

Marcadores bioquímicos del metabolismo óseo

Biochemical markers of bone metabolism

Leonardo FRANCO¹. Mario ORTIZ².

1. Odontólogo. Residente de Ortodoncia, Escuela de Odontología, Universidad del Valle. 2. Odontólogo. Magister en Ciencias Básicas Médicas. Residente de Ortodoncia, Escuela de Odontología, Universidad del Valle.

RESUMEN

Los marcadores de remodelado óseo brindan valiosa información sobre los continuos procesos a los que se ve sometido este tejido a través del tiempo y de los estímulos.

La cantidad y calidad del tejido óseo dependen de la renovación por generación de nuevo hueso (aposición) mediada por osteoblastos y la pérdida (resorción) mediada por osteoclastos. Para cada uno de estos procesos se encuentran marcadores que en su mayoría pueden ser medidos en suero o en orina.

Los marcadores de resorción son productos metabólicos del proceso de degradación de la matriz ósea en especial la del colágeno tipo I (hidroxiprolina, piridinolina y deoxipiridinolina). Además la actividad resorptiva también se puede evaluar por medio de la fosfatasa ácida resistente al tartrato TRAP y por la proporción calcio-creatinina en orina. Los marcadores de formación ósea son proteínas colágenas (ALP, OCN), no colágenas (ONC, OPN, BSP) ó fragmentos de la síntesis de colágeno (péptidos de procolágeno).

Palabras clave: Hueso, metabolismo, re-

modelación ósea, osteocalcina, propéptidos de colágeno.

SUMMARY

The quantity and quality of bone tissue renewal are dependent on the generation of new bone (deposition) mediated by osteoblasts and the loss (resorption) mediated by osteoclasts. For each of these processes there are important markers that can be measured in serum or urine.

Resorption markers are products of metabolic degradation of bone matrix in particular of the type I collagen (hydroxyproline, pyridinoline and deoxypyridinoline). In addition, the resorptive activity can also be evaluated through the tartrate resistant acid phosphatase (TRAP) and calcium-creatinine ratio in urine. Bone formation markers are collagen proteins (ALP, OCN), non collagen (ONC, OPN, BSP) or fragments of collagen synthesis (procollagen peptides).

Key words: Bone, metabolism, bone remodeling, osteocalcin, collagen propeptides.

INTRODUCCIÓN

El hueso es un tejido dinámico que requiere constante remodelación con el fin de mantener sus características estructurales, mecánicas y morfológicas.

Esta remodelación es un proceso fisiológico que se encarga de la resorción de hueso seguida de la neoformación. Las células encargadas de este proceso incluyen las

asociadas al proceso de formación: los osteoblastos y las células encargadas de la resorción: los osteoclastos. El balance entre la actividad de estos dos grupos celulares determina las condiciones del tejido óseo; así, un aumento en la actividad osteoblástica en relación con la osteoclástica permite un aumento en la masa ósea, que en condiciones patológicas puede llevar a Osteopetrosis.

En el mismo orden de ideas, el desbalance a favor de la actividad osteoclástica lleva a la disminución de la masa ósea. Por lo tanto, el control de la actividad de ambos grupos celulares es de vital importancia para el adecuado funcionamiento del hueso (1-3).

Si bien la estructura y la fortaleza del hueso son difíciles de medir in vivo, la masa ósea puede ser evaluada a través de pruebas de densitometría ósea. Estas medidas estáticas evalúan las características de cantidad de tejido mineralizado pero no brindan una información decisiva sobre las proporciones de la remodelación ósea. En este sentido, las pruebas bioquímicas que utilizan marcadores moleculares para detectar los cambios en la actividad catabólica y anabólica del tejido óseo, se convierten en una herramienta útil para evaluar los procesos de aposición y resorción del tejido óseo en el organismo.

El objetivo del presente artículo es presentar una revisión de tema acerca de los diferentes marcadores moleculares que se usan para evaluar la actividad metabólica ósea en los seres humanos.

