

Osteodistrofia de la cirrosis biliar primaria

Núria Guañabens Gay

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

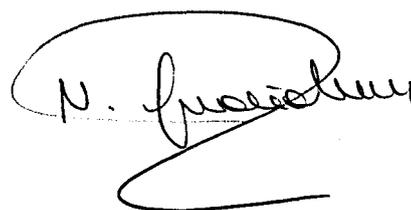
WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

**OSTEODISTROFIA DE LA CIRROSIS
BILIAR PRIMARIA**

TESIS DOCTORAL

Nuria Guañabens Gay

Año 1987

A handwritten signature in black ink, appearing to read "N. Guañabens Gay". The signature is enclosed within a large, hand-drawn oval shape.

*A la memòria de Joaquim Guañabens,
el meu pare.*

*Aquesta tesi és dedicada als doctors Jaume --
Rotés-Querol i Joan Rodés Teixidor, els quals
han influït de forma directe en la meva forma-
ció com a metgessa.*

*Voldria que fos el meu testimoniatge de l'ad-
miració i l'agraïment que sento per ells.*

AGRAIMENTS

Al Dr. Jaume Rotés-Querol per haver acceptat la direcció d'aquesta tesi doctoral.

A tots els meus companys del Servei de Reumatologia de l'Hospital Clínic de Barcelona. Especialment a la Dra. M. Antònia Brancós Cunill, el suport i el consell constants de la qual m'han facilitat de portar a terme aquesta tesi.

Als Drs. Joan Rodés Teixidor i Albert Parés Darnaculleta de la Unitat d'Hepatologia de l'Hospital Clínic de Barcelona. Al Dr. Joan Rodés per haver-me confiat la realització d'aquesta investigació i haver-me facilitat de treballar amb els seus pacients. Al Dr. Albert Parés pel seu ajut valuós i incondicional en el tractament i la interpretació de les dades estadístiques.

Als Drs. Sergi Serrano Figueras i M. Lluïsa Mariñoso Barba del Servei d'Anatomia Patològica de l'Hospital de Nostra Sra. de l'Esperança de Barcelona. Gràcies a la col.laboració i l'assessorament magnífics de la qual ha estat possible la realització de l'estudi histològic de les biòpsies òssies.

Al Dr. Carles Piera Peña del Servei de Medicina Nuclear i a la Dra. Francesca Rivera Fullat del Laboratori de Proves Hormonals de l'Hospital Clínic de Barcelona per la seva participació en la realització de les proves isotòpiques i en les determinacions hormonals incloses en aquest treball.

A la infermeria del Servei d'Hepatologia i a la Srta. Montserrat Julià Canals del Servei de Reumatologia per la seva col.laboració desinteressada.

A tots ells, moltes gràcies.

INDICE GENERAL

<i>JUSTIFICACION Y OBJETIVOS</i>	1
<i>PARTE TEORICA. REVISION BIBLIOGRAFICA</i>	
<u><i>I - Cirrosis biliar primaria. Una visión general de la enfermedad</i></u>	3
- <i>Concepto y Epidemiología</i>	3
- <i>Anatomía Patológica</i>	4
- <i>Patogenia</i>	5
- <i>Consecuencias de la colestasis crónica</i>	7
a). <i>Trastorno del metabolismo de las sales biliares</i>	7
b). <i>Déficit de la excreción biliar de cobre</i>	8
- <i>Clínica</i>	9
- <i>Exámenes de laboratorio</i>	9
- <i>Diagnóstico y Pronóstico</i>	10-11
- <i>Enfermedades asociadas</i>	12
- <i>Tratamiento</i>	13
<u><i>II - Descripción de las enfermedades metabólicas óseas observadas en la cirrosis biliar primaria</i></u>	18
A) <i>Conceptos básicos de histología ósea</i>	19
- <i>Unidades estructurales óseas</i>	19
- <i>Remodelaje óseo</i>	20
- <i>Mineralización ósea</i>	23
B) <i>Osteoporosis</i>	25
- <i>Concepto y clasificación</i>	25-26
- <i>Fisiopatología de la osteoporosis involutiva</i>	26
- <i>Factores implicados en la pérdida de masa ósea</i>	28
- <i>Clínica</i>	32
- <i>Diagnóstico</i>	33

C) Osteomalacia	37
- Concepto y clasificación	37
- Patogenia	38
- Clínica	39
- Diagnóstico	39
D) La biopsia ósea. Su utilidad en la evaluación de la osteoporosis y la osteomalacia	47
- La biopsia ósea	47
- Histomorfometría ósea	48
- Estudio histodinámico	49
- Características histológicas de la osteoporosis	50
- Características histológicas de la osteomalacia	52
E) Factores hormonales que influyen en el remodelaje y la mineralización ósea	54
- Parathormona	54
- Calcitonina	55
- Vitamina D	57
<u>III - Patología ósea asociada a la cirrosis biliar primaria</u>	65
- Recuerdo histórico	65
- Osteomalacia y CBP	65
- Osteoporosis y CBP	67
- Patogenia de la patología ósea asociada a la CBP	68
- Osteomalacia. Metabolismo de la vitamina D	68
- Patogenia de la osteoporosis	72
- Fisiopatología de la osteoporosis	73
PARTE PRACTICA	79
- <u>Pacientes y métodos</u>	80
- Anamnesis y exploración física del aparato locomotor	81
- Radiología ósea	81
- Estudio del grado de colestasis biológica y de la función hepatocelular	82

- Análisis de las determinaciones de bioquímica y hormonales del metabolismo mineral	83
- Pruebas de diagnóstico de malabsorción	86
- Biopsia ósea	88
. Técnica y procesamiento	88
. Estudio histomorfométrico y análisis de la dinámica ósea	94
. Estudio microanalítico del frente de calcificación mediante EDAX	99
- Análisis de los grupos control	100
- Métodos estadísticos	101

- Resultados

1.- Descripción de los pacientes de la serie	102
2.- Antecedentes de fracturas en el esqueleto apendicular	103
3.- Dolor vertebral y alteraciones de la estática de columna	103
4.- Alteraciones en la radiología ósea de la columna vertebral	103
5.- Análisis de los parámetros bioquímicos de colestasis y función hepatocelular	104
6.- Metabolismo mineral: parámetros bioquímicos y hormonales	104
7.- Análisis de las pruebas de diagnóstico de malabsorción	104
8.- Análisis del estudio a microscopía óptica de las biopsias óseas	104
9.- Resultados del estudio histomorfométrico. Definición de los criterios de osteoporosis, de osteomalacia o de trastorno de la mineralización ósea en función de los valores del grupo control	105
10.- Comparación de los parámetros histomorfométricos e histodinámicos de las biopsias óseas de los pacientes con CBP con el grupo control.	107
11.- Resultados del estudio microanalítico del frente de mineralización mediante EDAX.	110

12.-Diferencias entre los pacientes con osteoporosis y los pa-- cientes sin patología metabólica ósea.	110
13.-Análisis de las diferencias existentes entre los pacientes con y sin trastorno de mineralización	116
14.-Relación entre los parámetros histomorfométricos y las ca-- racterísticas clínicas de la hepatopatía	117
15.-Relación entre los parámetros histomorfométricos y las de-- terminaciones del metabolismo mineral	117
16.-Análisis de la relación entre los parámetros del metaboli-- smo mineral y la intensidad de la colestasis	118
COMENTARIOS Y CONCLUSIONES	151
- Patología metabólica ósea asociada a la CBP. Tipo y prevalen-- cia. Sus características histológicas.	151
- Factores implicados en el desarrollo de la patología metabóli-- ca ósea asociada a la CBP:	157
A) Osteoporosis	157
B) Trastorno de la mineralización ósea	162
C) Vitamina D. Aspectos de su metabolismo en los pacientes -- con CBP	164
- <u>Resumen de las conclusiones</u>	169
BIBLIOGRAFIA	172

ABREVIACIONES MAS UTILIZADAS EN ESTA TESIS

<i>CBP</i>	-	<i>cirrosis biliar primaria</i>
<i>BSU</i>	-	<i>unidades estructurales óseas</i>
<i>BRU</i>	-	<i>unidades de remodelaje óseo</i>
<i>PTH</i>	-	<i>parathormona</i>
<i>1,25 (OH)₂D</i>	-	<i>1,25 dihidroxivitamina D</i>
<i>25-OH D</i>	-	<i>25 hidroxivitamina D</i>
<i>24,25 (OH)₂D</i>	-	<i>24,25 dihidroxivitamina D</i>
<i>EDAX</i>	-	<i>análisis dispersivo de la energía de RX.</i>
<i>VT</i>	-	<i>volumen trabecular</i>
<i>Vos</i>	-	<i>volumen de osteoide</i>
<i>Vosf</i>	-	<i>volumen fraccional de osteoide</i>
<i>TTI</i>	-	<i>índice de grosor trabecular</i>
<i>Wos</i>	-	<i>grosor de osteoide</i>
<i>Sf</i>	-	<i>superficie de formación ósea</i>
\bar{M}	-	<i>velocidad de aposición</i>
<i>MLT</i>	-	<i>intervalo de mineralización</i>
<i>BFR</i>	-	<i>índice de formación ósea</i>
<i>Sr</i>	-	<i>superficie de reabsorción</i>

JUSTIFICACION Y OBJETIVOS

La cirrosis biliar primaria es una enfermedad hepática que se manifiesta por un patrón clínico, biológico e histológico de colestasis crónica. Con el descubrimiento de sus formas asintomáticas, el mejor conocimiento de la enfermedad y la introducción de fármacos que potencialmente modifiquen su curso natural, han aumentado el número de casos diagnosticados y es de esperar una prolongación de su supervivencia en un futuro no lejano. Sin embargo, la cirrosis biliar primaria se asocia a distintas enfermedades que complican su evolución, entre las que cabe destacar la enfermedad metabólica ósea que causa una elevada morbilidad en estos pacientes.

