total y con LDL-colesterol, siendo estas correlaciones menos ostensibles respecto a lo obtenido con los marcadores bioquímicos óseos. Esto es relevante ya que, hasta el momento, no se han reportado estudios de correlación entre cambios en el perfil lipídico y perfil óseo medido por marcadores bioquímicos, los cuales como se mostró antes ofrecen mayor precisión y confiabilidad, porque reflejan la actividad dinámica de ambos procesos. Todos los estudios previos abordaron la relación entre DMO y circunferencia abdominal (CA) o el índice de masa corporal (IMC)⁹⁸ y en algunos casos estudios imagenológicos de la pared arterial coronaria¹²¹. Lo anterior refleja la relación solo entre ciertos sitios, sin tomar en cuenta la relación entre ambos procesos metabólicos como un todo.

Por todo lo expuesto anteriormente, queda claro que, a partir del análisis de la asociación de estos dos procesos, ambas entidades deberían manejarse de manera

simultánea, por existir mecanismos comunes estrechamente relacionados e involucrados en ellas.

XII. CONCLUSIONES.

De acuerdo a los resultados obtenidos se concluye que:

- La relación entre la formación de las placas de aterosclerosis y los niveles de osteopenia, en la post-menopausia es un proceso complejo y dinámico que involucra diversos factores y rutas metabólicas comunes en ambas entidades. Para tal efecto, se estudió 60 mujeres post-menopáusicas (grupo de estudio) y 6 mujeres en edad fértil, como una especie de grupo control para evidenciar mejor los cambios en la población en estudio. En las mismas se determinaron los niveles de los parámetros del perfil lipídico, hormonal, marcadores bioquímicos óseos y densitométricos. Las correlaciones bivariadas realizadas entre estas variables, se muestran estadísticamente significativas, por lo que a nivel metabólico-molecular se logró evidenciar los acontecimientos que suceden a nivel clínico. Se detallaron los nexos entre estos dos procesos, en los que especialmente los parámetros del perfil lipídico (Colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol e Índice aterogénico) correlacionaron significativamente ($p \leq 0.01$) tanto con los marcadores de formación como de resorción ósea. Por lo que se considera este vínculo como una relación de co-producción (no causal), en el que el decaimiento hormonal (especialmente de los estrógenos) induce a alteraciones tanto en el metabolismo óseo con la pérdida de masa ósea, como en el metabolismo lipídico con la formación de la placa aterosclerótica calcificada la cual tiene en común numerosos elementos celulares y moleculares que participan en la formación de hueso.
- La correlación entre los Marcadores Bioquímicos de Remodelado Óseo con la Densitometría Ósea (DMO), destaca que los Marcadores de Formación (BAP,

OC Y CICP) correlacionaron mejor con la DMO en columna y femorales izquierdo y derecho ($p \leq 0.01$). Solo los Marcadores Bioquímicos de Resorción NTx y PYD son los que correlacionaron de manera importante con la DMO en columna y cuellos femorales izquierdo y derecho ($p \leq 0.01$). Esta correlación entre DMO y los Marcadores bioquímicos óseos permitieron detectar específicamente en los marcadores de resorción la existencia de dos poblaciones definidas, mediante puntos de corte (NTx = 20 nM ECO y PYD = 40 nmol/l) , por encima de los cuales destacan aquellas mujeres con un claro incremento de los Marcadores de Resorción ósea, pese a presentar una DMO que refleja osteopenia leve o moderada, lo cual podría constituir un criterio para detectar de manera temprana la pérdida de masa ósea en estas pacientes.

Se confirma que TRAP, no es un marcador de elección indicativo de incremento en la resorción ósea, ya que aunque se obtuvo una correlación significativa ($p \leq 0.05$) con la DMO tanto en columna como en cuellos femorales derecho e izquierdo, el coeficiente de correlación obtenido ($r = -0.4$ en columna) ($r = -0.3$ en femorales) es menor en relación a los demás marcadores de resorción (NTx y PYD) esto se explicaría por su baja especificidad (11%) y sensibilidad (55%), además de ser muy lábil y fácilmente degradable en condiciones no adecuadas de temperatura y tiempo de conservación.

Se asume que, los Marcadores Bioquímicos de Remodelado óseo brindan información adicional y complementaria a la DMO, expresando intensidad del recambio óseo, velocidad de pérdida y de formación ósea, tal es el caso principalmente de los Marcadores de Resorción NTx y PYD, que se caracterizaron por su alta sensibilidad (NTx = 100%, PYD = 96%) y especificidad (NTx = 69%, PYD = 63%) respecto a los demás marcadores óseos, además de presentar niveles elevados en parte importante de las mujeres estudiadas, las cuales presentaban aun Osteopenia leve e incluso normal por DMO. Esto permite afirmar que, según este estudio, los Marcadores Bioquímicos

reflejan con ventaja el estado del tejido óseo a corto plazo y abre la posibilidad de detectar pérdida temprana de masa ósea en mujeres post-menopáusicas.

- La variación de los Marcadores Óseos a lo largo del tiempo, refleja que el Tiempo de post-menopausia, permite observar mejor que la edad, tanto el incremento como el decremento de estos marcadores, por lo cual ratificamos la influencia que ejerce el cambio hormonal en estos y no así el simple tiempo cronológico. Evidentemente, al observar la DMO a lo largo del Tiempo post-menopáusicos, existe un lapso en el que no se aprecia una tendencia de disminución (entre los 5 a 10 años de tiempo post-menopáusicos), hecho que indica, que esta técnica no muestra con claridad lo que acontece en el hueso en este lapso de tiempo, a diferencia de lo que ocurre con los marcadores bioquímicos, en los que se observa el decremento continuo, que puede relacionarse con la abrupta caída que experimenta el Estradiol.
- La correlación que se obtuvo entre los Marcadores de remodelado Óseo con los parámetros del Perfil Lipídico fue importante y estadísticamente significativa ($p \leq 0.01$) con el Colesterol total, LDL-colesterol, y muy leve con el Índice aterogénico, excluyéndose este último como un factor que por sí mismo se relacione directamente con el proceso de resorción ósea. La fracción HDL-colesterol y los triglicéridos no mostraron correlaciones estadísticamente significativas con los marcadores óseos.

Quedó claro por lo tanto que el Índice aterogénico de Castelli como tal no se relaciona directamente con los niveles de osteopenia en mujeres post-menopáusicas; sino más bien la molécula pro-aterogéna LDL-colesterol es la que correlaciona de manera significativa ($p \leq 0.01$) y con un elevado coeficiente de correlación con los marcadores tanto de formación ($r = -0.4$) como con los de resorción ósea ($r = 0.3$ TRAP)($r = 0.4$ NTx y PYD), y que participa de manera

importante en todos los mecanismos comunes que comparten tanto el metabolismo óseo como el lipídico, en los cuales está involucrado, junto con una serie de rutas y mediadores comunes ya reportados, en ambos procesos. Por lo tanto, los diversos vínculos entre Osteoporosis y Enfermedad Cardiovascular, con interacción de diversos procesos metabólicos (Óseo, Lipídico y Hormonal), tienen a los Estrógenos como el principal aunque no el único factor desencadenante de diversos eventos bioquímicos e inmunológicos, ya mencionados en el presente trabajo. Estos dan lugar, finalmente a la desmineralización ósea y la mineralización arterial, hechos denominados de manera conjunta como: La Paradoja del Calcio. Lo anterior explica el hecho de que los antioxidantes y las estatinas muestren efectos anti-osteoporóticos y que, por lo tanto, la osteoporosis y la enfermedad cardiovascular deberían tratarse como entidades estrechamente relacionadas.

- La correlación de los Marcadores óseos con las hormonas del eje gonadal femenino (Estradiol, LH y FSH) se expresó de manera apreciable solo con los niveles de estradiol ($p = <0.05$). Esta correlación con estradiol es coherente con lo que se conoce sobre los cambios en la dinámica aposición/resorción de hueso, lo cual nos da una visión representativa de los aspectos estructurales y funcionales del tejido óseo. Sin embargo, el leve coeficiente de correlación encontrado ($r = 0.3$ en el caso de BAP), ($r = -0.5$ en el caso de NTx) y ($r = -0.3$ en el caso de PYD) puede atribuirse a que la población post-menopáusica estudiada era relativamente joven, en quienes los valores de Estradiol no presentaron disminuciones considerables. Por otro lado, agrupando la concentración de Estradiol encontrado, por estratos de Tiempo post-menopáusico, se observó que la caída hormonal, se inició recién a partir de los 5 años, mientras que el incremento de la resorción ósea, comenzó ya antes (a partir de los 2 a 4 años del tiempo de post- menopausia) lo cual ratifica que otros factores como el estilo de

vida, hábitos y alimentación entre otros, aparte de la variabilidad hormonal, participan en el incremento de la velocidad de pérdida de hueso.

XIII. RECOMENDACIONES.

Es importante mencionar que nuestros resultados no pueden generalizarse para otras poblaciones, debido a que por el tiempo reducido que abarcó el estudio, solamente se trabajó con 60 pacientes. Pese a que este dato se obtuvo mediante cálculo de tamaño muestral, nuestra población puede ser considerada reducida; por lo que sería recomendable estudiar una población con un mayor número de pacientes postmenopáusicas, a las que se realicen por lo menos dos mediciones más de los parámetros medidos en este estudio (perfil óseo, perfil lipídico, perfil hormonal y DMO) en tiempos subsecuentes para determinar la variación de dichos valores en cada caso. Además, será importante valorar aquellos marcadores que no fueron medidos como ser: osteoprotegerina (OPG), osteonectina (ONC) y osteopontina que como se discutió en capítulos anteriores son de vital importancia tanto en el metabolismo óseo como en el lipídico. Todo lo anterior, podría coadyuvar a obtener cifras más exactas y menos dispersas en cuanto a la edad y a la concentración de los diferentes metabolitos para que estos datos a su vez puedan ser inferidos en la población de nuestra ciudad.

Cabe recalcar que no se determinó Calcio sérico ni los niveles de la paratohormona en este estudio, porque en los casos de osteopenia, que son los que caracterizan a la mayor parte de la población en este estudio, los valores de calcio no se modifican significativamente por estar estrechamente regulada en los fluidos extracelulares. Estos se ven alterados solo en aquellas formas generalizadas de osteoporosis severa y debidas generalmente a enfermedad subyacente; en estos casos los niveles de calcio sérico y urinario pueden incrementarse indicando aumento en la absorción intestinal. Estas alteraciones son: la enfermedad de Paget, el hiperparatiroidismo y las fracturas con

inmovilización prolongada. Es por esta razón, que debido a las características de nuestra población en estudio, no se realizaron las determinaciones de Calcio y Paratohormona, ya que esta última es liberada por la glándula paratiroidea en caso de incremento o disminución del calcio sérico, el cual como se mencionó anteriormente no se ve modificado en caso de osteopenia sin ninguna enfermedad subyacente como ser enfermedades renales, según lo reportado por Body JJ, Bouillon R. en su estudio “Emergencies of calcium homeostasis”. Por otro, las mediciones de calcio total tienen una utilidad limitada, por ser poco específicas y poco sensibles, ya que la mitad del calcio sérico total se encuentra unido a proteínas (fundamentalmente albúmina), una pequeña proporción se une a aniones (citrato, sulfato) y el resto es calcio en forma ionizada, que constituye la fracción regulada por el organismo y biológicamente importante.

Sería interesante para estudios posteriores, analizar no solamente el Índice aterogénico de Castelli o tipo II (colesterol total/ HDL-colesterol) sino también el Índice aterogénico tipo I (LDL-colesterol/ HDL-colesterol) el cual incluye en su fórmula la molécula pro-aterógena LDL-colesterol, el cual según bibliografía consultada tendría la misma utilidad que colesterol total / colesterol-HDL, sin que hasta ahora se hayan demostrado mayores ventajas sobre esta última. Esto debido a que como se constató con los resultados obtenidos, esta lipoproteína (LDL-colesterol) es la que está involucrada directamente en ambos metabolismos, tanto óseo como lipídico.