Recibido para publicación: Agosto 26 de 2009.
Aceptado para publicación: Marzo 11 de 2010.
Correspondencia:
M. Ortiz, Universidad del Valle.
(e-mail: mariortiz@yahoo.com)

MARCADORES DE FORMACIÓN ÓSEA

El remodelado óseo es un proceso complejo en el cual interactúan una gran variedad de elementos. El remodelado es básicamente el resultado de la interacción de dos fenómenos: el primero es la producción de hueso nuevo, que es llevado a cabo por los osteoblastos y un segundo proceso que es la resorción de hueso la cual es realizada por los osteoclastos. De esta manera, la masa ósea depende del equilibrio entre dichos procesos, es decir, del ritmo del recambio óseo (1,2). El remodelado óseo se evidencia con la presencia de ciertos marcadores bioquímicos en el suero y en la orina ya que son producto de la actividad en el tejido óseo (2). En contraste, las mediciones de masa ósea y las radiografías proporcionan un cuadro estático respecto a un sitio específico del esqueleto.

Las mediciones de estos marcadores bioquímicos del remodelado óseo se han utilizado en las pasadas dos décadas como instrumentos valiosos para la valoración de pacientes que presentaban enfermedades metabólicas óseas (3,4).

Los marcadores de remodelado óseo se emplean en la investigación clínica en grupos de pacientes que son tratados con nuevos medicamentos para determinar sus mecanismos de acción y monitorizar sus efectos sobre el remodelado óseo (4-6). Todos los marcadores comúnmente empleados para medir la formación ósea se evalúan en muestras de suero o de orina (6-8).

Fosfatasa Alcalina en Suero (ALP)

La fosfatasa alcalina fue introducida en el medio clínico en 1929, fue el primer marcador bioquímico del remodelado óseo y permanece como uno de los más ampliamente usados en la práctica clínica. Esta enzima se encuentra en las membranas plasmáticas de los osteoblastos, de las células del hígado, del riñón, del bazo y de la placenta. En adultos normales, cerca de la mitad de la fosfatasa alcalina en suero proviene del

hueso. Dependiendo del metabolismo de cada tipo celular en particular, han encontrado diferencias en los niveles de fosfatasa alcalina a nivel citoplasmático. Si bien se han logrado desarrollar inmunoensayos relativamente específicos para la fosfatasa alcalina ósea, aún existe reactividad cruzada de más del 20% entre el hueso y las enzimas hepáticas (6,9). En pacientes con osteoporosis y otras alteraciones se pueden producir incrementos en la actividad de fosfatasa alcalina por a varias razones:

- Aumento en la actividad de recambio óseo; por lo general sucede después de la menopausia, momento en el cual se incrementan aproximadamente al doble los niveles de actividad de fosfatasa alcalina (4,7).
- La disminución de la mineralización ósea del recién nacido prematuro, también denominada osteopenia o enfermedad ósea metabólica del prematuro, es una enfermedad de incidencia creciente. La evolución de la osteopenia en la mayoría de los casos es subclínica y puede dar síntomas tardíos, que, por lo general, se acompañan con fracturas patológicas. De ahí la importancia que adquiere un diagnóstico temprano en la medida en que mejora la sobrevivencia de los recién nacidos de muy bajo peso al nacer. La medición de las fosfatasas alcalinas en el suero representa un método sensible y de uso clínico más generalizado como elemento de apoyo diagnóstico (10).
- Las fracturas u otras alteraciones localizadas que afectan metabolismo óseo también pueden elevar los niveles de la fosfatasa alcalina (11). Los niveles de actividad de fosfatasa alcalina en pacientes con osteoporosis generalmente supera por dos veces el límite superior normal del rango de referencia (7). Algunas alteraciones patológicas que igualmente pueden elevar los niveles de la actividad de la fosfatasa alcalina son la enfermedad de Paget y la osteomalacia (11) aunque algunas enfermedades hepáticas también pueden provocar incremen-

tos de dicha fosfatasa (12). Algunos investigadores han trabajado en el mejoramiento de las pruebas en cuanto a la confiabilidad de la medición de la fosfatasa en mención mediante el empleo de pruebas específicas para la fracción ósea de la fosfatasa alcalina (B-ALP) Esta se ha convertido en una prueba rápida y sencilla para la valoración de pacientes con altos niveles en la actividad de remodelado óseo y se ha empleado en una amplia cantidad de estudios clínicos controlados en relación con fármacos antiresortivos para el tratamiento de la osteoporosis (11,13).