A pesar de que distintos grupos de investigación, fundamentalmente británicos y norteamericanos, han intentado establecer el tipo, frecuencia y mecanismos implicados en el desarrollo de esta patología ósea asociada a la cirrosis biliar primaria, sus resultados son inciertos. De tal forma que la prevalencia de osteoporosis y de osteomalacia, las dos enfermedades óseas que constituyen la osteodistrofia de la cirrosis biliar primaria, es muy variable según los distintos investigadores, y además, hay desacuerdos y desconocimiento de sus mecanismos patogénicos. Así, mientras que el déficit de vitamina D se considera que es el mecanismo responsable de la osteomalacia que se desarrolla en el curso de la cirrosis biliar primaria, no está establecida la causa de este déficit que parece ser multifactorial y que se ha atribuido a un déficit de su síntesis endógena, a malabsorción y a trastornos de la metabolización de la vitamina D. Por otro lado, la patogenia de la osteoporosis es todavía más confusa y se han implicado distintos mecanismos: malabsorción intestinal de calcio, hiperparatiroidismo secundario a un déficit de vitamina D y distintas alteraciones del "turnover" óseo que van desde un incremento de la reabsorción ósea a un déficit de formación ósea secundario a una reducción de la función osteoblástica.

El conocimiento de la patología ósea asociada a la cirrosis biliar primaria es importante para estos enfermos, ya que independientemente del interés que despierta en el facultativo, tiene una repercusión en la actitud terapéutica. Así, mientras la osteomalacia tiene un tratamiento eficaz, el tratamiento de la osteoporosis continúa siendo un tema de debate, por lo que es aún más importante una profilaxis de esta enfermedad que sólo se podrá realizar si se identifica a tiempo y se conocen los factores implicados en su desarrollo.

En los últimos años se han conseguido importantes avances en las técnicas de diagnóstico de las enfermedades metabólicas del hueso, me refiero en concreto a la determinación de los metabolitos de la vitamina D y al estudio cuantificado de la morfología y dinámica ósea que permiten no sólo diferenciar con certeza la osteoporosis de la osteomalacia, sino además tener un conocimiento preciso del turnover óseo y por tanto de la fisiopatología de la osteoporosis. Al tener estas técnicas de diagnóstico a nuestro alcance y estimulados por el desconocimiento de la patología ósea que se desarrolla en nuestros pacientes con cirrosis biliar primaria, se ha realizado esta tesis con los siguientes objetivos:

- 1- Analizar la prevalencia y tipo de patología metabólica ósea en una serie de pacientes con cirrosis biliar primaria.*
- 2- Estudiar las características del remodelaje y de la mineralización ósea en este grupo de pacientes.*
- 3- Relacionar los hallazgos histológicos con los trastornos del metabolismo mineral.*
- 4- Investigar los factores que pueden influir en el desarrollo de la patología ósea.*

I - Cirrosis biliar primaria. Una visión general de la enfermedad.

CONCEPTO

La cirrosis biliar primaria (CBP) o colangitis crónica destructiva no supurativa fue descrita por primera vez en 1851 por Addison y Gull (1). Es una enfermedad crónica del hígado que afecta preferentemente al sexo femenino en la edad media de la vida y cursa con un cuadro clínico, biológico e histológico de colestasis crónica, secundario a la destrucción de los conductos biliares intrahepáticos. La patogenia de la enfermedad no es bien conocida y la supervivencia media es de unos 10 años desde la aparición del primer síntoma (2).

EPIDEMIOLOGIA

Se trata de una enfermedad poco frecuente si se tiene en cuenta el limitado número de pacientes incluidos en las distintas series publicadas, ya que sólo se han conseguido series que sobrepasaran los 200 pacientes cuando se han realizado estudios multicéntricos (3,4) En España la serie más amplia publicada hasta 1981 es la de Parés et al. (5) que incluía 44 pacientes.

La incidencia anual de CBP en Europa occidental según un estudio multicéntrico realizado en los últimos cuatro años y en el que participaban diez países entre ellos España, lo que representa una población aproximada de 24 millones, es de 4 casos/millón de habitantes y la prevalencia de 23 casos/millón de habitantes, aunque con marcadas diferencias entre los diversos centros evaluados (4).

En Cataluña la CBP es una enfermedad poco común, pero no excepcional. Durante el período comprendido entre 1971 y 1980 se identificaron 106 pacientes, ocho de los cuales presentaban una CBP asintomática. Su incidencia anual ha ido aumentando a lo largo de la década, debido al reconocimiento cada vez más frecuente del proceso y de sus formas asintomáticas, hasta estabilizarse a partir de 1977 en 3.18 casos/millón de habitantes (5.5 casos/millón para las mujeres

y 0.7 casos/millón para los varones).

Dado que no se constataron diferencias significativas entre los residentes en Cataluña nacidos en otras regiones españolas y los nacidos en Cataluña, estos datos podrían extrapolarse al número de pacientes con CBP en España que sería de aproximadamente 460 y el número de nuevos casos anuales de 108, incidencia inferior a la observada en Gran Bretaña que oscila entre 5.8 y 10.6 casos/millón de habitantes (5).

ANATOMIA PATOLOGICA

Según Scheuver (6) y Ludwig (7) se considera que existen cuatro estadios morfológicos bien definidos y que hay una buena correlación entre la progresión de la enfermedad y el estadio histológico (8).

a) Estadio I.- Lesión portal: se caracteriza por una inflamación y agrandamiento del espacio porta con escasa o nula inflamación periportal. En este estadio es posible observar una lesión ductal patognomónica de la enfermedad, que consiste en la rotura y necrosis de las células del epitelio ductal de los conductos biliares septales o interlobulares, con formación de un folículo de linfocitos y células plasmáticas alrededor de las zonas destruidas.

b) Estadio II.- Lesión periportal: existe una inflamación portal y periportal con ausencia de fibrosis septal. Los espacios porta son grandes y contienen un infiltrado inflamatorio que erosiona la membrana limitante. En este estadio hay una reducción del número de conductos biliares portales y presencia de numerosos neocanalículos de epitelio displásico, carentes de luz. También es posible observar granulomas y pigmento biliar en las zonas periportales.

c) Estadio III.- Fibrosis septal: Se caracteriza por la presencia de septos fibrosos que se introducen o rodean los lobulillos hepáticos, los signos de inflamación suelen persistir y hay depósitos de pigmento biliar. Pueden observarse en este estadio

cuerpos de Mallory (9).

d) Estadio IV.- Cirrosis: en este estadio aparecen nódulos de regeneración, al igual que en otros tipos de cirrosis. La escasez de canales biliares en los septos fibrosos es el único dato histológico sugestivo de cirrosis biliar primaria.

PATOGENIA

Se desconoce el mecanismo íntimo causante de la CBP aunque la existencia de alteraciones inmunitarias y posiblemente de trastornos genéticos permiten sugerir mecanismos patogenéticos mixtos.

Sobre una base constitucional se presentarían fenómenos autoinmunes que determinarían por una parte la lesión fundamental de la enfermedad, destrucción de los conductos biliares intrahepáticos con formación de granulomas y por otra, la aparición de manifestaciones multisistémicas. El problema consiste en reconocer si estos trastornos inmunitarios son primarios y por tanto son los responsables de la enfermedad, o bien si son secundarios a la lesión hepática. Se han invocado diversas hipótesis, todas ellas basadas en las alteraciones inmunitarias demostradas en la CBP (10).