Sería aconsejable tomar en cuenta, para posteriores estudios, a mujeres postmenopáusicas, con edades superiores a los 60 años, para de esta manera poder apreciar mejor la disminución de los niveles hormonales, especialmente Estradiol y así evaluar de mejor la relación entre este y los marcadores bioquímicos óseos, y a la vez identificar de manera más adecuada las mujeres con alto grado de riesgo de presentar osteoporosis a futuro.

Respecto a la determinación de los marcadores óseos, se recomienda que para su interpretación tomen en cuenta distintos factores que podrían influir en los resultados; entre ellos se encuentran: las condiciones pre-analíticas, las características analíticas de sensibilidad, especificidad y la variabilidad biológica de las personas. No se deben comparar resultados de distintos laboratorios, sino seguir a los pacientes siempre con la misma metodología, en el mismo laboratorio y con los mismos reactivos.

En la etapa pre-analítica es de vital importancia considerar la preparación del paciente antes de la obtención de la muestra (horas de ayuno, dieta previa) y tipo de muestra (suero-orina), temperatura de manipulación y almacenamiento, ciclos de congelamiento y descongelamiento. Todas estas condiciones que por ser fuentes de variabilidad técnica, fueron suficientemente controladas en este estudio. Se debe siempre considerar que la variación analítica es función de la reproducibilidad y exactitud de las técnicas empleadas y las muestras sanguíneas presentan menos variación analítica que las urinarias

En este mismo orden se recomienda considerar que, también la variabilidad biológica es un factor no controlable que depende de la regulación del remodelamiento óseo relacionado con factores mecánicos (actividad física y fuerza muscular) y humorales (concentración de calcio y fosfatos, hormonas, vitamina D, citoquinas) que actúan sobre las células óseas para el reclutamiento, proliferación y función celular y por lo tanto deben tenerse en cuenta para la correcta interpretación de los resultados.

Por último, de acuerdo a los resultados presentados y corroborando los mismos con otros autores, recomendamos que, definitivamente, los marcadores de resorción NTx (Telopéptido Amino terminal) y PYD (Piridinolinas); serían de los más útiles para reflejar el grado de resorción ósea, así como para predecir pérdida temprana de masa ósea. Es así, que tomando en cuenta aspectos, relacionados al costo/beneficio, y tiempo de ejecución de la técnica, NTx y PYD serían los marcadores óseos de elección que pueden ser implementados como pruebas de rutina en cualquier laboratorio, descartando de esta manera a los demás marcadores óseos, abaratando de esta manera los costos de diagnóstico de laboratorio.

XIV. BIBLIOGRAFIA

1. AGNUSDEI D., AORIN J.A., ARIE T. 1999. Informe sobre la osteoporosis en la Comunidad Europea. Desarrollar huesos fuertes y prevenir fracturas. [en línea] <http://www.reumatologiahvh.org/reumatologiahvh_esp/profesionales/PDF/Informe%20sobre%20la%20osteoporosis%20en%20la%20Comunidad%20Europea.pdf> [consulta: 27 junio 2000].
2. ALBA M.M., ARDILA E.A., ONATRA W. 1991. Diagnóstico y manejo de mujeres con osteoporosis postmenopáusica. Rev. Col. Obstet Ginecol.
3. ALFONSO 1. ALFONSO J.C. 2007. Cuba: características sociodemográficas de las mujeres de edad mediana En: Climaterio y menopausia, un enfoque desde lo social: 21-38.
4. ALOIA J.F. 1997. Factores de riesgo de osteoporosis y profilaxis con terapia hormonal. Atlas en color de osteoporosis: 17-38.
5. ALVAREZ L. Y PERIS P. 2002. Marcadores bioquímicos del remodelado óseo, Aplicabilidad clínica. Roche Diagnostics S.L. Barcelona.
6. AMMANN P., RIZZOLI P., y SLOSMAN D. 1992. Sequential and precise in vivo measurement of bone mineral density in rats using dual-energy X-ray absorptiometry: Bone Miner Res. 7: 311-316.
7. ARIOT M.E., SORNAY-RENDU E., GARNERO P. 2010. Apparent pre and postmenopausal bone loss evaluated by DXA at different skeletal sites in women: the OFELY cohort: 12: 683-690.
8. ARTILES L., NAVARRO D., MANZANO B. 2007. Estrógenos y huesos. En: Climaterio y menopausia, un enfoque desde lo social: 202-15.
9. ASOCIACION ESPAÑOLA DE CARDIOLOGIA. [en línea] <<http://www.cardiovascularlatinoamerica.org/osteoporosis/capitulo11.htm>> [consulta: 10 agosto 2013].
10. ATKINS G.J., WELLDON K.J., HALBOUT P. 2009. Strontium ranelate treatment of human primary osteoblasts promotes an osteocyte-like phenotype while eliciting an osteoprotegerin response: 20(4): 653-664.

11. AXMANN R. Y BÖHM C. 2009. Inhibition of interleukin-6 receptor directly blocks osteoclast formation in vitro and in vivo: 60(9): 2747-2756.
12. BARCLAY L. 2010. North American Menopause Society Issues Guidelines on hormone therapy: 7: 242-255.
13. BATER P., J. NICHOLLS S., y RYE KA. 2004. Anti-inflammatory properties of HDL. *Circ Res.* Oct 15: 95(8): 764-772.
14. BEKKER P.J., HOLLOWAY D., NAKANISHI A. 2001. The effect of a single dose of osteoprotegerin in postmenopausal women: 16(2): 348–360.
15. BOIX R., MEDRANO M.J. 2001. Mortalidad por enfermedad cerebrovascular y enfermedad isquémica del corazón. Período 1996-1997: 98-102.
16. BONE H.G., MCCLUNG M.R., ROUX C. 2009. Odanacatib, a Cathepsin-K Inhibitor for Osteoporosis: A Two-Year Study in Postmenopausal Women With Low Bone Density.
17. BOREN J., OLIN K., LEE I. 1998. Identification of the principal proteoglycan-binding site in LDL. A single-point mutation in apo-B100 severely affects proteoglycan interaction without affecting LDL receptor binding: 101(12): 2658-2664.
18. BRAWN J.P., DELMAS P.B., MALAVAL L. 1984. Serum bone gla-protein: a specific marker of bone formation in postmenopausal osteoporosis: 1: 1091-1093.
19. BREYER J.A. 1996. Assessing risk of overt cardiovascular disease: 104: 263-270.
20. CALI L.P., BOWERS G.N., YOUNG D.S. 1973. A Referee method for the determination of total calcium in serum: 19: 1208-1213.
21. CALVO M.S., EYRE D.R., GUNDBERG. 1966. Molecular basis and clinical application of biological markers of bone turnover: 17: 333-368.
22. CASTAÑEDA A. 2011. Enfermedad coronaria durante la post-menopausia[en línea] <http://www.encolombia.com/Meno_II_vol_II_enfermedades_coronarias.htm> [consulta: 3 septiembre 2013].
23. CHESNUT C.H., SILVERMAN S., ANDRIANO K. 2010. PROOF Study Group A randomized trial of nasal spray salmon calcitonin in postmenopausal women with established osteoporosis: the prevent recurrence of osteoporotic fractures study: 109(4): 267-276.

24. CHRISTIANSEN C. 1994. Postmenopausal bone loss and risk of osteoporosis: 1: 47-51.
25. COSMAN F., NIEVES J., WILKINSON C. 1996. Bone density change and biochemical indices of skeletal turnover: 58: 236-243.
26. CUMMINGS S.R., SAN MARTIN J., MCCLUNG M.R. 2009. Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis: 361(8): 756-765.
27. DARREN E.R., WHITNEY N., STEPHANIE N. 2007. Las enfermedades cardiovasculares y la osteoporosis: la gestión de equilibrar el riesgo: 3(5): 673-689.
28. DENKE M.A. 2002. Dietary prescriptions to control dyslipidemias. Circulation: 105: 132-135.
29. DEROO B. Y KURACH K. 2006. Estrogen receptor and human disease: 116(5): 562-570.
30. DÍAZ A. 2002. Osteoporosis, estrógenos y metabolismo óseo. Implicaciones en la insuficiencia renal crónica. 120(11): 50-91.
31. DONALSON C . EASTELL R., COLWELL A., HAMPTON L. 1997. Biochemical markers of bone resorption compared with estimates of bone resorption from radiotracer kinetic studies in osteoporosis: 12: 59-65.
32. ELDERS P.J., LIPS P., NETELENBOS J.C. 1994. Long term effect of calcium supplementation on bone loss in perimenopausal women: 9: 963-970.
33. ESTADÍSTICAS NACIONALES. Anuario. Chile [en línea] <<http://bvs.sld.cu/cgi-bin/wxis/anuario/?IsisScript=anuario/iah.xis&tag5001=mostrar^m1605&tag5009=STANDARD&tag5008=10&tag5007=Y&tag5003=anuario&tag5021=e&tag5022=2007&tag5023=1605>> [consulta: 28 noviembre 2011].
34. ESTÉVEZ A., SÁNCHEZ M., SAINZA J. 2003. Cuando sospechar osteoporosis y riesgo de fracturas en la mujer. Revista Iberoamericana de Revisiones en Menopausia: 5(2): 3-11.
35. FALCH J.A. Y SANDVIK L. 1990. Perimenopausal appendicular bone loss: a ten years prospective study: 11: 425-428.

36. FORERO M.S., KLEIN R.F., NISSENSON R.A. 1987. Effect of age on circulating immunoreactive and bioactive parathyroid levels in women: 2: 363-366.
37. FOX S.W. Y CHOW J.W. 1998. Nitric oxide synthase expression in bone cells: 23: 1-6.
38. FRATTINI A., PANGRAZIO A., SUSANI L. 2003. Chloride channel ClCN7 mutations are responsible for severe recessive, dominant, and intermediate osteopetrosis: 18(10): 1740–1747.
39. GALLAGHER J.C., GOLDAR D., MOY A. 1987. Total bone calcium in normal women: effect of age and menopause status: 2: 491-496.
40. GAMERO P., SHIH W.J., GINEYTS E. 1994. Comparison of new biochemical markers of bone turnover in late postmenopausal osteoporotic women in response to alendronate treatment: 79: 1693-1700.
41. GARDNER J.C., VAN BEZOOIJEN R.L., MERVIS B. 2005. Bone mineral density in sclerosteosis; affected individuals and gene carriers: 90(12): 6392–6395.
42. GARNERO P. Y DELMAS P.D. 1993. Assessment of the serum levels of bone alkaline phosphatase with a new immunoradiometric assay in patients with metabolic bone disease: 77: 1046-1053.
43. GARNERO P, HAUSHERR E, CHAPUY M. 1996 Markers of bone resorption predict hip fracture risk in elderly women: The EPIDOS Prospective Study. J Bone Miner Res 11:1531–1538.
44. GARTON M., MARTIN J., NEW S. 1996. Bone mass and metabolism in women aged 45-55. Clin. Endocrinol: 44: 563-570.
45. GELB B.D., SHI G.P., CHAPMAN H.A. 1996. Pycnodysostosis, a lysosomal disease caused by cathepsin K deficiency: 273(5279): 1236-1238.
46. GENEST, SCHAEFER, BOSTON. 1996. Cholesterol-lowering effects of dietary fiber: a meta-analysis 90(12): 6392–6395.
47. GERMAN U. 1999. Menopausia. Guías de práctica clínica basadas en la evidencia. Asociación colombiana de facultades de medicina - ascofam.
48. GIANNINI S., D'ANGELO A., SARTORI L. 1996. Continuous and cyclical clodronate therapies and bone density in postmenopausal bone loss. Obstetrics & Gynecology: 88: 431-436