Osteocalcina

La osteocalcina es una proteína característica del hueso y la dentina. Es la proteína no-colágena más abundante en la masa ósea. Dentro de sus funciones está la de regular la homeostasis del calcio, al inhibir la precipitación de fosfato y del calcio, lo cual evita la excesiva mineralización de la matriz ósea. La osteocalcina es producida por el osteoblasto, y luego de su síntesis, la mayor parte se incorpora a la matriz extracelular del hueso. Sin embargo, una fracción es liberada a la circulación donde puede ser medida en orina, una evaluación ampliamente usada como índice de formación del hueso (2,14,15). La osteocalcina sérica se incrementa en condiciones asociadas con aumento del remodelado óseo, como en el hiperparatiroidismo primario o secundario y en la enfermedad de Paget. Los niveles séricos de osteocalcina generalmente son un buen indicador del remodelado óseo. En casos como la osteoporosis posmenopáusica, donde la resorción y la formación se encuentran desacopladas, los niveles de osteocalcina sirven como marcador de formación ósea (16).

Péptidos de Procolágeno

El colágeno tipo 1 es el componente más abundante de la matriz ósea (2). Durante la síntesis de colágeno y como resultado de la unión de moléculas de procolágeno,

algunos fragmentos de péptidos de las terminaciones amino y carboxilo son liberados a la circulación. Los productos fraccionados de este proceso son el PICP y el PINP. Estas extensiones de péptidos de procolágeno tipo I pueden ser detectadas por radioinmunoanálisis, proceso mediante el cual se reconoce la terminación carboxilo de los péptidos liberados y se refleja la cantidad de matriz ósea sintetizada. Aunque estos propéptidos también se sintetiza en la piel, en los tendones, en los ligamentos, en la córnea, en los vasos sanguíneos, en el fibrocartilago y en muchos otros tejidos, su fuente principal es el hueso. Se piensa que el nivel de cada uno de los propéptidos en sangre refleja la cantidad de colágeno recientemente sintetizado (11) y debido a que aún no se han establecido en el laboratorio correlaciones definitivas entre fragmentos de pro-colágeno y formación ósea, este marcador no han alcanzado un suficiente desarrollo como para sea actualmente una alternativa a la osteocalcina o la B-ALPA (17).

Otras Proteínas no Colágenas de la Matriz Ósea

Además de la osteocalcina, en la matriz ósea se han identificado otras proteínas no-colágenas. Algunas de ellas son glicoproteínas fosforiladas y participan en procesos regulación y mineralización (2).

Dentro de estas proteínas no-colágenas se encuentran la sialoproteína ósea (BSP), la osteonectina (ONC) y la osteopontina (OPN). La BSP es sintetizada por los osteoblastos y se deposita en la capa de nuevo tejido osteoide. Se ha sugerido que cumple una función en la regulación del remodelado óseo. La osteopontina y la osteonectina pueden ser sintetizadas por los osteoblastos, pero también están presentes en otros tejidos conectivos. La osteopontina funciona como una proteína de adhesión al permitir la interacción célula-matriz (incluyendo la hidroxiapatita de la matriz inorgánica) y célula-célula. De esta manera participa durante la resorción osteoclástica, posiblemente a través de la mediación del

proceso de fijación de los osteoclastos a la superficie de la fase mineral.