Desde hace años se conoce que la enfermedad se asocia a alteraciones de la inmunidad humoral con aumento de inmunoglobulinas M y G (11) y de anticuerpos circulantes no-organospecíficos (anticuerpos antimitocondriales, antinucleares y antimúsculo liso) (12) que probablemente no son responsables de la lesión hepática, sino que reflejan un estímulo de la inmunidad que ocasionaría un aumento de la producción de anticuerpos. También se han demostrado alteraciones de la inmunidad celular o retardada que está deprimida, con anergia a diferentes antígenos y alteración de la respuesta frente a mitógenos (13). Esta alteración de la inmunidad celular podría ser una consecuencia de la enfermedad ya que se observa con menos frecuencia en las fases iniciales y en los casos asintomáticos.

La detección de complejos inmunes circulantes en la CBP ha permitido sugerir que la enfermedad podría estar mediada por inmunocomplejos que ocasionarían por una parte la lesión de conducto biliar, y por otra, al alcanzar la circulación enterohepática darían lugar al desarrollo de lesiones extrahepáticas (14), sin embargo, existen francas discordancias al respecto (15).

La existencia de un factor genético que predispone al desarrollo de la enfermedad viene dada por el hecho de que en algunos estudios se ha observado una mayor incidencia de anomalías inmunológicas en familiares de pacientes con CBP. Además, se ha observado que en los pacientes con CBP hay una incidencia significativamente superior del antígeno de histocompatibilidad HLA-DRW3 en comparación con una población sana (16), antígeno que también se halla en otros procesos de base autoinmune, como el síndrome de Sjögren y la tiroiditis de Hashimoto.

En base a las alteraciones inmunológicas descritas, se han desarrollado diversas hipótesis patogenéticas, entre ellas destaca la que sugiere que la enfermedad crónica del injerto y la CBP tengan un mecanismo patogenético similar, basándose en la similitud de las manifestaciones clínicas y la afección multisistémica (17). Otra hipótesis sostiene que la acción histológica, en concreto la formación de granulomas, es desencadenada por alteraciones de carácter inmunitario y la afección de los conductos biliares es debida a la persistencia y progresión del proceso inflamatorio desencadenado; la propia colestasis sería la responsable de la aparición de fibrosis y finalmente de cirrosis (10). En este sentido se ha sugerido que la acumulación de cobre y sales biliares que no pueden excretarse por la bilis pueden contribuir a la lesión hepatocelular y a la formación y progresión de cirrosis.

La confirmación de esta hipótesis depende de los progresos que se hagan en el conocimiento de la respuesta inmunitaria y quizás en un futuro próximo se podrá concluir que la CBP es una enfermedad

de carácter autoinmune (18).

CONSECUENCIAS DE LA COLESTASIS CRONICA

a). Trastorno del metabolismo de las sales biliares

En la colestasis crónica hay una alteración del metabolismo de las sa les biliares, con disminución de la tasa de secreción y una redistribu-- ción del reservorio de sales biliares a la circulación extraportal. En la luz intestinal secundario al fallo en la secreción de la bilis, puede desarrollarse una malabsorción de grasa y un déficit en la absorción de las vitaminas liposolubles (A,D,E y K).

En condiciones normales, las sales biliares intervienen en la digestión de la grasa ingerida, ya que participan en los procesos de emulsificación, facilitan la lipólisis efectuada por los enzimas pancreáticos y especialmente solubilizan los productos lipolíticos (ácidos grasos y monoglicéridos) al constituirse en micelas mixtas para cuya formación se precisa una concentración mínima y determinada de sales biliares en la luz intestinal. Cuando las concentraciones de sales biliares en el duodeno son insuficientes para formar micelas, la absorción intestinal de las grasas se altera, apareciendo como consecuencia esteatorrea. Por otra parte, para la absorción de las vitaminas liposolubles es indispensable su solubilización micelar previa y cuando ésta no se consigue, la absorción de estas vitaminas puede estar alterada (2).

La redistribución de las sales biliares a la circulación sistémica comporta una elevación de sus niveles séricos, que en condiciones normales se mantienen en niveles muy bajos. Bloomer et al. (19) en una serie de 56 pacientes con CBP hallan niveles séricos de sales biliares elevados en el 93% de los casos y además con la progresión de la enfermedad, valorada por el estadio histológico, no sólo aumentan los niveles sino que además se altera la proporción sérica existente en condiciones normales entre los ácidos biliares primarios. En la

CBP también se altera la composición de la bilis obtenida por sondaje duodenal al modificarse la proporción existente en condiciones normales, entre los ácidos cólico y desoxicólico (20).

Parece ser que la función exocrina pancreática tiene poca importancia en la malabsorción de grasas en la CBP, ya que raramente está alterada. En la serie de Ros et al (21) que incluye 14 pacientes con CBP sólo un caso presentaba un fallo severo de la función exocrina, sin embargo fue común el hallazgo de una disminución de la actividad de tripsina en aquellos pacientes con esteatorrea asociada, que se relacionaba de forma directa con un déficit de sales biliares en la luz intestinal.

b). Déficit de la excreción biliar de cobre

El cobre es un oligoelemento que actúa como activador de múltiples reacciones enzimáticas esenciales para la vida del hombre. Existen unos mecanismos fisiológicos que mantienen un balance de cobre estable, siendo el hígado el principal modulador ya que mantiene el equilibrio entre el cobre captado por los hepatocitos y el que luego es excretado, en parte unido a la ceruloplasmina y en parte excretado por su principal vía de eliminación natural, la bilis.

Probablemente en la CBP debido a la reducción de la secreción biliar y por tanto, a una incapacidad para eliminar el cobre por la bilis, se rompe el equilibrio existente en condiciones normales resultando una alteración del metabolismo del cobre que se caracteriza por un aumento de su concentración en plasma y en el tejido hepático.

El excesivo depósito intrahepático estimula la síntesis de ceruloplasmina y el paso de cobre libre al plasma justifica una elevada excreción urinaria y el depósito del metal en otros tejidos (22). Se han descrito depósitos de cobre en la córnea donde es la causa de la aparición de anillo de Kayser-Fleischer, que aparece en menos del 3% de los

pacientes con CBP (23). Paréset al (22) demostraron en los dos tercios de una serie de 18 pacientes con CBP una acidosis tubular renal, que probablemente está en relación con el depósito de cobre en las células del tubulo renal.

Además, se han hallado depósitos de cobre en otras localizaciones tales como en el cabello de pacientes con CBP, Epstein et al (24) hallan concentraciones elevadas de este metal en un 10% de los pacientes de su serie.

CLINICA

La enfermedad suele presentarse después de los 30 años, especialmente entre los 40 y 60 años. Su forma de comienzo es variable si bien en la mayoría de los casos el síntoma inicial es el prurito que puede preceder a la ictericia en meses o incluso años. Esta clínica inicial puede perdurar un tiempo variable de un paciente a otro. Posteriormente aparece ictericia, melanodermia, esteatorrea, xantomas y xantelasmas (Tabla I). Finalmente se desarrollan signos de insuficiencia hepatocelular: ascitis y encefalopatía hepática (25). Las formas asintomáticas constituyen un porcentaje importante, oscilando entre un 11 y un 14% en la mayoría de las series (25,26). Generalmente estas formas asintomáticas se detectan casualmente al efectuar una exploración física por otros motivos y hallar una hepatomegalia o esplenomegalia o bien al hallar en una determinación analítica un aumento importante de la fosfatasa alcalina.

EXAMENES DE LABORATORIO

Las alteraciones bioquímicas de la cirrosis biliar primaria más comunes son la elevación sérica de todas las sustancias que normalmente son eliminadas por la bilis. La fosfatasa alcalina está frecuentemente elevada en más del 75% de los casos, además están elevados en plasma los niveles de otros enzimas indicadores de colestasis como la 5' nucleotidasa y la gamaglutamil transpeptidasa. Existe

un aumento de la bilirrubina a expensas de la fracción conjugada, sin embargo, sus niveles pueden fluctuar y ser normales o estar muy poco elevados en los estadios iniciales, no existiendo correlación entre los niveles de bilirrubina y de fosfatasa alcalina (25). El índice más específico de colestasis es el nivel sérico de sales biliares (27), que están elevados en el 93% de las pacientes con CBP (19).

Los lípidos totales séricos están aumentados a expensas de los fosfolípidos y del colesterol. Los niveles de colesterol plasmático aumentan en las fases avanzadas de la enfermedad y su elevación está en relación por una parte con la colestasis y por otra con un aumento de su síntesis (2).

Las transaminasas pueden estar discretamente aumentadas y la VSG suele estar muy acelerada. El nivel de albúmina plasmática es generalmente normal hasta el estadio terminal en el que sus niveles se detectan bajos como consecuencia del fallo hepatocelular.