49. GLASS C.K. Y WITZTUM J.L. 2001. Atherosclerosis. The Road ahead: 104(4): 503-516.
50. GORDON D.J. Y RIFKIND B.M. 1989. High-density lipoprotein: The clinical implications of recent studies: 321(19): 1311 -6165.
51. GOTTSCHALCK I.B., JEPPESEN P.B., HARTMANN B. 2007. Effects of treatment with glucagon-like peptide-2 on bone resorption in colectomized patients with distal ileostomy or jejunostomy and short-bowel syndrome: 43(11): 1304–1310.
52. GOWEN M., LAZNER F., DODDS R. 1999. Cathepsin K knockout mice develop osteopetrosis due to a deficit in matrix degradation but not demineralization: 14(10): 1654–1663.
53. GUO C.Y., THOMAS W.E., DEHAMI A.W. 1996. Longitudinal changes in bone mineral density and turnover in postmenopausal women with primary hyperparathyroidism.
54. GUPTA Y ARONOW. 2004. Are cardiovascular disease and osteoporosis directly linked. Sports Med: 34: 779–807.
55. HEANEY R.P. 1998. Pathophysiology of osteoporosis. Endocrinol Metab Clin North: 27: 255-65.
56. HENRIKSEN D.B., ALEXANDERSEN P., HARTMANN B. 2007. Disassociation of bone resorption and formation by GLP-2: a 14-day study in healthy postmenopausal women: 40(3): 723–729.
57. HERMOSO DE MENDOZA M.T. 2003. Clasificación de la osteoporosis. Factores de riesgo. Clínica y diagnóstico diferencial: Vol.26, Suplemento 3.
58. HOFBAUER L.C. Y SCHOPPET M. 2004. Clinical implications of the osteoprotegerin/RANKL/RANK system for bone and vascular diseases. JAMA: 292(4): 490-495.
59. HURTEL-LEMAIRE A.S., MENTAVERRI R., CAUDRILLIER A. 2009. The calcium-sensing receptor is involved in strontium ranelate-induced osteoclast apoptosis. New insights into the associated signaling pathways: 284(1): 575–584.
60. HYDER J.A. 2009. Association of coronary artery and aortic calcium with lumbar bone density: the MESA Abdominal Aortic Calcium Study

61. INFOMED RED SALUD. [en línea] <<http://www.infomed.sld.cu/servicios/estadisticas>> [consulta 7 noviembre 2013]
63. ISOFLAVONES. INFO. Estrógenos y menopausia [en línea] <<http://www.isoflavones.info/es/estrogenos.php>> [consulta: 31 octubre 2013].
64. INSTITUTO NACIONAL DE ESTADÍSTICA DE BOLIVIA.2 Pirámide de población[en línea] INE http://www.ine.es/censos2011_datos/cen11_datos_inicio.htm [consulta: 15 noviembre 2011].
65. JACKSON A., VAYSSIERE B., GARCIA T. 2005. Gene array analysis of Wnt-regulated genes in C3H10T1/2 cells: 36(4): 585–598.
66. JILKA R.L., O'BRIEN C.A., ALI A.A. 2009. Intermittent PTH stimulates periosteal bone formation by actions on post-mitotic preosteoblasts: 44(2): 275-286.
67. JORGENSEN L., ENGSTAD T., JACOBSEN B.K. 2001. Bone mineral density in acute stroke patients: low bone mineral density may predict first stroke in women: 32: 47-51.
68. KIEL D.P. Y WILSON P.W. 2001. Bone loss and the progression of abdominal aortic calcification over a 25 year period: the Framingham Heart Study.
69. KIM G., HAN S., JUNG Y. 2011. Interleukin-10 regulates bone metabolism by suppressing osteoclastogenesis in vivo.
70. KNOPP R.H., ZHU X., LAU J. 1994. Sex hormones and lipid interactions: Implications for cardiovascular disease in women. *The Endocrinologist*: 4: 286-301.
71. KOUSTENI S., ALMEIDA M., HAN L. 2007. Induction of osteoblast differentiation by selective activation of kinase-mediated actions of the estrogen receptor, *Mol. Cell. Biol.* 27(4): 1516-1530.
72. KROGER 8. KROGER H., HEIKKINEME J., LAITINEN K. 1992. Dual energy X ray absorptiometry in normal women: a cross-sectional study of 717 Finnish volunteers. *Osteoporosis Int.*: 2: 135-140.
73. LACEY D.L., TIMMS E., TAN H.L. 1998. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation: 93(2): 165-176.
74. LINDSAY R., 1996. The menopause and Women: *Obstet Gynecol*: 87: 16-1

75. LOBBY A. 1996. Cerebral artery blood flow in relation to age and menopausal status. *Obstetrics & Gynecology*: 88: 106-109.
76. LUEGMAYR E. 2009. Association of coronary artery and aortic calcium with lumbar bone density: the MESA Abdominal Aortic Calcium Study.
77. LUGONES 4. LUGONES M. 2001. Osteoporosis en la menopausia. Prevención y estrategias terapéuticas actuales. *Rev Cubana Obstet Ginecol*: 27(3): 199-204.
78. LUKERT 14. LUKERT B., HIGGINS J., STOSKOP J.M. 1992. Menopausal bone loss is partially regulated by dietary intake of vitamin D: 51: 173-179.
79. LUSIS 52. LUSIS A.J. 2000. Atherosclerosis *Nature*: 407(6801): 233-241.
80. MANOLOGAS c. 30. MANOLOGAS S., KOUSTENI S., CHEN J. 2004. Kinase mediated transcription, activadora of nongenotropic estrogen like signaling and osteoporosis: a different perspective on the HRT dilemma.
81. MARCUS 7. MARCUS R., 2004. Correlates of bone mineral density in the postmenopausal: 1467-1476.
82. MARCUS 36. MARCUS R., GREENDALE G., BLUNT B.A. 1994. Correlates of bone mineral density in the postmenopausal estrogen-progestin intervention trial: 9: 1467-1476.
83. MCFARLANE S.I., MUNIYAPPA R., SHIN J.J. 2004. Osteoporosis and cardiovascular disease: brittle bones and boned arteries, is there a link? *Endocrine*: 23: 1-10.
84. MELTON L.J., CHRISCHILLES E.A., COOPER C. 1992. How many women have osteoporosis?: 7: 1005-1010.
85. MEUNIER 19. MEUNIER P.J., ROUX C., SEEMAN E. 2004. The effects of strontium ranelate on the risk of vertebral fracture in women with postmenopausal osteoporosis: 350(5): 459-468.
86. MIRANDA 9. MIRANDA C., BERTERRECHE A., ESTRELLA A. 2002. Densitometría ósea en el climaterio femenino. ¿Estudio de rutina o de elección?: 40(2): 68-75. [en línea] <<http://www.scielo.edu.uy/pdf/ago/v40n2/art04.pdf>> [consulta: 12 de mayo de 2011].

87. MURPHY M.G., CERCHIO K., STOCH S.A. 2005. Effect of L-000845704, an alphaVbeta3 integrin antagonist, on markers of bone turnover and bone mineral density in postmenopausal osteoporotic women: 90(4): 2022–2028.
88. NAVARRO D. Y NICOLAU O. 2005. Terapia hormonal y calidad del hueso. Rev Cubana Endocrinol: 16(2). [en línea] <<http://www.scielo.sld.cu/pdf/end/v16n2/end03205.pdf>> [consulta: 28 noviembre 2012].
89. NAVARRO D.A., CÉSPEDES I.C., DÍAZ C. 2008. Estilos de vida y salud ósea en mujeres de edad mediana. Rev Cubana Endocrinol: 19(3). [en línea] <http://bvs.sld.cu/revistas/end/vol19_3_08/end03308.htm> [consulta: 12 de mayo de 2011].
90. NESS J. Y ARONOW W.S. 2006. Comparison of prevalence of atherosclerotic vascular disease in postmenopausal women with osteoporosis or osteopenia versus without osteoporosis or osteopenia: 97(10): 1427-1428.
91. NILAS L. Y CHRISTIANSEN C. 1987. Bone mass and its relationship to age and the menopause: 65: 987-702.
92. NORDIN B., NEED A.G., CHATTERSON B.E. 1985. The relative contributions of age and years since menopause to postmenopausal bone loss: 70: 83-88.
93. NOTELOVITZ M. 1997. Menopause in Women: the EVOS study. Osteoporosis Int.: 7: 175-189.
94. O.M.S. 1. 35. O.M.S. 1994. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. WHO technical report.
95. OLSON B. 1995. Estrogen and coronary artery disease in postmenopausal women. American Journal of Medicine: 99: 117-118.
96. ORUETA R. 2010. Interpretación de la densitometría ósea: 36(1): 27-30.
97. PACIFICI R., BROWN C., PUSCHECK E. 1991. Effect of surgical menopause and estrogen replacement on cytokine release from human blood mononuclear cells. Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A: 88(12): 5134–5138.
98. PAISZ L.G. Y ROLDAN G.A. 2003. Pathogenesis of osteoporosis. Endocrinol Metab Clin: 32: 15-24.

99. PALACIOS S. 2006. Menopausia y osteoporosis. Actualizaciones en osteoporosis: 55-6
100. PEACOCK M., TURNER C.H., ECONS M.J. 2002. Genetics of osteoporosis. *Endocr Rev.*: 23: 303-326.
101. PENNISI P., SIGNORELLI S.S., RICCOBENE S. 2004. Low bone density and abnormal bone turnover in patients with atherosclerosis of peripheral vessels. *Osteoporosis Int.*: 15(5): 389-392.
102. PEÑA A. 2006. Prevención general de la osteoporosis papel de la dieta y del ejercicio. Actualizaciones en osteoporosis: 43-66.
103. PERONI A., ZINI A., BRAGA V. 2008. Drug-induced morphea: report of a case induced by balicatib and review of the literature: 59(1): 125-129.
104. PRESTWOOD, PILBEAM C.C., BURLESON J.A. 1994. The short term effects of conjugated estrogen on bone turnover in older women: 79: 366-371.
105. RACKLEY C.E. 1995. Estrogen and coronary artery disease in postmenopausal women. *American Journal of Medicine*: 99: 117-118.
106. RAISZ L.G., WIITA B., ARTIS A. 1966. Comparison of the effects of estrogen alone plus androgen on biochemical markers of bone formation and resorption in postmenopausal women: 81: 37-43.
107. RANNEVICK G., JEPPSSON S., JOHNELL O. 1995. A longitudinal study of the perimenopausal transition: altered proliferos steroid and pituitary hormones, SHBG and bone mineral density: 21: 103-113.
108. RIGSS B.L., WAHNER H.W., DUNN W.L. 1986. Rates of bone loss in the apendicular and axial skeleton of women: evidence of substantial vertebral bone loss before menopause: 77: 1487-1491.
109. RAPURI P., GALLAGHER J., HAYNATZKE G. 2004. Endogenous levels of serum estradiol and sex hormone binding globulin determine bone mineral density, bone remodeling, the rate of bone loss, and response to treatment with estrogen in elderly women: 89: 4954-4962.
110. RECKER 13. RECKER R.R., LAPPE J.M., DAVIES K.M. 1992. Change in bone mass immediately before menopause: 7: 857-862.