Los primeros ensayos clínicos con BSP sugieren que puede ser empleada como marcador de resorción ósea (18,19)

MARCADORES DE RESORCIÓN

Los marcadores de resorción son productos metabólicos del proceso de degradación de la matriz ósea, en especial del colágeno tipo I. Adicionalmente, existen otros marcadores como la Fosfatasa Ácida Resistente al tartrato (TRAP) y la proporción calcio-creatinina en orina (19).

En 2001, Delmas propuso una clasificación para los marcadores bioquímicos, posición avalada por el Comité de Asesores Científicos de la Fundación Internacional de Osteoporosis (20). En esta clasificación, los marcadores de resorción se organizan dependiendo de su origen metabólico en: 1. Productos de actividad osteoclástica (TRAP); 2. productos de degradación de matriz inorgánica (calcio urinario); y 3. productos de degradación de la matriz orgánica (hidroxiprolina, piridínolona, telopéptidos N terminal de colágeno tipo I). Como se planteó con anterioridad, estos marcadores pueden ser medidos en orina o en plasma sanguíneo (2,6,11).

Fosfatasa Ácida Resistente al Tartrato (TRAP)

Corresponde a la familia de las fosfatasas ácidas, de la cual son conocidas al menos cinco isoformas. Estas isoformas son expresadas en diferentes tejidos de diversos órganos como el hueso, la próstata, el bazo y en células específicas como los eritrocitos y los osteoclastos (19). Las fosfatasas ácidas se inhiben por acción del L-tartrato, excepto la isoforma 5, denominada tartrato resistente (TRAP) una forma típica del osteoclasto (6,7).

En la actualidad, la mayoría de los ensayos para medir TRAP en el plasma sanguíneo usan colorimetría. El problema con esta

forma de medición radica en que los ensayos enzimáticos no son específicos debido a la presencia de diferentes isoformas que alteran los resultados de medición espectrofotométrica (22-24). Sin embargo, se han desarrollado inmunoensayos específicos para detectar la isoforma b de la TRAP como un marcador indicativo de la actividad osteoclástica (25). Hallen *et al* (26) estudiaron la utilidad de la isoforma 5b de TRAP en el seguimiento de la terapia antiresortiva en mujeres postmenopausicas y encontraron que presentaba una buena actividad como marcador bioquímico en el 87% de las mujeres tratadas, en comparación con la efectividad de un 27% al medir TRAP total.

La utilidad de TRAP 5b debe ser estudiada a más profundidad para establecer correlación con procesos biológicos de resorción y con otros marcadores bioquímicos (9,11).

Calcio Urinario

La determinación de calcio en orina de 24 horas o en orina de dos horas referida a la creatinina, es una determinación sencilla y de muy bajo costo, pero poco sensible. Se ve afectada por la dieta y la función renal (23). Esto es debido a que fisiológicamente los niveles de calcio en suero se encuentran controlados por la PTH y su absorción intestinal y la excreción renal son controladas por la Vitamina D. Por esta razón, el calcio medido en orina puede marcar la actividad osteolítica, pero carece de sensibilidad (27).

La relación calcio/creatinina es un marcador barato poco específico que se usa para detectar la presencia de hipercalcemia (> 0,11mg Ca/mg creatinina) Sin embargo la influencia de la dieta, la función renal y las hormonas reguladoras pueden afectar sus niveles (23).

Hidroxiprolina

La hidroxiprolina se forma intracelularmente por hidroxilación de la prolina y constituye aproximadamente entre el 12 y el 14% del total de los aminoácidos del co-

lágono maduro (28). El 90% de la Hidroxiprolina es liberada durante la degradación del colágeno óseo, es metabolizada por el hígado y excretada por vía renal. Esta última permite su medición a través de métodos colorimétricos o inmunoensayo en muestras de orina (6,9).

Esta forma de medición hace de la hidroxiprolina la prueba más antigua de resorción ósea (11). Sin embargo, es considerada una prueba que carece de especificidad para la resorción ósea debido a que puede ser afectada por la síntesis de nuevo colágeno (6), alteraciones en la función hepática (11), la dieta (22,23) y el metabolismo de la elastina (27,28). Por estas razones y por el desarrollo de nuevas técnicas más específicas, su uso ha sido relegado.