Existe una hipergammaglobulinemia, en el 75% de los pacientes está incrementada la fracción Ig M de las inmunoglobulinas (2,25):

Los anticuerpos antimitocondriales se hallan presentes en el suero de más del 95% de los pacientes con CBP, pudiendo incluso detectarse antes de que aparezca un aumento de la fosfatasa alcalina. En la colestasis extrahepática no se detecta este anticuerpo por lo que su hallazgo es de gran utilidad diagnóstica (12,28). Recientemente se han podido diferenciar hasta nueve tipos de anticuerpos antimitocondriales, de ellos los subtipos M2, M4, M8 y M9 son específicos de la CBP (29).

DIAGNOSTICO

El diagnóstico debe sospecharse ante cualquier paciente de mediana edad, especialmente del sexo femenino, que presente prurito

con ictericia o sin ella. El aumento de la fosfatasa alcalina y de la Ig M, la presencia de anticuerpos antimitocondriales y una biopsia hepática compatible son los parámetros a valorar, ya que el diagnóstico de CBP se establece con plena seguridad si se cumplen por lo menos tres de los cuatro criterios diagnósticos citados en la Tabla II, tras asegurarse de la permeabilidad de la vía biliar principal.

En los pacientes con clínica poco sugestiva o con anticuerpos antimitocondriales negativos en el suero es obligado descartar la existencia de otros procesos como colestasis extrahepática, hepatitis crónica activa, colangitis esclerosante, carcinoma de los conductos biliares intrahepáticos y sarcoidosis (2).

PRONOSTICO

La CBP es una enfermedad incurable pero su pronóstico es variable. En la serie de Parés et al. (30) que incluye 44 pacientes, la supervivencia media después del primer síntoma fue de 107 meses y después del diagnóstico de 78 meses. La ictericia es signo de mal pronóstico ya que cuando aparece, la vida media es de poco más de 5 años y cuando la hiperbilirrubinemia es superior a 15 mg/100 ml. la supervivencia no suele sobrepasar los 12 meses. El desarrollo de ascitis y de encefalopatía hepática indican un pronóstico grave, pues la casi totalidad de los pacientes que presentan alguna de estas manifestaciones fallecen en el plazo de pocos meses. El estadio histológico también tiene valor pronóstico, pues la supervivencia media de los pacientes en estadios III y IV es inferior a la de los estadios iniciales, con una esperanza de vida inferior a los 4 años (30).

Las formas asintomáticas parecen tener mejor pronóstico ya que si bien el promedio de aparición de síntomas es de 26 meses, se ha comprobado que algunos pacientes sobreviven más de 20 años sin presentar sintomatología alguna (30,31).

ENFERMEDADES ASOCIADAS A LA CBP

Se han descrito un elevado número de enfermedades asociadas a la CBP, algunas de carácter autoinmune, otras consecuencia de los trastornos metabólicos inducidos por la colestasis y otras de patogenia desconocida (Tabla III) (2).

La enfermedad que con mayor frecuencia se asocia a la CBP es el síndrome de Sjögren de naturaleza autoinmune y que se manifiesta clínicamente por xerostomía y queratoconjuntivitis seca, aunque en la mayoría de los casos cursa de forma asintomática (32). La patología articular y fundamentalmente la pulmonar que presentan un porcentaje de pacientes con CBP, se ha relacionado con esta asociación.

La afección pulmonar consiste básicamente en una alteración de la difusión con descenso del "transfer factor". Rodríguez-Roisin et al. (33) demostraron esta patología únicamente en aquellos pacientes con un síndrome de Sjögren asociado a la cirrosis biliar primaria.

La patología articular no es infrecuente en la CBP. En un estudio realizado por nosotros en 38 pacientes con CBP, aproximadamente la mitad (47,3%) habían presentado dolor articular con o sin signos inflamatorios. Su aparición pudo ser explicada por una o más de las siguientes causas: osteoartropatía hipertrofiante, artritis reumatoidea, esclerodermia, síndrome "lupus-like" inducido por D - penicilamina y fundamentalmente síndrome de Sjögren asociado (34).

La asociación de esclerodemia o del síndrome CRST (calcinosis, fenómeno de Raynaud, esclerodactilia y telangiectasias) a la CBP ha sido descrito en diversas series, oscilando entre un 3 y un 16% de los casos, sin embargo, ésta debe ser una cifra inferior a la real pues si se efectuara un estudio sistemático de la función pulmonar, manometría esofágica y biopsia cutánea en todos los pacientes con CBP se detectarían casos asintomáticos que pasan inadvertidos en un examen médico de rutina, más si se tiene en cuenta que el curso

de la esclerodermia es generalmente benigno (35, 36).

Entre un 6 y un 20% de los pacientes con CBP presentan una tiroiditis de Hashimoto asociada, que cursa habitualmente de forma subclínica, siendo el hallazgo más frecuente la positividad de los anticuerpos antitiroglobulina o antimicrosomales en suero (35 - 37).

En el curso de la CBP se ha descrito la existencia de una acidosis tubular renal en un tercio de los pacientes. Es de tipo distal e incompleta y está en relación con el trastorno del metabolismo del cobre (22).

Existe una alta incidencia de colélitiasis entre la población con CBP, que oscila alrededor del 40% (38). Otras enfermedades que se han descrito asociadas a la CBP pero con menor frecuencia son la glomerulonefritis membranosa con depósito de inmunocomplejos (39) y la colitis ulcerosa con vasculitis (35). Además, se han descrito casos aislados asociados a otros procesos, pero es difícil establecer si estas asociaciones son o no fruto de la coincidencia.

Por último, la CBP presenta una patología metabólica ósea asociada, motivo de discusión de esta Tesis.

TRATAMIENTO

No existe un tratamiento específico por lo que las medidas terapéuticas son básicamente sintomáticas y consisten en el tratamiento del prurito, de la malabsorción intestinal, de la hiperlipidemia y de la patología metabólica ósea asociada (Tabla IV).

El prurito que suele ser el síntoma peor tolerado por los pacientes, se trata eficazmente con el empleo de resin-colesteramina, resina de intercambio iónico que se fija a las sales biliares en la luz intestinal impidiendo su reabsorción. Es particularmente eficaz en los periodos iniciales de la enfermedad, sin embargo, a medida

que ésta progresa y a pesar de aumentar la dosis, el prurito se hace cada vez más resistente al medicamento. La administración de fenobarbital, potente inductor enzimático y colerético es también eficaz para combatir el prurito. La asociación de fenobarbital y colestestamina puede ser útil para los casos más rebeldes. Si estas medidas fracasan se puede ensayar la plasmáperfusion a través de carbón activado que permite una desaparición transitoria del prurito (2,18).

A fin de evitar las complicaciones de la malabsorción intestinal de las vitaminas liposolubles y de las grasas, se administran triglicéridos de cadena media, vitamina D y vitamina A ambas por vía intramuscular. Asociado a la vitamina D y como profilaxis o tratamiento de la patología metabólica ósea, se administra calcio (500 a 1,5 g. de calcio elemento/día) (2,18).

Hasta el momento actual no se dispone de un tratamiento de fondo eficaz para la CBP, se han ensayado diversos medicamentos como las corticosteroides o la azatioprina con los que no se ha conseguido ningún efecto beneficioso. Recientemente se ha realizado un estudio controlado multicéntrico de la eficacia de la D-penicilamina en la CBP con resultados poco satisfactorios. La introducción de la ciclosporina en el tratamiento de la CBP ofrece un futuro más esperanzador.

TABLA I. FORMAS DE COMIENZO DE LA CBP

<u>Presentación</u>	<u>n = 100</u>
- Prurito	57
. no seguido de ictericia	16
. aparición de ictericia en los 6 meses subsiguientes	14
. aparición de ictericia des---pués de los 6 meses	27
- Prurito e ictericia	20
- Ictericia seguida de prurito	2
- Ictericia	6
- Hepatoesplenomegalia	3
- Hipertensión portal	4
- Alteración en las determinaciones analíticas	4
- Otras enfermedades	4

TABLA II. CRITERIOS DIAGNOSTICOS DE CBP

1. *Historia clínica de colestasis crónica*
2. *Elevación de la fosfatasa alcalina tres veces por encima de los valores normales*
3. *Positividad de los anticuerpos antimitocondriales*
4. *Biopsia hepática compatible*

TABLA III. ENFERMEDADES ASOCIADAS A LA CBP

<u>Proceso</u>	<u>%</u>
<i>Síndrome de Sjögren</i>	70 - 95
<i>Fibrosis pulmonar</i>	2 - 4
<i>Artritis y/o artralgiás</i>	47
<i>Esclerodermia</i>	5 - 15
<i>Síndrome CRST</i>	2 - 4
<i>Tiroiditis</i>	5 - 20
<i>Acidosis tubular renal</i>	20 - 45
<i>Litiasis biliar</i>	30 - 40
<i>Glomerulonefritis</i>	
<i>Colitis ulcerosa</i>	
<i>Polimialgia reumática</i>	
<i>Anemia hemolítica</i>	
<i>Vasculitis</i>	
<i>Dermatomiositis</i>	
<i>Enfermedad celíaca</i>	