111. REDDY J., BILEZIKIAN J.P., SMITH S.J. 2008. Reduced bone mineral density is associated with breast arterial calcification. *Clin Endocrinol Metab*: 93(1): 208-211.
112. REGINSTER J.Y., SEEMAN E., DE VERNEJOU M.C. 2005. Strontium ranelate reduces the risk of nonvertebral fractures in postmenopausal women with osteoporosis: Treatment of Peripheral Osteoporosis (TROPOS) study: 90(5): 2816-2822.
113. RIGGS B.L., SUNDEEP K., MELTON J. 2002. Sex steroids and the construction and conservation of the adult skeleton. *Endocr Rev.*: 23: 279-302.
114. RIGGS B.L. Y MELTON L.J. 1992. The prevention and treatment of osteoporosis: 327: 620-627.
115. RODRÍGUEZ 18. RODRÍGUEZ J.A., VALDIVIA G., TRINCADO P. 2007. Fracturas vertebrales, osteoporosis y vitamina D en la posmenopausia. Estudio en 555 mujeres en Chile. *Rev Med Chile*: 135(1): 31-6.
116. RUCKLE b. 41. RUCKLE J., JACOBS M., KRAMER W. 2009. Single-dose, randomized, double-blind, placebo-controlled study of ACE-011 (ActRIIA-IgG1) in postmenopausal women: 24(4): 744-752.
120. SALUD PÚBLICA. DISEÑOS EPIDEMIOLÓGICOS.42 [en línea] <http://www.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid> [consulta: 6 agosto 2013].
121. SÁNCHEZ 37. SÁNCHEZ J., ONATRA W., VILLEGAS J.G. 1997. Correlación entre el índice de masa corporal y densidad mineral ósea en mujeres pre y postmenopáusicas: 3: 89-92.
122. SÁNCHEZ 8. SÁNCHEZ L. 1997. Correlación entre el índice de masa corporal y densidad mineral ósea en mujeres postmenopáusicas.
123. SARDUY 12. SARDUY M., LUGONES M., MANZANO B. 2007. Consenso Cubano sobre Climaterio y Menopausia.
124. SCHLEMMER A. Y HASSAGER C. 1999. Acute fasting diminishes the circadian rhythm of biochemical markers of bone resorption. *Eur.J.Endocrinol*: 140(4): 332-337.
125. SCHULZ. 2004. *Journal Bone and Mineralization*: 89: 4246-425

126. SEIBEL M.J., ROBINS S.P., BIBLEZIKIEN J.P. 1992. Urinary pyridium cross-linkes of collagen specific markers of bone resorption in metabolism bone disease: 3: 263-270.
127. SHIELE F., ARTHUR Y., FLANCH A. 2003. Total tartrate-resistant and tartrate-inhibited acid phosphatases in serum: biological variations and reference limits. Clin. Chem.: 34: 685-690.
128. SMALL R.S. 2005. Uses and limitations of bone mineral density measurements in the management of osteoporosis: 7(2): 3-9.
129. STEPON J.J., POSPICHELL J., SCHEIBER V. 1989. The application of plasma tartrate-resistant acid phosphatase to assess changes in bone resorption in response to artificial menopause and its treatment with estrogen or norethisterone: 45: 237-280.
130. SULLIVAN J.M., VANDER SWAAG R., LEMP G.F. 1988. Postmenopausal estrogen use and coronary atherosclerosis. Int. Med: 108: 358-362.
131. TAGUCHI G.L., NAKAYAMA C.O., MINAGUCHI H. 1997. Specific changes of urinary excretion of cross-linked N-telopeptides of type Y collagen in pre and postmenopausal women: correlation with other markers of bone turnover. Calcif Tissue Int.: 60: 317-322.
132. TAKANO T., LI Y.J., KUKITA A. 2011. Mesenchymal stem cells markedly suppressed inflammatory bone destruction in rats with adjuvant-induced arthritis.
133. TAMAKI J., HIRANO Y., SATO Y. 2008. Low bone mass is associated with carotid atherosclerosis in postmenopausal women: The Japanese Population-based Osteoporosis (JPOS) Cohort Study.
134. TAXEL P., KANEKO H., LEE S.K. 2008. Estradiol rapidly inhibits RANKL expression in bone marrow cultures in postmenopausal women: a pilot study: 19(2): 193-199.
135. TORGERSON D.J., DONALDSON C., REID D.M. 1996. Bone mineral density measurements: are they worth while? Soc Med: 89: 457-61.
136. TSAI K.S., CHEN W.C., SÁNCHEZ T.V. 1977. Bone densitometry of proximal femur in Chinese subjects: gender differences in bone mass and bone areas Bone: 20: 365-369.

- 137.UEBELHART D., GINEYTS E., CHAPUY M. 1990. Urinary excretion of pyridinium crosslinks: a new marker of metabolic bone disease: 8: 87-96. [en línea] <<http://www.reumauruguay.org/osteoporosis/capitulo11.htm>> [consulta: 10 septiembre 2012].
138. URIZA G. 2000. Menopausia. “Guía de la Práctica Clínica basada en la Evidencia”. Asociación Colombiana de Facultades de Medicina-ASCOFAME: 2: 141-150.
139. VOGT M.T., SAN VALENTIN R., FORREST K.Y. 1997. Bone mineral density and aortic calcification: the study of osteoporotic fractures: 45: 140-145.
140. 51. VON SAALFELD, K. 2011. Disminuya sus Niveles de Triglicéridos [en línea] <<http://www.geosalud.com/Nutricion/colesterol.htm>> [consulta: 16 agosto 2013].
141. WARBURTON D.E., NICOL C.W., BREDIN S.S. 2006. Health benefits of physical activity: the evidence: 174: 801-809.
141. WEITZMANN M. Y PACIF R. 2006. Estrogen deficiency and bone loss: an inflammatory tale: 116(5): 1186-1194.
142. WITZTUM J.L. 1994. The role of oxidize LDL in atherosclerosis: 4: 15-25

ANEXOS

ANEXO N° 1

FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Las pacientes participantes en este estudio, serán beneficiadas mediante la determinación de del Perfil lipídico, Hormonal y Óseo, sin costo alguno; para determinar el Índice Aterogénico y la dinámica de Remodelado óseo y de esta manera detectar alteraciones en los mismos y de aportar a que se tomen medidas preventivas de inmediato, para evitar la progresión de patologías asociadas.

No se presentan riesgos de ningún tipo para el paciente ya que la muestra de sangre será obtenida por personal capacitado. Además que la primera orina de la mañana que se requiere es de fácil recolección y no invasivo.

Una vez culminado el estudio, los resultados obtenidos serán reportados y entregados a las participantes en el estudio.

Asimismo el paciente podrá solicitar su retiro de este estudio, cuándo así lo decida sin importar la causa.

Yo (nombre y apellido)..... mayor de edad con
CI.....de profesión.....Domiciliado en la zona
.....de
la ciudad de La Paz.

En mi calidad de paciente ambulatorio; según convenga a mis intereses de salud, me comprometo en forma VOLUNTARIA sin que medie presión alguna, a realizar las siguientes actividades:

Toma de muestra de sangre en ayunas y entrega de la primera orina de la mañana en el siguiente horario.....

Para constancia del Compromiso Voluntario, firmo al pie del presente.

.....
FIRMA

ANEXO N° 2

FORMULARIO DE REGISTRO DEL PACIENTE

**DETERMINACIÓN DEL PERFIL LIPIDICO, OSEO Y HORMONAL EN
MUJERES POSTMENOPAUSICAS**

INSTRUCCIONES: Llenar el presente formulario con letra imprenta y en mayúsculas, tener especial cuidado con los valores numéricos. En aquellas respuestas con opciones escritas encerrar en un círculo la respuesta elegida.

1. Nombre de la Paciente:.....
2. EDAD: años cumplidos
3. Fecha de nacimiento:
4. Teléfono:
5. FUM (Fecha de la última menstruación):
6. Tiempo en años desde la menopausia:
7. Tratamiento con fármacos hipolipemiantes y/o terapia de reemplazo hormonal
Si: Cuales?
No:
8. Cursa actualmente con alguna enfermedad coronaria por otra causa no asociada a la post menopausia?

RESPONSABLE:.....FIRMA

VoBo RESPONSABLE DE LABORATORIO.....

FECHA:...../...../.....

ANEXO 3

INSTRUCCIONES AL PACIENTE PARA LA TOMA DE MUESTRA

Preparación del paciente:

- La paciente deberá presentarse en el INSTITUTO SELADIS a horas 8: 00 am en ayuno de 12 a 14 horas, evitando la ingesta de alimentos ricos en grasas por lo menos 24 horas antes de la toma de muestra.
- La obtención de la muestra se realizará por venopunción de la región antecubital, especialmente de la mediana basílica. Se realiza siguiendo las técnicas de bioseguridad respectivas.
- Deberá recolectar la primera o segunda orina de la mañana, en un frasco estéril, después de realizarse previamente el aseo de la región genital.

ANEXO 4

MATERIALES Y REACTIVOS

Reactivos:

Perfil lipídico: Los reactivos a utilizar son de la línea comercial TECO DIAGNOSTICS y consta de lo siguiente:

- Reactivo de trabajo para colesterol
- Standard de colesterol
- Reactivo de trabajo para triglicéridos
- Standard de triglicéridos
- Reactivo precipitante para HDL-colesterol
- Stándard de HDL-colesterol.

Perfil Óseo: Los reactivos a utilizar son de la línea comercial OSTEO MARK y MICROVUE, los cuales constan de lo siguiente para: BAP, OC, CICP, TRAP, NTx y PYD.

- Kit para 96 ensayos
- Cinco Calibradores A-E, Control bajo liofilizado purificada de hueso humano, con sales amortiguadoras y estabilizadores
- Control alto
- Solución de parada
- Buffer de lavado
- Anticuerpo anti-la hormona específica
- Sustrato
- Conjugado enzimático

Hormonas: Los reactivos a utilizar son de la línea comercial MONOBIND los cuales constan de lo siguiente para (LH, FSH y ESTRADIOL)

- Kit para 96 ensayos
- Seis Calibradores A-F, liofilizados, concentraciones en Certificado de análisis purificada de hueso humano, con sales amortiguadoras y estabilizadores
- Control bajo liofilizado purificada de hueso humano, con sales amortiguadoras y estabilizadores
- Controle alto liofilizado purificada de hueso humano, con sales amortiguadoras y estabilizadores
- Tiras recubiertas
- Solución de parada NaOH 0,5 N
- Tampón de lavado 55 ml

- Detergente no iónico en una solución tamponada con azida sódica (0,05 %) como conservante
- Anticuerpo anti-el marcador específico monoclonal murino purificado en una solución tamponada con detergente no iónico, estabilizadores y azida sódica (0,05 %) como conservante
- Pastillas de sustrato : Fosfato de p-nitrofenil
- Conjugado enzimático

Equipos:

- Analizador químico semi-automático Teco Diagnostics TC-84
- Lector de ELISA AWARENESS
- Shaker o mezclador automático (Awareness)
- Centrifugadora “Eppendorf”
- Baño maría “Menamert”
- Cronómetro
- Micropipetas

ANEXO 5

PROCEDIMIENTOS REALIZADOS EN EL LABORATORIO PARA LA DETERMINACION DEL PERFIL LIPIDICO, MARCADORES OSEOS Y HORMONAS EJE GONADAL FEMENINO

PERFIL LIPIDICO

Técnica manual: Se Realizar la serie analítica de la siguiente manera

Colesterol total:

	Blanco	Standard	Pool	Suero control	Muestra
Reactivo	1 ml	1 ml	1ml	1 ml	1ml
Standard		10 uL			
Pool			10 uL		
Suero Control				10 uL	
Muestra					10 uL

Pre-incubar el reactivo durante 2 minutos a 37 °C, posteriormente añadir las muestras, y controles, mezclar e incubar 10 minutos a 37°C. Leer contra blanco reactivo.

Triglicéridos:

	Blanco	Standard	Pool	Suero control	Muestra
Reactivo	1 ml	1 ml	1ml	1 ml	1ml
Standard		10 uL			
Pool			10 uL		
Suero Control				10 uL	
Muestra					10 uL

Pre-Incubar el reactivo durante 4 minutos a 37 °C, posteriormente añadir las muestras y controles, mezclar e incubar 5 minutos a 37°C. Leer contra blanco reactivo.

HDL-colesterol:

- En tubos de hemólisis pipetear 100 uL del reactivo precipitante con 100 uL pool del pool de sueros y muestras.
- Incubar 15 minutos a temperatura ambiente y centrifugar a 3500 rpm durante 15 minutos para obtener el sobrenadante.