Enlaces Cruzados (Cross-links) de Colágeno: Piridinolina y Deoxipiridinolina

La piridinolina es uno de los primeros productos intermedios de la formación de enlaces cruzados que pudieron ser identificados (29) durante la maduración del colágeno. Estos enlaces intermedios se encargan de estabilizar la molécula de colágeno tipo I y han sido aislados en hueso y cartilago (20,29,30). La deoxipiridinolina es una forma modificada de la piridinolina y se encuentra casi exclusivamente en hueso y dentina (16,30).

Durante la resorción ósea los enlaces cruzados se rompen proteolíticamente y su eliminación no es afectada por la formación de nuevo hueso (31). La excreción de piridinolina y deoxipiridinolina no es afectada por la dieta (32). La deoxipiridinolina se considera el mejor marcador de la resorción ósea (16,29-31) e inicialmente era medido en orina a partir de cromatografía de partición (13). En la actualidad es posible realizar su detección de manera automatizada (11).

CONCLUSIONES

La evaluación de la actividad metabólica del tejido óseo y su capacidad de remo-

delación es de importancia notoria en la valoración del metabolismo óseo de los pacientes en ciencias de la salud. Existen diferentes métodos de evaluación bioquímica del metabolismo óseo para determinar la actividad anabólica y catabólica del tejido óseo, pero las diferentes técnicas bioquímicas presentan diferentes niveles de error.

Los marcadores más efectivos para medir la resorción son la deoxipiridinolina y la piridinolina, y para medir la formación ósea es la fosfatasa alcalina ósea (BALP).

REFERENCIAS

1. Diaz-Diego EM, Diaz-Martin MA, De la Piedra C, Rapado A. Lack of correlation between levels of osteocalcin and bone alkaline phosphatase in healthy control and postmenopausal osteoporotic women. *Horm Metab Res* 1995; 27:151-14.
2. Raisz L. Physiology and Pathophysiology of Bone Remodeling. *Clinical Chemistry*. 1995; 45:1353-1358.
3. Vasikaran S, Glendening P, Morris HA. The Role of Biochemical markers of Bone Turnover in Osteoporosis Management in Clinical Practice. *Clin Biochem Rev*. 2006; 27:119-121.
4. Lim LS. Screening for Osteoporosis in the Adult U.S. Population ACPM Position Statement on Preventive Practice. *Am J Prev Med* 2009; 36(4):366-375
5. Binkley N, Ringe J. Alendronate/vitamin D3 70 mg/2800 IU with and without additional 2800 IU vitamin D3 for osteoporosis: Results from the 24-week extension of a 15-week randomized, controlled trial. *Bone* 2009; 44:639-647.
6. Seibel MJ. Biochemical Markers of Bone Turnover Part I : Biochemistry and Variability. *Clin Biochem Rev*. 2005; 26: 97-122.
7. Molina F. Marcadores Bioquímicos de Remodelado Óseo. *Revista de Metabolismo mineral*. 2003; 1:91-98.
8. Henning W. Comparison of total and bone-specific alkaline phosphatase in patients with nonskeletal disorders or metabolic bone diseases. *Clinical Chemistry*. 1996; 42: 1796-1804.

9. Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover for the clinical assessment of metabolic bone disease. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1990; 19:1-19.
10. Roman A, Wilson N. Fosfatasas alcalinas en el estudio de la osteopenia del prematuro. *Rev Chil Pediatr* 1993; 64: 359-363.
11. Singer F, Eyre DR. Using biochemical markers of bone turnover in clinical practice. *Cleveland Clinic Journal Medicine*. 2008; 75:739-750
12. Vasikaran S, Glendening P, Morris HA. The Role of Biochemical Markers of Bone Turnover in Osteoporosis Management in Clinical Practice. *Clin Biochem* 2006; 27: 119-121.
13. J Seibel. Biochemical Markers of Bone Turnover Part II : Biochemistry and Variability. *Clin Biochem Rev* 2006; 27: 123-138.
14. Cloos PA, Christgau S. Characterization of aged osteocalcin fragments derived from bone resorption. *Clin Lab* 2004; 50:585-598.
15. Kaisa K. Ivaska. Urinary Osteocalcin Is a Useful Marker for Monitoring the Effect of Alendronate Therapy. *Clinical Chemistry*. 2005; 51:2362-2365.
16. Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover in: Theoretical considerations and clinical use in osteoporosis. *Am J Med* 1993; 95:11S-6S
17. Ebeling PR, Peterson JM, Riggs BL. Utility of type 1 procollagen propetide assays for assessing abnormalities in metabolic bone disease. *J Bone Miner Res* 1992; 7:1243-50
18. Hulthenby K, Reinholt FP, Norgard M, et al. Distribution and synthesis of bone sialoprotein in methaphyseal bone of young rats show a distinctly different patterns from that osteopontin. *Eur J Cell Biol* 1994; 63(2):230-9.
19. Reinholt FP, Hulthenby K, Olberg A, et al. Osteopontin a possible anchor of osteoclast to bone. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:4473-75.
20. Luporini G, Lazaretti-Castro M. Marcadores Bioquímicos da Remodelação Óssea na Prática Clínica. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2002; 46:72-78.

21. Delmas DP. Bone Marker Nomenclature. *Bone*. 2001; 28:575-576.
22. Seibel MJ. Clinical Application of Biochemical Markers of Bone Turnover. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2006; 50:603-620.
23. Farías, R, Rojas S, Sequera M, Martínez D, Ramos J, Riera G. Marcadores bioquímicos de remodelamiento óseo: fosfatasa ácida tartrato resistente (TRAP): fosfatasa alcalina (FAT) y cociente calcio/creatinina urinarios, en menopáusicas aparentemente sanas fumadoras y no fumadoras. *Salus*. 1999; 3:40-47.
24. Capeller B, Caffier H, Sutterlin MW, Dietl J. Evaluation of tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) 5b as serum marker of bone metastases in human breast cancer. *Anticancer Res* 2003; 23:1011-1015.
25. Hannon RA, Clowes JA, Eagleton AC, Al Hadari A, Eastell R, Blumsohn A. Clinical performance of immunoreactive tartrate-resistant acid phosphatase isoform 5b as a marker of bone resorption. *Bone* 2004; 34:187-194.
26. Halleen JM, Alatalo SL, Suominen H, Cheng S, Janckila AJ, Vaananen HK. Tartrate-resistant acid phosphatase 5b: a novel serum marker of bone resorption. *J Bone Miner Res* 2000;15:1337-45.
27. Akesson K. Biochemical markers of bone turnover. *Acta Orthop Scand* 1995; 66:376-386.
28. Rossert J, de Crombrugge B. Type I Collagen Structure, Synthesis, and Regulation. En: Bilezikian JP, Raisz L, Rodan G. *Principles of Bone Biology*. 2 Ed. Orlando: Academic Press; 2002. 189-210.
29. Robins S. Pyridinium cross-links as bone resorption markers. En: Eastell R, Baumann M, Hoyle N, Wiczorek L. *Bone Markers Biochemical and Clinical perspectives*. Londres: Martin Dunitz Ltda; 2001.
30. Robins S, Brady J. Collagen Cross-Linking and Metabolism. En: Bilezikian JP, Raisz L, Rodan G. *Principles of Bone Biology*. 2 Ed. Orlando: Academic Press; 2002.
31. Midtby M, Magnus JH, Joakimsen RM. The Tromsø Study: A Population-Based Study on the Variation in Bone Formation Markers with Age, Gender, Anthropometry and Season in both Men and Women. *Osteoporos Int*. 2001; 12:835-843.
32. Watts N. Clinical Utility of Biochemical Markers of Bone Remodeling. *Clinical Chemistry*. 1999; 45:1359-1368.