TABLA IV. TRATAMIENTO DE LA CBP

1. Medidas generales

- . *Actividad física normal*
- . *Dieta libre y equilibrada*
- . *Exposición solar e ingesta de productos lácteos*

2. Tratamiento del prurito

- . *Colesteramina 12 gr/día v.o*
- . *Fenobarbital. Dosis inicial 3 mg/Kg/día*
Mantenimiento 50-100 mg/día

3. Tratamiento de los déficits de absorción intestinal

- . *Vitamina D2 600.000 u.i/mes/IM*
- . *Vitamina A 100.000 u.i/mes/IM*
- . *Vitamina K 10 mg/semana/IM*
- . *Triglicéridos de cadena media (MCT)*
- . *Calcio (lactogluocanato de calcio)*

II - Descripción de las enfermedades metabólicas óseas observadas en la cirrosis biliar primaria

La osteoporosis y la osteomalacia son las enfermedades metabólicas óseas observadas en la CBP. Ambos procesos son el resultado de trastornos del remodelaje y de la mineralización ósea, respectivamente y se caracterizan por una alteración de distintos componentes del tejido óseo normal. A continuación se exponen:

- A). Las estructuras que componen el tejido óseo normal y se describen las unidades de remodelaje y el proceso de mineralización ósea.

- B). - D). Se realiza una descripción de ambas enfermedades, con sus características clínicas, alteraciones radiológi--cas y de las pruebas de laboratorio. Por último, se revisan los métodos y criterios de su diagnóstico histo--lógico.

- E). Los factores hormonales que influyen en el remodelaje y la mineralización ósea.

A). CONCEPTOS BASICOS DE HISTOLOGIA OSEA

El tejido óseo del adulto es complejo y característico por su relativa pobreza celular y por su rigidez y dureza que dependen de la presencia de calcio y fósforo depositados en una densa trama de colágeno de estructura laminar que constituye la matriz ósea. Hay dos tipos de estructura ósea en el esqueleto adulto, el hueso cortical y el hueso trabecular. El hueso cortical constituye el 80% del volumen de la masa ósea esquelética al formar las diáfisis de los huesos largos y la cortical de los huesos planos. El hueso trabecular con una porosidad superior al 75% de su volumen, en la que se aloja la médula ósea, constituye sólo el 20% del volumen óseo total pero representa el 80% de la superficie ósea de la masa esquelética y forma la mayor parte de los huesos del esqueleto axial y las epífisis de los huesos largos. El hueso trabecular es metabólicamente más activo que el hueso cortical y más susceptible a los cambios de la homeostasis mineral (40).

- UNIDADES ESTRUCTURALES OSEAS

El esqueleto está formado por pequeños elementos o unidades óseas formadas en tiempos diferentes que reciben la denominación de unidades estructurales óseas (BSU). El hueso cortical está compuesto por columnas cilíndricas de 150-300 μm . de diámetro conocidas como osteonas o sistemas Haversianos, con un eje longitudinal paralelo al del hueso y una estructura laminar periférica. La osteona consiste en múltiples láminas concéntricas que rodean un canal de 30-70 μm . de diámetro que contiene vasos nutrientes, linfáticos, nervios y tejido conectivo. El límite externo de la osteona lo delimita la "línea de cemento" de 1-2 μm . de grosor, que separa las diferentes unidades estructurales formadas en distintos tiempos. En el hueso trabecular las BSU adoptan una disposición prácticamente paralela al plano de superficie de las trabeculas y se asemeja a un sistema haversiano que hubiera sido cortado longitudinalmente y desplegado en el mismo sentido al de la superficie trabecular, su estructura es también laminar (40 - 42).

- REMODELAJE OSEO

El tejido óseo del adulto se reemplaza constantemente, existiendo en un mismo tiempo numerosos focos de reabsorción del hueso preexistente y áreas de formación de nuevo tejido. El remodelaje óseo implica la actividad y acomplamiento de dos tipos de células que actúan en este proceso, los osteoclastos que son las células responsables de la reabsorción ósea y los osteoblastos que son los responsables de la formación ósea en sus dos estadios: formación de matriz ósea u osteoide y su posterior mineralización. Los grupos de osteoclastos y de osteoblastos que actúan de forma conjunta reciben la denominación de unidades de remodelaje óseo (BRU). La naturaleza de su acomplamiento es desconocida pero probablemente refleja una programación secuencial de las células precursoras (42).

Las células óseas y su función:

Los osteoblastos participan en la formación de tejido óseo en sus dos etapas: síntesis de matriz ósea u osteoide y su mineralización primaria. La formación de matriz incluye la biosíntesis de colágeno, proteoglicanos, glicoproteínas y otros componentes de la sustancia fundamental; la mineralización se realiza por el depósito inicial fundamentalmente de fosfato tricálcico amorfo que se convierte progresivamente en hidroxapatita cristalina. Los osteoblastos derivan de los proosteoblastos localizados en el tejido óseo que a su vez proceden de células mesenquimales perivasculares.

Cuando son activos los osteoblastos son células cuboidales - - mononucleadas de citoplasma basófilo en el que se evidencian a microscopía electrónica, las características de una síntesis proteica activa. Dada su marcada proximidad entre sí, los osteoblastos aparecen como una empalizada entre la superficie del osteoide y la médula ósea, esta disposición celular es conocida como "**ribete osteoblástico**". Cerca de los osteoblastos y separando el hueso mineralizado del osteoide hay una zona intermedia que corresponde al "**frente de calcificación**".

La formación ósea representada por los osteoblastos, osteoide y frente de calcificación ocupa aproximadamente el 15% de la superficie endostal, un tercio de esta superficie de formación está en fase de crecimiento con osteoblastos muy activos y síntesis y mineralización de la matriz ósea a una misma velocidad, el resto de la superficie de formación está en una fase menos activa con bandas de osteoide recubiertas por osteoblastos aplanados (43 - 45).

Los osteoclastos realizan la reabsorción ósea a expensas de la destrucción del hueso mineralizado, con una simultánea digestión de la matriz y disolución del mineral. Los osteoclastos derivan de los proosteoclastos locales y de células precursoras del sistema hematopoyético parecidas a los monocitos. Son células grandes multinucleadas, móviles y de vida corta que yacen en indentaciones irregulares de la superficie ósea conocidas como "lagunas de Howship". El área del osteoclasto en contacto con el hueso es irregular y a microscopía electrónica se evidencia que está formada por extensiones citoplasmáticas que le dan un aspecto de borde en cepillo, cuya longitud está en relación con la actividad celular. El osteoclasto se caracteriza por reabsorber únicamente tejido mineralizado, evitando las superficies no mineralizadas, probablemente por presentar el osteoide alguna peculiaridad que inhibe su aparición. La base química de la reabsorción ósea es compleja e implica la producción en el osteoclasto de diferentes sustancias que incluyen ácido láctico, carbónico y cítrico que contribuyen a la disolución del mineral y enzimas lisosomales y colagenasa que digieren la matriz ósea. La reabsorción activa representada por la presencia de osteoclastos que yacen en las lagunas de Howship ocupa aproximadamente el 0,5% de la superficie ósea y las lagunas de Howship sin osteoclastos o superficies de reabsorción inactiva representan alrededor del 5% de la superficie endostal.

El 80% restante de la superficie ósea no está en fase de formación ni de reabsorción y está delimitada por una capa delgada,

electrodensa y no mineralizada, la "lámina limitans" que está cubierta por células planas que envuelven de forma incompleta la superficie endostal.

Aproximadamente uno de cada diez osteoblastos es incluido en el hueso transformándose en un osteocito que yace en su propia laguna y que se comunica con los otros osteocitos y con las células de la superficie por extensiones protoplasmáticas situadas en canalículos de 200 nm. de diámetro. Alrededor de estos osteocitos se forma un hueso perilacunar especializado y metabólicamente activo que puede perder o ganar calcio temporalmente de acuerdo con las necesidades homeostásicas (43 - 45).