Proceder de la siguiente manera con el reactivo de colesterol:

	Blanco	Standard	Pool	Muestra
Reactivo	1 ml	1 ml	1 ml	1 ml
Standard		10 uL		
Pool (sobrenadante)			20 uL	
Muestra (sobrenadante)				20 uL

Pre-incubar el reactivo de colesterol 2 minutos a 37°. Posteriormente añadir las muestras y el control de precisión. Mezclar e incubar 10 minutos a 37°C.

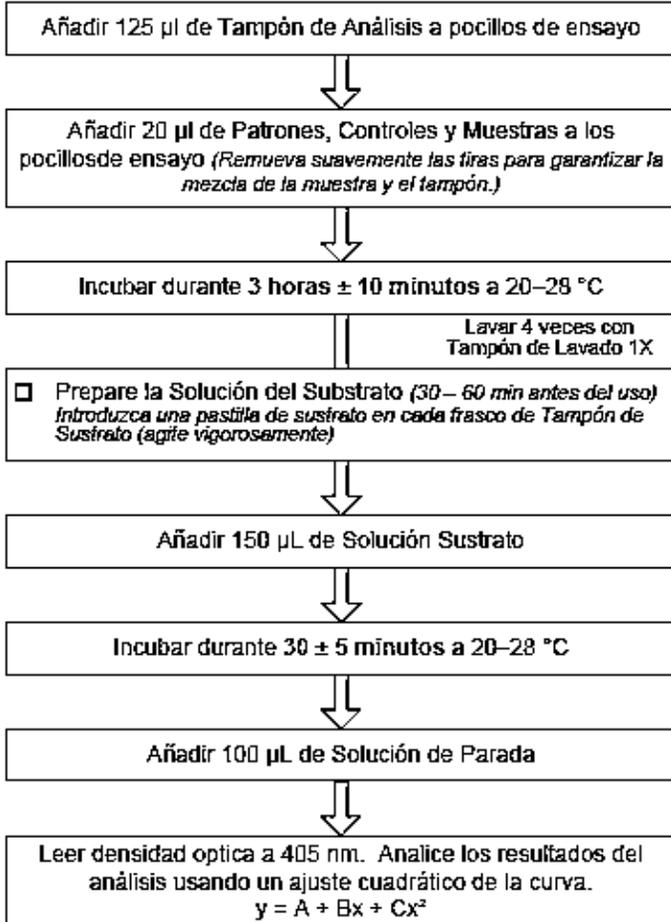
MARCADORES BIOQUIMICOS DE FORMACION ÓSEA.

FOSFATASA ALCALINA ÓSEA: Enzimo-inmunoanálisis para la cuantificación de la fosfatasa alcalina específica de los huesos (Bone-specific Alkaline Phosphatase-BAP) en suero humano

Preparación del Reactivo y de la Muestra

- Diluya el Tampón de Lavado 10X con agua desionizada en una proporción 1:10.

Procedimiento de ensayo

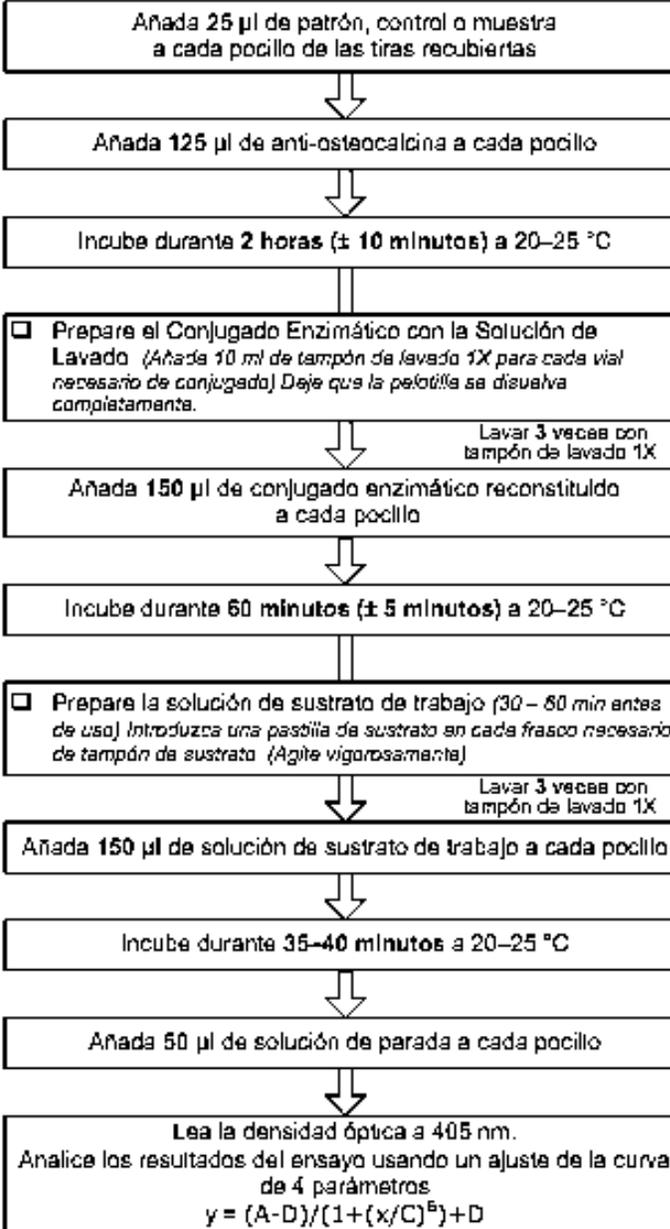


OSTEOCALCINA: Enzimo-inmunoensayo para la cuantificación de la osteocalcina intacta en muestras de suero o plasma.

Preparación del Reactivo y de la Muestra

- Prepare el tampón de lavado 1X (Diluya el tampón de lavado 10X en una proporción de 1:10 con agua desionizada)
- Reconstituya los patrones y controles con 0,5 ml de tampón de lavado 1X (No deben permanecer a 20–25 °C por más de 2 horas)

Procedimiento de ensayo

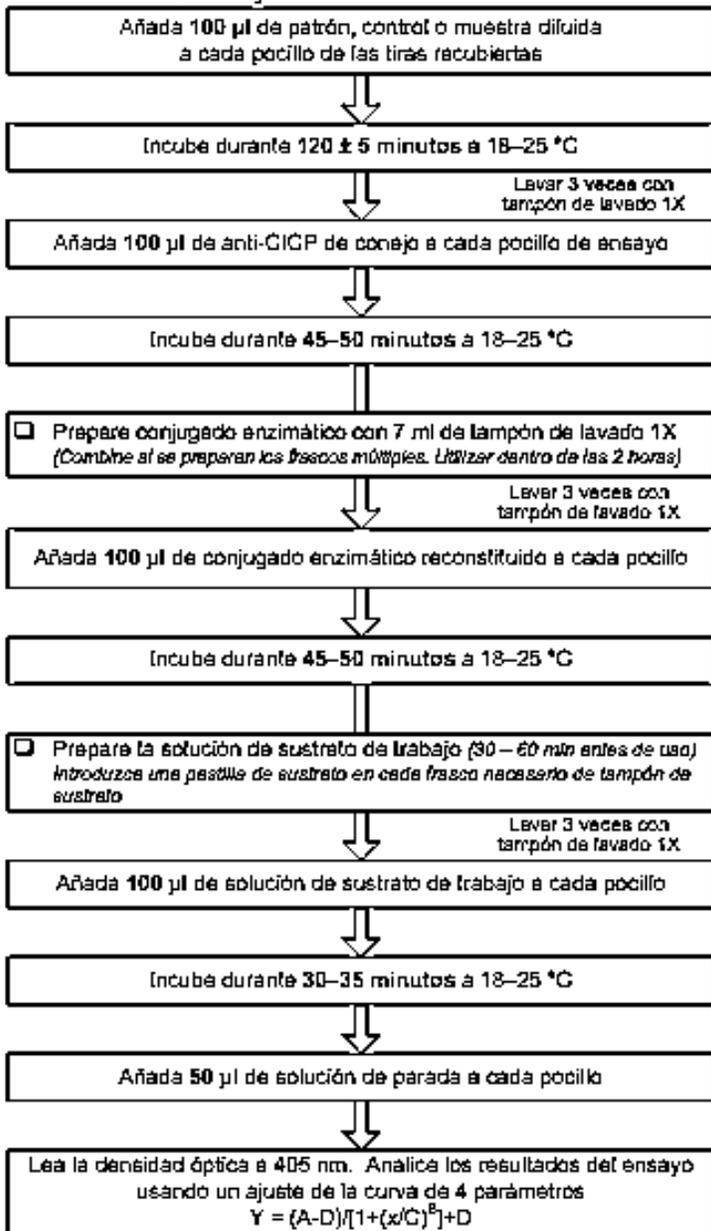


PROPEPTIDO C-TERMINAL DEL COLAGENO TIPO I: Enzimo-inmunoensayo para la medición cuantitativa del propéptido C-terminal del colágeno tipo I (CICP) en suero.

Preparación del Reactivo y de la Muestra

- Diluir el tampón de lavado 10X en una proporción de 1:10 con agua desionizada
- Diluya las muestras de suero en una proporción de 1:12 con tampón de ensayo (por ejemplo, 25 µl de suero + 275 µl de tampón de ensayo)

Procedimiento de ensayo



MARCADORES BIOQUIMICOS DE RESORCION OSEA

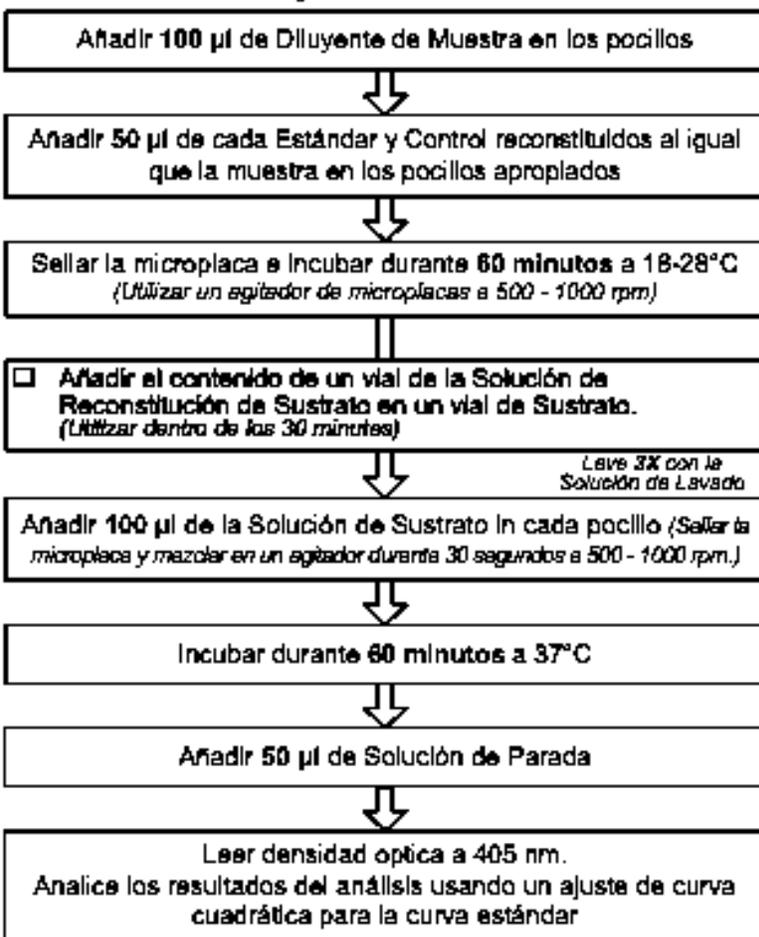
FOSFATASA ACIDA: Enzimo-inmuno ensayo para la determinación de la isoforma 5b de la fosfatasa ácida resistente a tartrato en suero humano

Preparación del Reactivo y del Control

- Reconstituir cada Estándar con 400 µl de agua desionizada (destilada). (Deben ser utilizados en 2 horas)
- Reconstituir cada Control con 400 µl de agua desionizada (destilada). (Deben ser utilizados en 2 horas)
- Diluir la 10X Solución de Lavado 1:10 con agua desionizada (destilada).

NOTA: Mezclar a fondo con la pipette; no haga el vórtice.

Procedimiento de ensayo

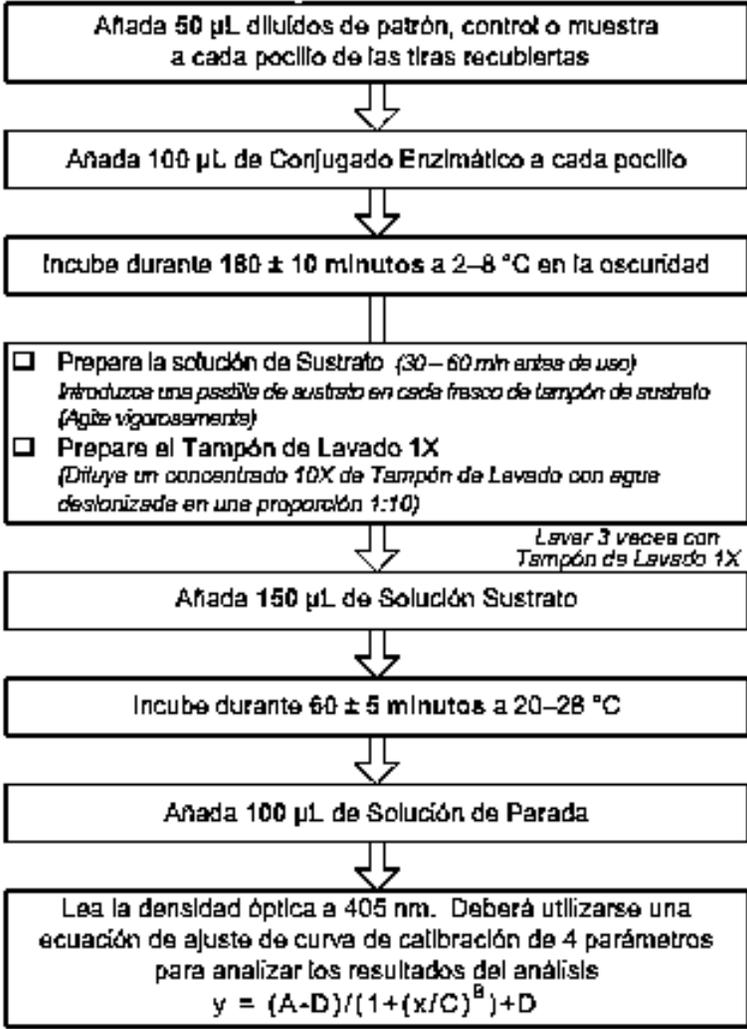


PIRIDINOLINAS: Enzimo-inmunoanálisis para la cuantificación de los enlaces cruzados de piridinio (PYD) en orina humana.

Preparación el Reactivo y de la Muestra

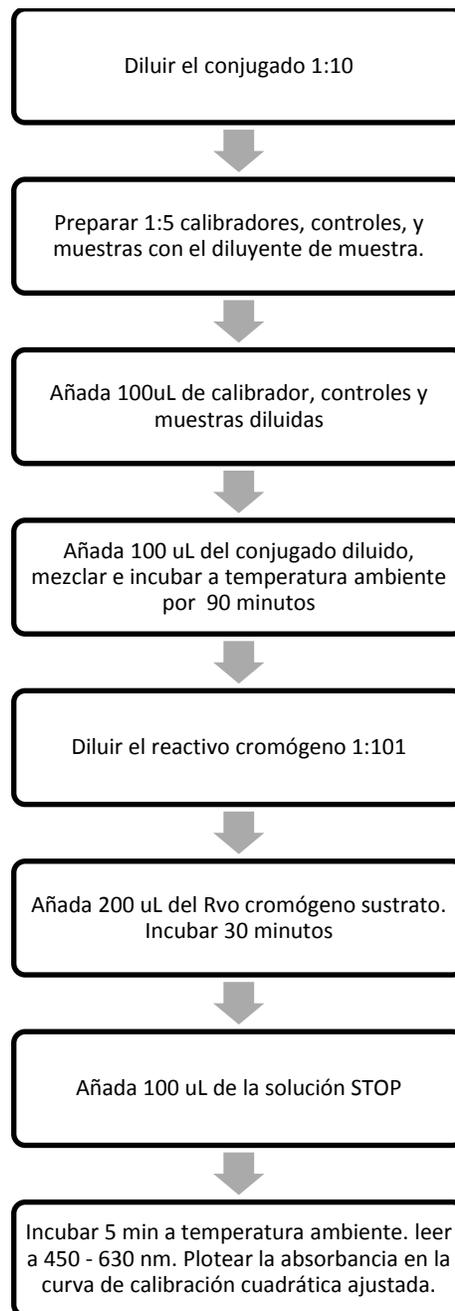
- Prepare el Conjugado Enzimático con Tampón de Análisis; lo conservar a 2 a 8 °C. (7 ml de Tampón de Análisis fría para cada vial de Conjugado Enzimático.)
- Diluya las Muestras, los Patrones y los Controles en una proporción 1:10 con Tampón de Análisis (por ej. 50 µl de Muestra + 450 µL de Tampón de Análisis)

Procedimiento de ensayo



—

N-TELOPÉPTIDOS DEL COLÁGENO TIPO I (NTx): Enzimo-inmunoanálisis para la cuantificación de enlaces de colágeno tipo I en suero.



HORMONAS DEL EJE GONADAL FEMENINO:

LH

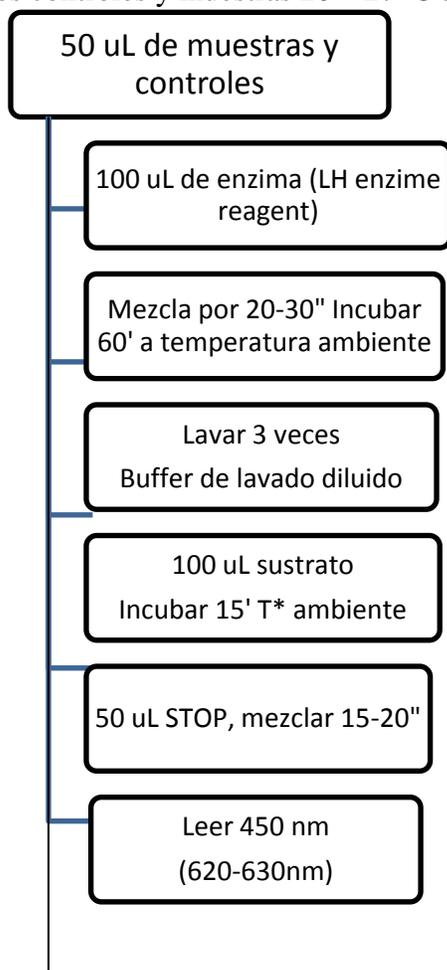
REACTIVOS:

- Calibradores: (A-F) 1ml/vial
- Enzima Reactivo LH: 13ml/vial
- Solución de lavado concentrada: 20ml
- Sustrato A (TMB)/ Sustrato B (H₂O₂)
- Solución stop: HCl 1N

MONOBIND
ELISA: TIPO
SANDWICH

MUESTRA: Suero

Atemperar reactivos controles y muestras 20 – 27°C antes del procesamiento.



CALCULOS Y RESULTADOS: Para determinar la concentración de LH de una muestra desconocida, interpolar la absorbancia de la muestra, en la curva de calibración obtenida para hallar la concentración en U/ml

ESTRADIOL

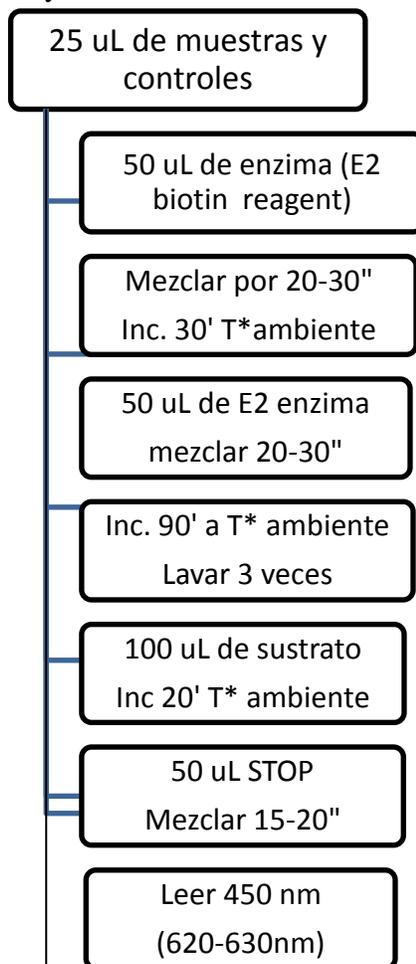
REACTIVOS:

- Calibradores: (A-G) 1ml/vial
- Enzima Reactivo ESTRADIOL: 13ml/vial
- Solución de lavado concentrada: 20ml
- Sustrato A (TMB)/ Sustrato B (H₂O₂)
- Solución stop: HCl 1N

MONOBIND
ELISA:
COMPETITIVO

MUESTRA: Suero

Atemperar reactivos controles y muestras 20 – 27°C antes del procesamiento.



CALCULOS Y RESULTADOS: Para determinar la concentración de Estradiol de una muestra desconocida, interpolar la absorbancia de la muestra, en la curva de calibración obtenida para hallar la concentración en pg/ml

FSH

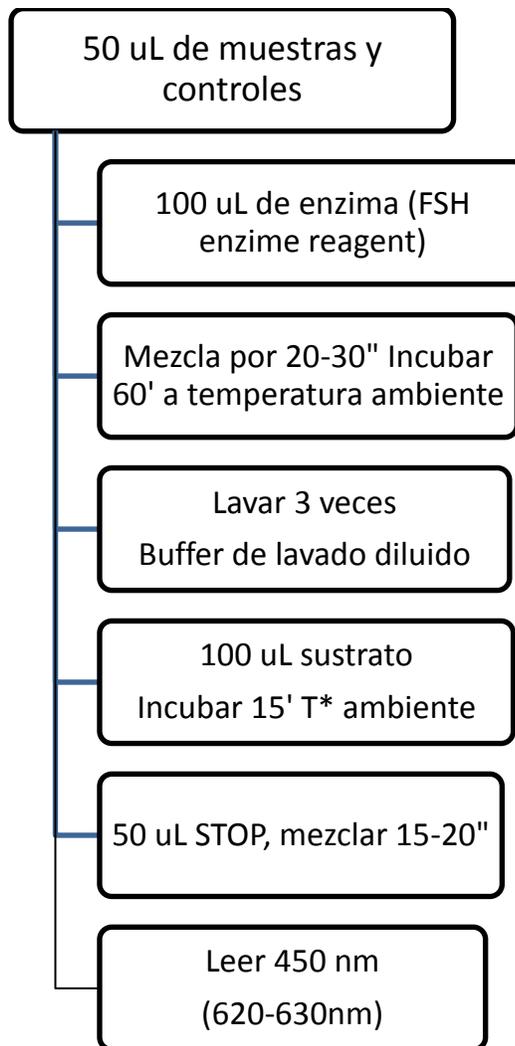
MONOBIND
ELISA: TIPO
SANDWICH

REACTIVOS:

- Calibradores: (A-F) 1ml/vial
- Enzima Reactivo FSH: 13ml/vial
- Solución de lavado concentrada: 20ml
- Sustrato A (TMB)/ Sustrato B (H₂O₂)
- Solución stop: HCl 1N