Remodelaje cortical

Los osteoclastos inician el remodelaje del hueso cortical con la "excavación" de un túnel longitudinal, que tras un intervalo de duración variable es "rellenado" por los osteoblastos formando una osteona. La actividad osteoclástica se inicia prácticamente en el centro de la futura osteona y avanza centrifugamente unas 100 μm . Esta estructura anatómica resultante se denomina "cutting cone". Posteriormente los osteoblastos reemplazan de forma centripeta la matriz ósea reabsorbida, "closing cone", con el depósito de sucesivas láminas de nuevo tejido que continua hasta que el canal haversiano alcanza el diámetro que corresponde al de la osteona madura. El promedio de la acción realizada por los osteoclastos y los osteoblastos está representado por el diámetro medio de la línea de cemento y por el grosor medio de las paredes de la osteona, respectivamente. La fase de reabsorción de una osteona se concluye aproximadamente en 20 días, posteriormente, los osteoblastos con una velocidad de aposición de matriz ósea de 1 $\mu\text{m}/\text{día}$ precisan 80 días aproximadamente para completar su misión, en resumen, la creación de una osteona requiere algo más de 100 días, aunque se puede prolongar debido a interrupciones temporales del período de formación o a un alargamiento de la fase existente entre la reabsorción y formación, sin embargo, ello no altera la

velocidad de remodelaje esquelético en su concepto global. Se desconoce la duración media de la osteona como estructura anatómica (46).

Remodelaje trabecular

Aunque el hueso cortical ocupa el 80% del volumen del esqueleto, sólo representa el 20% de la superficie susceptible al remodelaje óseo, de ahí la importancia de este fenómeno en el hueso trabecular. La unidad de remodelaje sigue la misma secuencia que en el hueso cortical con un período de reabsorción osteoclástica y de formación osteoblástica. Los osteoclastos inician el remodelaje erosionando la superficie trabecular y excavando surcos de aproximadamente 1.000 μm . de longitud y de 10 a 100 μm . de profundidad, que corresponden en las secciones histológicas a una o más lagunas de Howship. Posteriormente y después de un período menos definido que en hueso cortical, aparece una unidad coordinada de osteoblastos que reemplazan el tejido óseo reabsorbido, en las superficies trabecular, por osteoide. Las superficies de reabsorción inactivas o lagunas de Howship no ocupadas por osteoclastos son de difícil evaluación ya que pueden tratarse de superficies que van a ser cubiertas por osteoide o bien van a persistir como tales. La evidencia de que en hueso trabecular ocurre la misma secuencia que en hueso cortical se deriva del examen de las líneas de cemento cuya forma indica el estado de la superficie trabecular justo antes de la aparición de osteoide, así aproximadamente el 97% de su longitud es irregular indicando una actividad osteoclástica reciente y sólo el 3% es rectilíneo lo que sugiere que la aposición se realizó sobre una superficie sin actividad osteoclástica reciente (46).

- MINERALIZACION OSEA

Después del depósito de osteoide hasta su mineralización transcurre un período de tiempo que se conoce como "**intervalo de mineralización**". Algunos de los osteoblastos son incluidos en la matriz ósea para posteriormente transformarse en osteocitos y la

matriz ósea sufre una variedad de cambios denominados colectivamente como **"maduración"**.

La mineralización ósea se inicia a nivel de la interfase entre hueso mineralizado y osteoide, concretamente en el **"frente de calcificación"** que aparece a microscopía óptica como una banda granular ligeramente oscura de 3-4 μm . de diámetro. Estos gránulos probablemente consisten en agregados de mineral amorfo o de complejos de calcio-fosfolípidos y fosfato que preceden la formación de mineral amorfo.

Hay diversas teorías sobre la mineralización del tejido óseo que generalmente se agrupan en tres categorías: 1ª). las que proponen mecanismos que incrementan el producto $\text{Ca} \times \text{PO}_4$ a niveles en los que el mineral precipita espontáneamente. 2ª). las que proponen mecanismos o sustancias como el colágeno que crean núcleos inductores o facilitadores de depósito de cristales. 3ª) las que proponen mecanismos o sustancias, como moléculas gigantes de proteoglicanos, que previenen la formación de mineral y deben ser inactivadas para que ocurra la mineralización. Probablemente en el proceso de mineralización estén implicadas estas tres teorías.

La primera fase de la mineralización requiere la participación activa de las células locales: los osteoblastos de la superficie (ribete osteoblástico) y de los osteoblastos que han sido recientemente incorporados en la matriz. Los osteoblastos además de facilitar el transporte de iones, secuestran mineral en los gránulos de las mitocondrias y en unas partículas conocidas como **"vesículas de la matriz"** (que no han sido demostradas en la formación de hueso laminar de adulto) donde se acumulan activamente iones de calcio y de fósforo, que posteriormente son expulsados a la matriz ósea. Estas vesículas contienen además fosfatasas (fosfatasa alcalina y pirofosfatasa) cuya actividad probablemente sea necesaria para destruir inhibidores de la mineralización.

El mineral depositado en la interfase de osteoide y hueso mineralizado inicialmente es de estructura amorfa y en un corto período de tiempo madura en el tejido laminar a hidroxapatita, de patrón cristalino. Este proceso se desarrolla de forma rápida y estudios por microrradiografía sugieren que se alcanza el 70-75% de la mineralización en pocos días. La mineralización primaria depende fundamentalmente de la formación de nuevos cristales y probablemente está controlada de forma directa por los osteoblastos. Después, la densidad mineral aumenta lentamente y se precisan de tres a cuatro meses para alcanzar un 90% y varios años para conseguir el 95% de mineralización. Este cambio gradual conocido como mineralización secundaria depende fundamentalmente del crecimiento de los cristales preexistentes y está regulado por los cambios en la composición química de la fase fluida del hueso (47).

B). OSTEOPOROSIS

- CONCEPTO

La osteoporosis es la enfermedad metabólica ósea más frecuente que se caracteriza por una disminución de la masa ósea, sin alteraciones en su composición química (48).

Esta reducción de la masa ósea por unidad de volumen resulta en un fallo estructural del hueso que no aporta un soporte mecánico adecuado, con el consiguiente elevado riesgo de desarrollo de fracturas, en concreto, de cuerpos vertebrales, antebrazo distal, pelvis, tercio proximal de húmero y cuello de femur (49).

Afecta particularmente a las mujeres después de la menopausia y aunque puede asociarse a enfermedades sistémicas, en la mayoría de los casos no es posible la identificación de un factor etiológico concreto. Los factores etiopatogénicos implicados son varios: genéticos, mecánicos, nutricionales y hormonales, actúan a través de mecanis-

mos de acción no bien establecidos. La morbilidad y las repercusiones socioeconómicas de las fracturas, fundamentalmente de cuello de femur, son elevadas con un índice de mortalidad no despreciable y una repercusión económica importante (50).

- CLASIFICACION

La osteoporosis se puede asociar a distintos procesos (Tabla V). Sin embargo, el 80% de los casos de osteoporosis que se desarrollan en mujeres y el 60% de los padecidos por varones no se asocian a una enfermedad que implique un riesgo para su desarrollo y habitualmente inciden en individuos de mediana edad o de edad avanzada. Esta forma común y primaria de osteoporosis ha sido denominada "**osteoporosis involutiva**". Su clasificación es postmenopausica y senil tiene, según Riggs (51), además de una connotación arbitraria basada en la edad del individuo afecto, unos patrones histológicos y patogénicos distintos que justifican su diferenciación.

Las formas de osteoporosis secundaria más frecuente son las relacionadas con disfunciones endocrinas, enfermedades gastrointestinales y enfermedades del tejido conectivo. Además existen otros factores de riesgo para el desarrollo de osteoporosis como el alcoholismo crónico y la inmovilización prolongada, entre otros (52).

- FISIOPATOLOGIA DE LA OSTEOPOROSIS INVOLUTIVA

La disminución de la masa ósea por debajo del umbral de fractura es la consecuencia de una alteración en el acoplamiento que existe en condiciones normales entre formación y reabsorción ósea. Ello puede producirse por disminución de la formación ósea, por incremento de la reabsorción o por una combinación de ambos procesos que resulta en un predominio de la reabsorción (53). Los factores implicados en este balance óseo negativo son genéticos, mecánicos, nutricionales y hormonales, destacando entre estos últimos el déficit de estrógenos.

El "pico" o máximo grado de masa ósea se adquiere aproximadamente a los 30 años y después de un período de estabilización, se inicia la pérdida ósea de forma que a lo largo de la vida la mujer pierde un 35% de hueso cortical y un 50% de hueso trabecular, mientras que el varón desarrolla una pérdida de unos dos tercios de estos valores. Hay dos patrones o ritmos de pérdida de masa ósea: una fase lenta que se desarrolla en ambos sexos y una fase transitoria de pérdida acelerada, que ocurre en ciertas mujeres tras la menopausia (50).

En el hueso cortical esta pérdida lenta se inicia en ambos sexos aproximadamente a los 40 años (en el varón algo más tarde) con un ritmo inicial de un 0,3 a un 0,5% anual, que aumenta con la edad hasta que disminuye o remite en los últimos años de la vida (50). En la mujer postmenopáusica se superpone una fase de pérdida ósea acelerada con un 2-3% de pérdida anual inmediatamente después de la menopausia, que disminuye exponencialmente en los 8-10 años siguientes para abocar nuevamente a la primera fase de pérdida lenta (50,54).

Los datos referentes a la pérdida de hueso trabecular del esqueleto axial son más confusos (54,57). La mayoría de estudios sugieren un inicio temprano que se sitúa en los 35 años (algo más tarde en el varón) con un ritmo lineal de pérdida/año de un 1,2% para el varón (55). En la mujer se ha sugerido un ritmo de pérdida curvilínea (en algunos estudios se sugiere un ritmo lineal), con una fase acelerada que se inicia en la premenopausia y se extiende a la postmenopausia con una intensidad superior a la de hueso cortical pero con una menor duración (56). No está establecida de forma definitiva la pérdida acelerada de la masa ósea trabecular en la postmenopausia y sólo dos de nueve estudios han evidenciado de forma concluyente una fase acelerada durante la década que sigue a la menopausia natural (56) en contraste con otros estudios en mujeres anejectomizadas, que coinciden en la demostración de una pérdida acelerada de masa ósea que puede llegar a ser de un 12% en las vértebras lumbares durante los dos años consecutivos a la cirugía (57). Además de ser difícil

la demostración de una fase acelerada de pérdida de masa trabecular en las mujeres con menopausia natural, su ritmo no es uniforme ya que aproximadamente un 20% de estas mujeres pierde hueso a una velocidad más rápida que las restantes. Dependiendo del "pico" de masa ósea adquirido, estas mujeres son las que tienen mayor riesgo para desarrollar una osteoporosis postmenopáusicas (56).

- FACTORES IMPLICADOS EN LA PERDIDA DE MASA OSEA

Factores genéticos: La masa ósea alcanzada a los 30-35 años es un determinante importante de la masa ósea en cualquier momento posterior. Así, la prevalencia de osteoporosis es baja en los grupos étnicos con un "pico" elevado de masa ósea, como es el caso de los negros africanos e indios americanos, pero es considerablemente mayor en aquellos cuyo "pico" de masa ósea es bajo, como en los europeos y blancos americanos. De modo similar, el "pico" de masa ósea es mayor y la prevalencia de osteoporosis menor en los varones que en las mujeres. Es posible que existan factores genéticos que influyan en la determinación del nivel máximo de masa ósea adquirido, sin embargo, se sabe poco acerca de estos factores reguladores (58).

Factores mecánicos: Las fuerzas de carga son importantes en el mantenimiento de la masa ósea. La inactividad física proporciona o acentúa la pérdida de masa esquelética y de calcio, ya sea en un grado extremo de inmovilización o simplemente un decúbito prolongado. Durante una inmovilización absoluta se pierde un 1% de masa ósea al mes y a partir de una reducción del 50% esta pérdida se estabiliza (59).

En general, la actividad física y la masa muscular declinan con la edad, por lo que su déficit probablemente contribuye al desarrollo de osteoporosis (60).

Factores hormonales y nutricionales:

1.- Déficit estrogénico: El déficit estrogénico ha sido implicado como principal agente patogénico de la osteoporosis postmenopáusicas en base a ciertos hechos:

- a). Predilección por mujeres en la frecuencia de fracturas vertebrales (relación hembra/varón: 6/1) (61).
- b). Por su desarrollo en la proximidad temporal de la menopausia (62)
- c). Por el retardo de la pérdida de masa ósea cuando se han administrado estrógenos (63).

Tres cuartas partes o más de la pérdida de masa ósea que se desarrolla en las dos primeras décadas después de la menopausia son atribuibles al déficit estrogénico más que al "envejecimiento" en sí. Indudablemente, la rápida pérdida de masa inducida por la menopausia se superpone a una lenta y progresiva pérdida ósea relacionada con el envejecimiento, análoga a la que desarrolla el varón (62).

El mecanismo por el que el déficit estrogénico conlleva a una pérdida de masa ósea no está aclarado, pero parecen intervenir diversos factores: Heaney y Nordin (48) han postulado que el déficit estrogénico, dado que el hueso no tiene receptores para los estrógenos, podría aumentar la sensibilidad de la respuesta ósea a los niveles endógenos circulantes de parathormona lo que resultaría en una estimulación de la reabsorción ósea. Por otro lado, se ha sugerido que el déficit estrogénico podría actuar sobre el metabolismo óseo, al menos en parte, a través de su control sobre la secreción de calcitonina. Así Hillyard et al. (64) no sólo han demostrado niveles más bajos de calcitonina en la mujer que en el varón, sino que además hallan que tras la menopausia este déficit relativo de calcitonina es más acusado (65) con lo que se pierde el efecto protector sobre una reabsorción ósea estimulada. Sin embargo, Tieggs et al. (66) hallan niveles de calcitonina monomérica significativamente más elevados en un grupo de pacientes con osteoporosis postmenopáusicas que en una serie de mujeres postmenopáusicas sin osteoporosis. Estos resultados con--

tradicitorios no permiten, por el momento, establecer de forma inequívoca una asociación entre déficit de calcitonina y osteoporosis postmenopáusicas ni permiten asegurar que el déficit estrogénico actúe sobre la masa ósea a través de su control sobre la secreción de calcitonina.

2.- Alteraciones en la biodisponibilidad del calcio

Heaney et al. (67) proponen como otro factor implicado en la patogenia de la osteoporosis postmenopáusica el deterioro del balance de calcio que ocurre después de la menopausia por una disminución en la eficacia de absorción de calcio y por un incremento de su excreción urinaria.

La malabsorción intestinal de calcio es uno de los mecanismos implicado en la osteoporosis senil. Su contribución al desarrollo de la osteoporosis y la relación de la malabsorción de calcio con el status y metabolismo de la vitamina D permanecen por establecer de forma definitiva (68). Se ha relacionado la malabsorción de calcio con las alteraciones del metabolismo de la vitamina D que resultan en un déficit de su metabolito activo $1,25 (OH)_2 D$ (69).

La absorción de calcio disminuye con la edad y es común su malabsorción en las mujeres de más de 65 años y en los varones de más de 70 años (70), además, los pacientes osteoporóticos tienen un déficit de absorción más severo que los individuos normales de una misma edad (68). Estudios en individuos seniles y en pacientes osteoporóticos demuestran que precisan ingestas más elevadas de calcio que una población control para prevenir un balance de calcio negativo (71).

Los niveles séricos de los metabolitos de la vitamina D en pacientes con malabsorción intestinal de calcio son dispares según los autores y aunque la mayoría de ellos coinciden en el hallazgo de niveles séricos de $1,25 (OH)_2 D$ inferiores en los pacientes con osteoporosis en relación a individuos no osteoporóticos, otros autores no confirman estos hallazgos. Así, Gallagher et al. (72) demuestran

niveles normales de 25-OH D pero significativamente disminuidos de $1,25 (OH)_2 D$ en mujeres con osteoporosis postmenopáusicas respecto a un grupo de mujeres postmenopáusicas sin osteoporosis y observan que la reducción en la absorción de calcio se correlaciona positivamente con la reducción de los niveles plasmáticos de $1,25 (OH)_2 D$. Según Riggs (73) el déficit de producción de esta hormona en la osteoporosis postmenopáusica, no parece ser un defecto primario o intrínseco de la actividad de la 1 - hidroxilasa renal sino una consecuencia indirecta del incremento de la reabsorción ósea que resultaría en una disminución de la secreción de PTH y ésta a su vez condicionaría una disminución de la producción de $1,25 (OH)_2 D$. De hecho, los niveles plasmáticos de PTH son normales o bajos en la mayoría de las pacientes con osteoporosis postmenopáusica (74).

Por otro lado, Francis et al. (75) detectan niveles séricos de 25-OH D bajos asociados a la malabsorción de calcio en un grupo de mujeres de más de 65 años y Gallagher et al. (68) detectan niveles séricos de $1,25 (OH)_2 D$ algo inferiores en los individuos portadores de osteoporosis senil respecto a individuos normales. Conforme a sus resultados, Francis et al. (75) sugieren que la malabsorción de calcio en la población anciana es fundamentalmente debida a un déficit de vitamina D y además, ambos grupos de trabajo concuerdan en que el déficit de $1,25 (OH)_2 D$ en la osteoporosis senil, es secundario a un defecto de la actividad de la 1 - hidroxilasa renal. Se ha sugerido que un hiperparatiroidismo secundario podría incrementar el "turnover" óseo en este tipo de osteoporosis (73). Sin embargo, otros autores no confirman estos hallazgos al detectar niveles normales de $1,25 (OH)_2 D$ en individuos con una osteoporosis senil (76,77).