MUESTRA: Suero

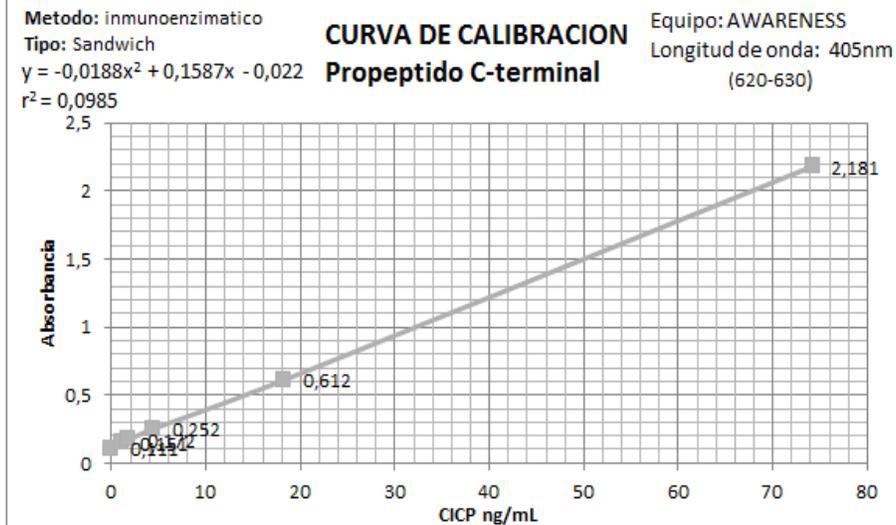
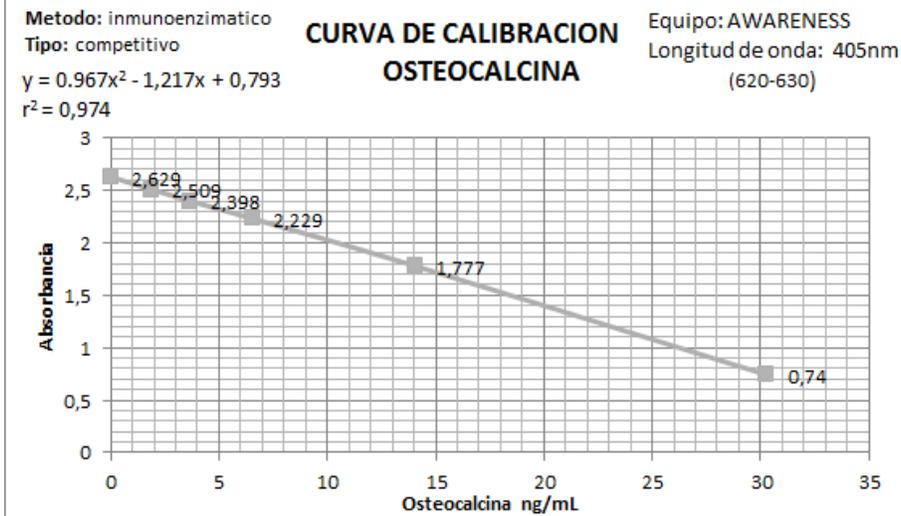
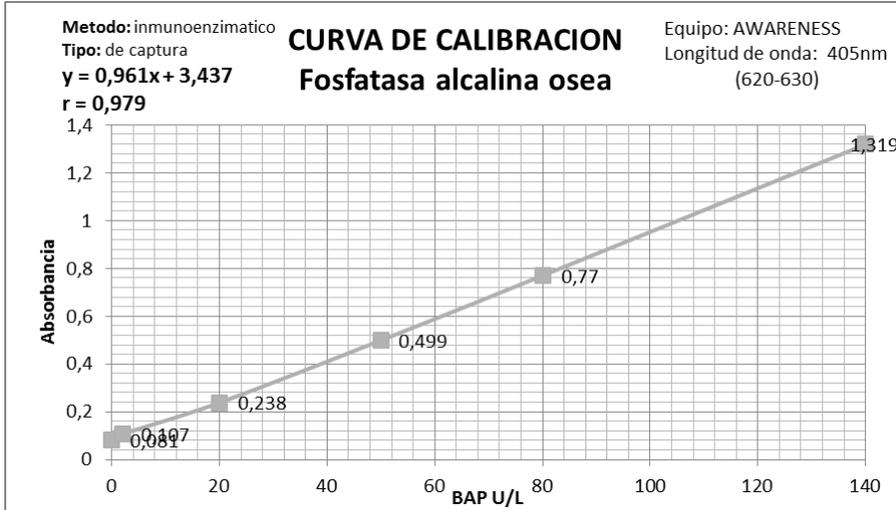
Atemperar reactivos controles y muestras 20 – 27°C antes del procesamiento.

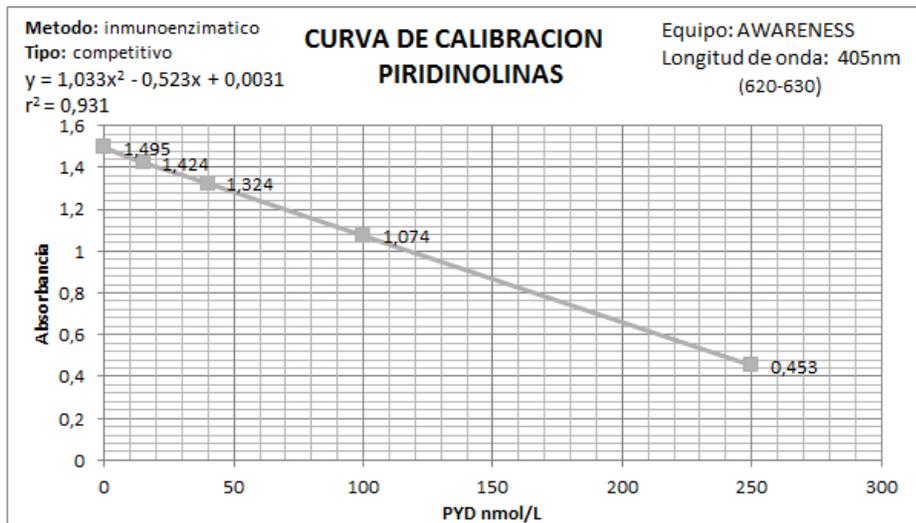
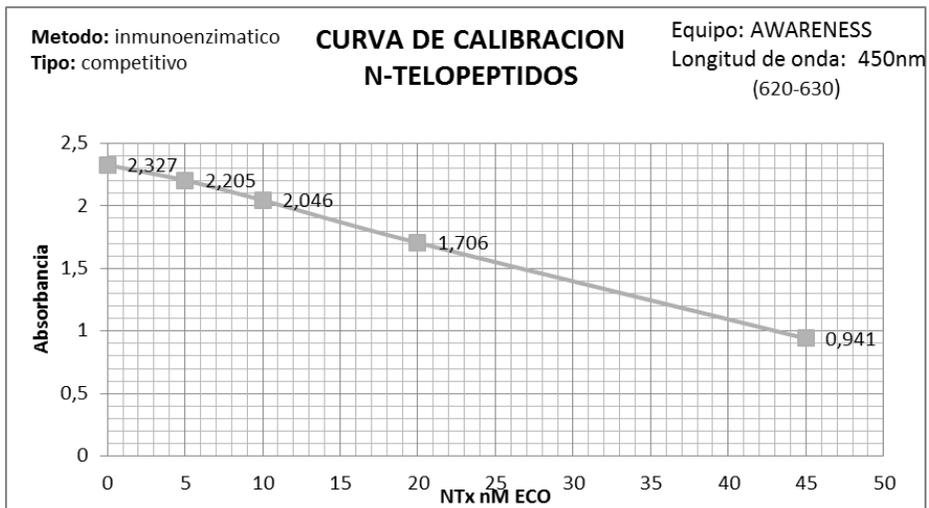
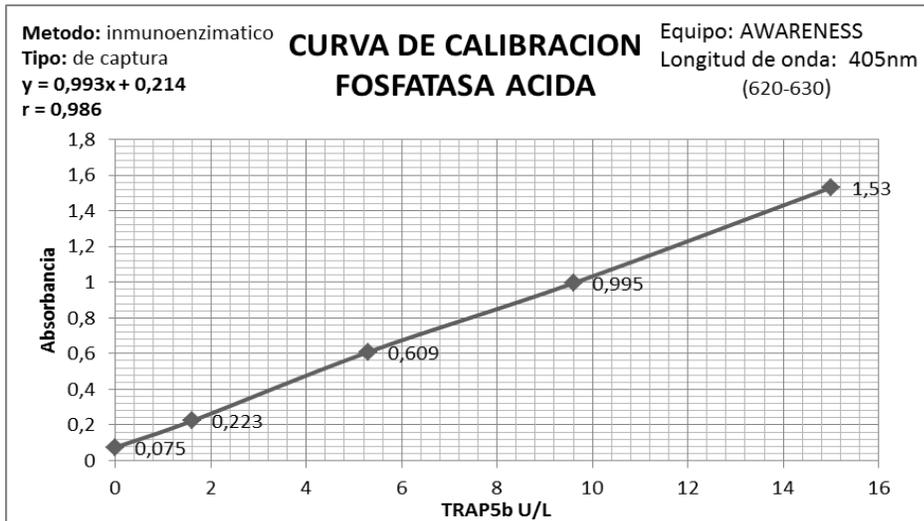


CALCULOS Y RESULTADOS. Para determinar la concentración de FSH de una muestra desconocida, interpolar la absorbancia de la muestra, en la curva de calibración obtenida para hallar la concentración en U/ml

ANEXO 6

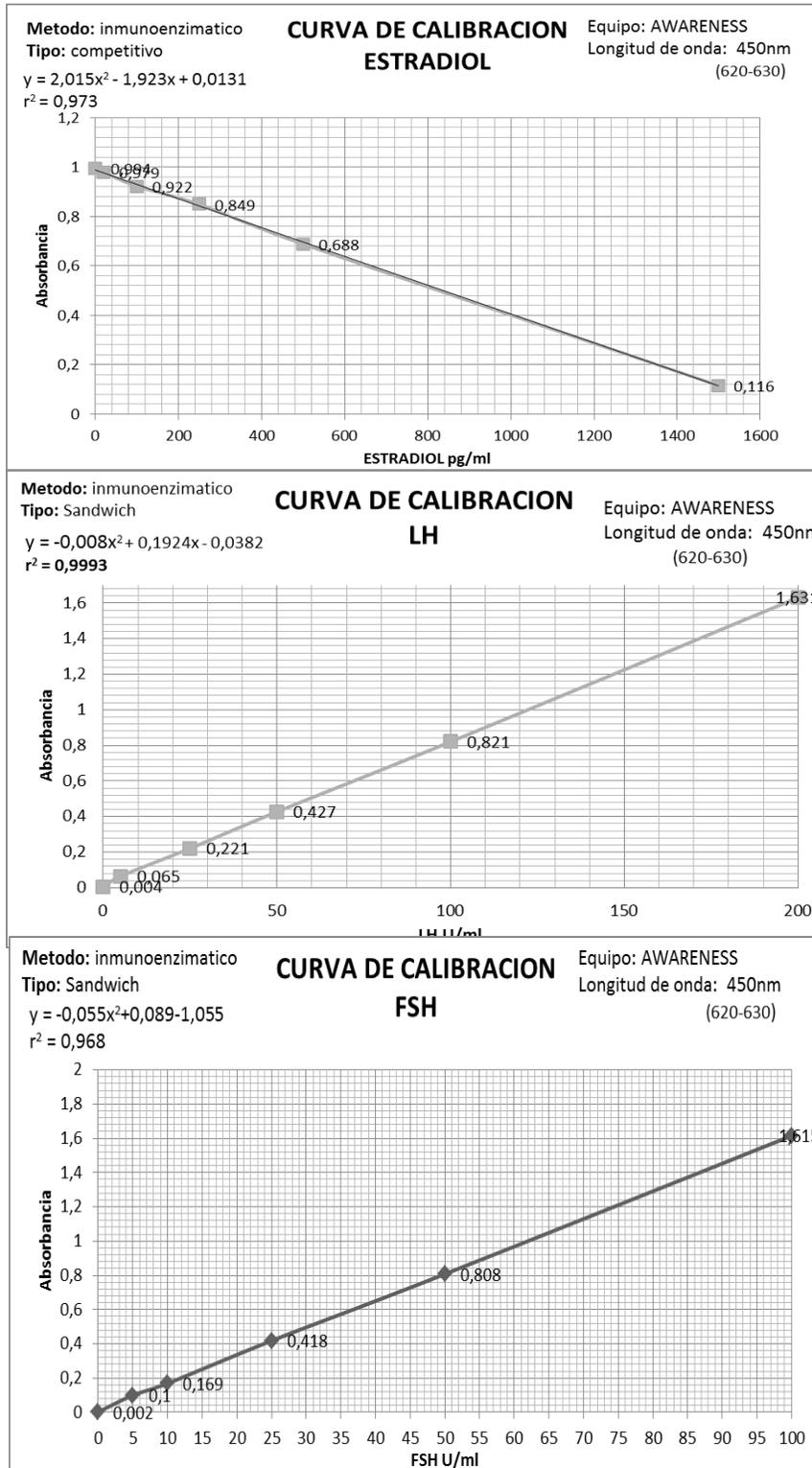
CURVAS DE CALIBRACION DE LOS MARCADORES OSEOS





ANEXO 7

CURVAS DE CALIBRACION DE LAS HORMONAS



ANEXO 8

CRITERIOS DE CALIDAD DE CONFIABILIDAD DEL METODO

- **Perfil lipídico**

COLESTEROL	HDL-COLESTEROL	TRIGLICERIDOS
X = 176.15	X = 43.45	X = 143.6
DS = 6.79	DS = 1.76	DS = 7.02
CV = 3.9%	CV = 4.05%	CV = 4.9%
Lineal hasta 750 mg/dl	Lineal hasta 125 mg/dl	Lineal hasta 1000 mg/dl

- **Marcadores de formación ósea**

BAP	OSTEOCALCINA	CICP
X = 25	X = 16.5	X = 28.1
CV = 7.6%	CV = 8.0%	CV = 7.2%
Lineal hasta 140 U/L	Lineal hasta 30 ng/ml	Lineal hasta 74 ng/ml

- **Marcadores de resorción ósea**

TRAP	NTx	PYD
X = 3.8	X = 10.5	X = 26.6
CV = 3.0%	CV = 8.9%	CV = 9.9%
Lineal hasta 15 U/L	Lineal hasta 45 nM ECO	Lineal hasta 250 nmol/l

- **Hormonas del eje gonadal femenino**

ESTRADIOL	LH	FSH
X = 245.5	X = 15.4	X = 16.0
CV = 9.7%	CV = 4.2%	CV = 3.0%
Lineal hasta 1500 pg/ml	Lineal hasta 200 U/ml	Lineal hasta 100U/ml

ANEXO 9

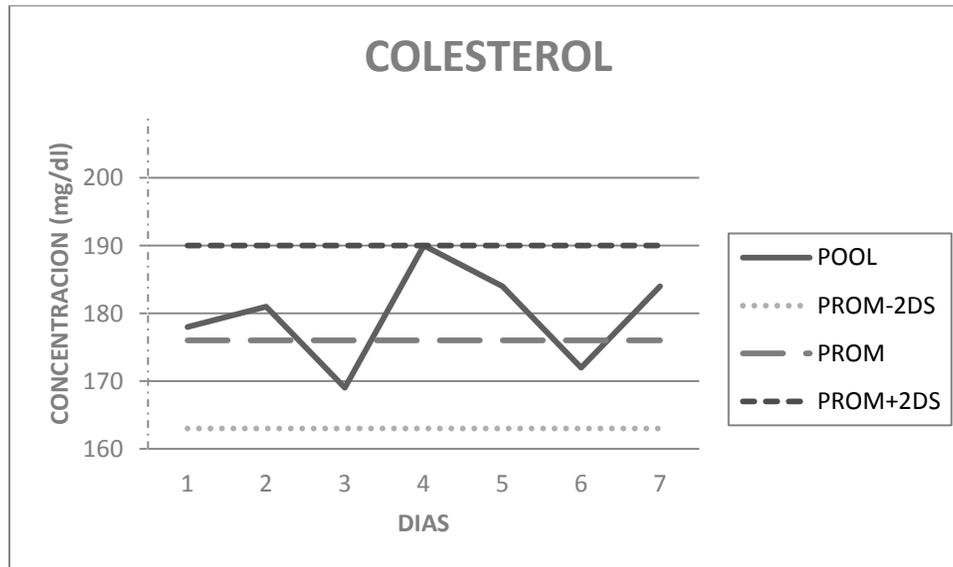
GRAFICAS DEL CONTROL DE PRECISION DE: "SHEWART-JENNIGS LEVI"

COLESTEROL

METODO ENZIMATICO

Longitud de onda: 520nm

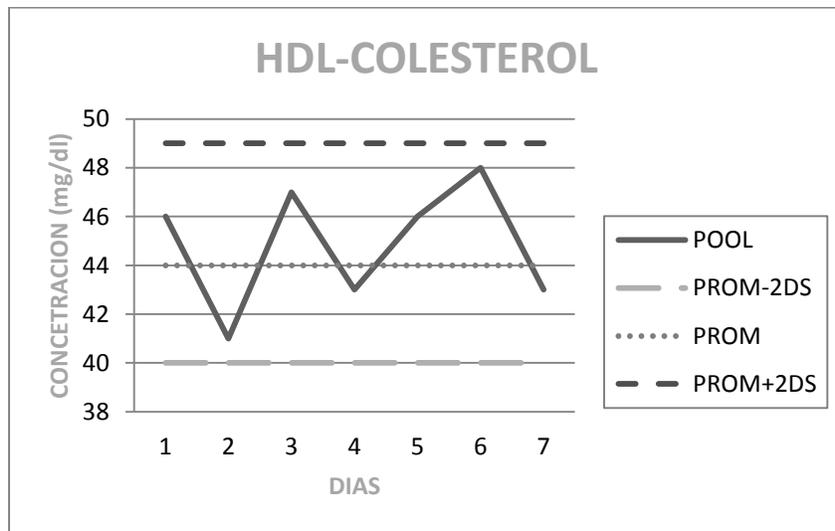
POOL	PROM-2DS	PROM	PROM+2DS
178	163	176	190
181	163	176	190
169	163	176	190
190	163	176	190
184	163	176	190
172	163	176	190
184	163	176	190



HDL-COLESTEROL

METODO ENZIMATICO
Longitud de onda: 520nm

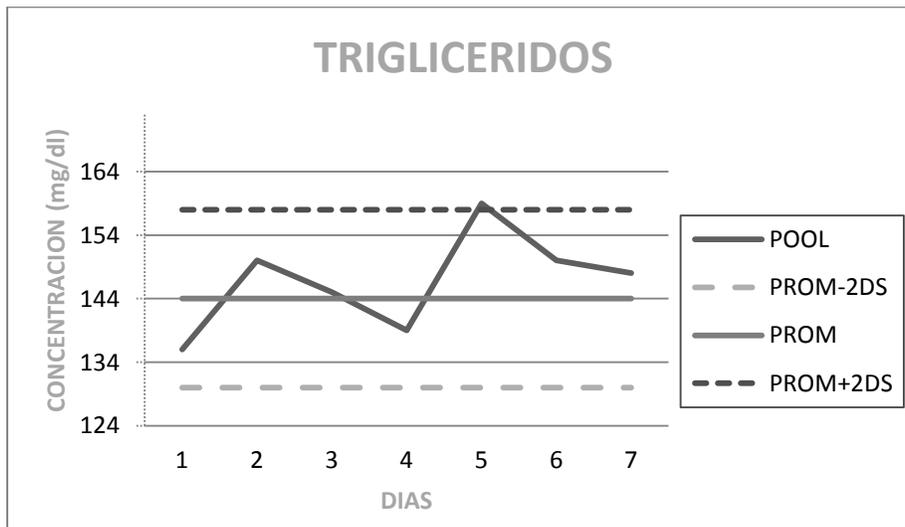
POOL	PROM-2DS	PROM	PROM+2DS
46	40	44	49
41	40	44	49
47	40	44	49
43	40	44	49
46	40	44	49
48	40	44	49
43	40	44	49



TRIGLICERIDOS

METODO ENZIMATICO
Longitud de onda: 520nm

POOL	PROM-2DS	PROM	PROM+2DS
148	130	144	158
150	130	144	158
145	130	144	158
148	130	144	158
159	130	144	158
150	130	144	158
148	130	144	158



ANEXO 10

VALORES DEL CONTROL DE PRECISION Y EXACTITUD DE LOS PARAMETROS DEL PERIFL LIPIDICO

	ESTÁNDAR	CONTROL DE PRECISION +/-2DS	CONTROL DE EXACTITUD	% EXACTITUD VT -VH/ VT
Colesterol	0.286	173	230	96%
Rango	(0.271- 0.325)	(163 – 190)	(192 a 288)	
Triglicéridos	0.391	136	147	90%
Rango	(0.370-0.420)	(130 – 158)	(132 a 198)	
HDL-colesterol	0.060	47	-	-
Rango	(0.052-0.065)	(40 – 49)		

VALORES DE LOS CONTROLES ALTOS, BAJOS, CALIBRADORES Y CONTROLES INTERNOS DE LOS MARCADORES OSEOS DE FORMACION

VALORES DE LOS CONTROLES	BAP	OSTEOCALCINA	CICP
Control Alto (KIT)	46 U/L	53 ng/ml	109 ng/ml
Control Alto hallado	41.3 U/L	48.7 ng/ml	96 ng/ml
Control bajo (KIT)	8.0 U/L	2.1 ng/ml	10.1 ng/ml
Control Bajo hallado	6.6 U/L	1.8 ng/ml	9.1 ng/ml
Calibrador (KIT)	Cal F: DO mayor a 1	Cal A: DO mayor a 0.8	Cal F: DO mayor a 0.8
Calibrador hallado	Cal F: DO = 1.328	Cal A: DO = 0.895	Cal F: DO = 0.996
Rango control interno*	11.6 - 29.6 U/L	3.8 – 30 ng/ml	19 – 69 ng/ml
Control interno hallado*	21.9 U/L	15.6 ng/ml	45 ng/ml

VALORES DE LOS CONTROLES ALTOS, BAJOS, CALIBRADORES Y CONTROLES INTERNOS DE LOS MARCADORES OSEOS DE RESORCION

VALORES DE LOS CONTROLES	TRAP	NTx	PYD
Control Alto (KIT)	9.6 U/L	31.3 nM ECO	59.6 nmol/l
Control Alto hallado	8.9 U/L	28.6 nM ECO	56.3 noml/l
Control bajo (KIT)	2.2 U/L	7.1 nM ECO	9.9 noml/l
Control Bajo hallado	1.8 U/L	7.0 nM ECO	10.6
Calibrador (KIT)	Cal E: DO mayor a 1	Cal E: DO mayor a 0.8	Cal A: DO mayor a 0.8
Calibrador hallado	Cal E: DO = 1.530	Cal E: DO = 0.941	Cal A: DO = 1.495
Rango control interno*	2.8 – 5.8 U/L	6.2 – 19 nM ECO	16 – 37 nmol/l
Control interno hallado*	3.1 U/L	8.6 nM ECO	22.3 nmol/l

*El control interno está constituido por mujeres en edad fértil, cuyo valor hallado se encuentra dentro del rango de la normalidad establecido para cada marcador óseo.

VALORES DE LOS CONTROLES Y CALIBRADORES DE LAS HORMONAS DEL EJE GONADAL FEMENINO

VALORES DE LOS CONTROLES	ESTRADIOL	LH	FSH
Control Nivel I (KIT)	148	15.1	19.5
Control Nivel I hallado	139	14.8	17.4
Calibrador (KIT)	Cal A: DO mayor a 1.3	Cal F: DO mayor a 1.3	Cal F: DO mayor a 1.3
Calibrador hallado	Cal A: DO = 2.105	Cal F: DO = 1.631	Cal F: DO = 1.615