Slovik et al. (77) tras administrar el fragmento 1-34 de la parathormona a un grupo de individuos jóvenes normales y a un grupo de ancianos portadores de osteoporosis, detectan niveles basales de $1,25 (OH)_2 D$ similares en ambos grupos, pero una reserva secretora de $1,25 (OH)_2 D$ disminuida por la edad, el déficit de hormonas sexuales u otros

factores- en los ancianos osteoporóticos, por lo que sugieren que el déficit de reserva secretora de $1,25 (OH)_2 D$ podría explicar su incapacidad de adaptación a dietas pobres en calcio comunes en este grupo de edad.

3.- Déficit de formación ósea: El déficit de formación ósea ha sido implicado como uno de los mecanismos responsables de la osteoporosis senil, pues es conocido que a partir -- de la cuarta década de la vida se sintetiza menos tejido óseo del que es reabsorbido a nivel de los focos de remodelaje y que además ello progresa con la edad (51).

4.- Miscelánea: Ciertas enfermedades, intervenciones quirúrgicas y medicaciones pueden intervenir en el desarrollo de osteoporosis. Estos factores están expuestos en la Tabla V.

- CLINICA

La osteoporosis puede permanecer silente o manifestarse por dolor vertebral, con disminución de la talla y por fracturas periféricas. El dolor vertebral, cuando existe, suele manifestarse inicialmente como raquialgia difusa de predominio dorsal y de características mecánicas. Sobre este fondo doloroso o bien como primera manifestación aparecen episodios agudos que salpican la evolución de la enfermedad y que corresponden al desarrollo de fracturas vertebrales que se traducen por episodios de dolor muy intenso de inicio brusco y que invalidan el paciente durante dos o cuatro semanas, habitualmente superada esta crisis el enfermo queda asintomático o con molestias mecánicas residuales. Junto al dolor vertebral o en ausencia de clínica, se establecen alteraciones de la estática de la columna vertebral (cifosis dorsal, rectificación de la lordosis lumbar, contacto de los últimos arcos costales con las crestas iliacas) y disminución de la talla a razón aproximada de 0,5 cm. por fractura vertebral (78).

Las fracturas periféricas secundarias a osteoporosis se localizan en: antebrazo distal (fractura de Colles) típicamente entre los 50 y 65 años como manifestación de una pérdida de masa ósea de predominio trabecular y a partir de los 75 años se desarrollan fundamentalmente las fracturas de cuello de femur, proximales de húmero y de pelvis como manifestación de una pérdida de masa ósea mixta de predominio cortical (79).

- DIAGNOSTICO

Frente a la sospecha clínica o simplemente como un hallazgo radiológico, el diagnóstico de osteoporosis se establece mediante técnicas de medición de masa ósea. Las determinaciones de bioquímica y hormonales permiten fundamentalmente excluir otros procesos causantes de osteopenia y facilitan la clasificación de las osteoporosis según primarias o secundarias, además y de forma indirecta nos permiten según criterios bioquímicos, identificar o sospechar las osteoporosis de alto remodelaje y - - aquellas que se asocian a un déficit de absorción de calcio.

Técnicas de medición de masa ósea

1. Las técnicas no invasivas de medición de masa ósea tienen limitaciones en cuanto a sensibilidad, precisión, reproductibilidad y representatividad de las diferentes estructuras ósea del esqueleto. Por ello, en los últimos años se han desarrollado diversas técnicas con el intento de conseguir la que mejor cumpla estos requisitos. A fin de superar las limitaciones de la radiología ósea convencional, se han desarrollado las técnicas no invasivas que se exponen en la Tabla VI (80) con sus ventajas e inconvenientes.

Radiología: la disminución de la densidad ósea u osteopenia aparece tardíamente y debe existir una pérdida de masa ósea superior al 30% para que sea radiológicamente detectable, además es inespecífica por lo que salvo en casos muy avanzados no permite diferenciar la osteoporosis

de otras causas de osteopenia. La osteopenia se manifiesta por los siguientes signos radiológicos a nivel de columna vertebral: 1). densidad disminuida de los cuerpos vertebrales de tal forma que se asemeja a la de los tejidos blandos circundantes 2). pseudoaumentamiento de los espacios in vertebrales y/o aparición de nódulos de Schmörl, 3). acentuación relati va de las plataformas corticales y 4). estriación vertical de los cuerpos vertebrales. Cuando se desarrollan, las fracturas vertebrales pueden adoptar las siguientes formas: fractura en cuña (cuando está reducida la altura anterior del cuerpo vertebral), colapso vertebral (cuando están reducidas la altura anterior y posterior de la vértebra) y vértebra bi-cóncava (81).

2. Biopsia ósea: el estudio de la biopsia ósea no decalcificada obtenida por vía transiliaca no es un método de diagnóstico en la rutina asistencial. Tiene sus indicaciones en el diagnóstico diferencial de la osteoporosis con la osteomalacia y además, al permitir un análisis histológico cuantitativo, es una técnica útil y recomendable en estudios protocolizados en los que se precisa la evaluación de ensayos terapéuticos y de investigación de la fisiopatología de la osteoporosis.

En el apartado "Biopsia ósea su utilidad en la evaluación de la osteoporosis y la osteomalacia" se comentan las características histológicas de la osteoporosis.

Exámenes de laboratorio

Las concentraciones plasmáticas de calcio y fósforo son normales en la osteoporosis, aunque no es infrecuente un ligero aumento de la concen tración de fósforo en la mujer postmenopáusica (50).

Los niveles séricos de la fosfatasa alcalina y de osteocalcina, así como la excreción urinaria de hidroxiprolina constituyen los marcadores bioquímicos del remodelaje óseo más utilizados y aunque pueden ser aplicados de forma más amplia que la biopsia ósea, su interpretación es menos exacta. El marcador de formación ósea más

utilizado es la concentración sérica de la fosfatasa alcalina que incluye enzimas organo-específicas del tejido óseo, hepático, gastrointestinal, placenta, ciertos tumores y quizá de otros orígenes.

La fosfatasa alcalina sérica total aumenta con la edad y tras la menopausia y aunque habitualmente su concentración sérica es normal en la osteoporosis no es infrecuente un ligero aumento tras el desarrollo de fracturas, pero se correlaciona poco o en absoluto con los parámetros histológicos de formación ósea o con otros parámetros histológicos del remodelaje óseo. Un valor superior al doble del límite alto de la normalidad es raro en la osteoporosis no complicada, incluso tras una fractura reciente y sugiere hiperparatiroidismo secundario u osteomalacia. La fracción ósea de la fosfatasa alcalina es sintetizada por los osteoblastos y es potencialmente un marcador más útil que la fosfatasa alcalina total, sin embargo, los métodos analíticos basados en su inactivación por el calor o en su separación electroforética no tienen una especificidad absoluta (82).

La osteocalcina es la más abundante de las proteínas óseas no colágenas, es sintetizada por los osteoblastos y su nivel sérico es un marcador bioquímico específico del remodelaje óseo (83). En los últimos años se ha especulado acerca del significado de su nivel sérico como parámetro de formación o de reabsorción ósea, sin embargo, en la actualidad la mayoría de investigadores consideran que su concentración sérica refleja la formación ósea ya que se correlaciona significativamente con los parámetros histológicos de formación (84). En pacientes osteoporóticos, de todas formas, no se puede excluir que la reabsorción ósea tenga una cierta contribución a sus niveles en plasma, en base a la difícil explicación de su rápida disminución tras la administración de calcitonina (82). Por otro lado, y aunque también existen discrepancias al respecto, la mayoría de investigadores coinciden en que sus niveles aumentan con la edad en el adulto, son superiores en la mujer respecto al varón (85) y están elevados en los pacientes con osteoporosis al compararlos con individuos de su misma edad y sexo (82,86). Este incremento de los niveles séricos

de osteocalcina en la osteoporosis tiene difícil explicación salvo en la osteoporosis de alto remodelaje, una hipótesis propuesta se basa en la existencia de una disociación entre la síntesis de colágeno y de osteocalcina por los osteoblastos, demostrada in vivo e in vitro en respuesta al tratamiento anabolizante con estanozolol. Sin embargo esta teoría no podrá ser confirmada hasta que se realicen estudios comparativos de este marcador bioquímico con parámetros histológicos dinámicos de aposición ósea (82).

La excreción urinaria de hidroxiprolina total representa menos del 20% del catabolismo del colágeno derivado de la piel, de la gelatina de la dieta y del hueso. A pesar de estas limitaciones, se correlaciona modestamente con otros índices bioquímicos y cinéticos de reabsorción ósea (82).

Con la introducción de las nuevas técnicas no invasivas de medición de masa ósea, los avances en el estudio anatómo-patológico de la biopsia ósea mediante la histomorfometría y el estudio dinámico y con la utilización de los marcadores bioquímicos del remodelaje óseo, la osteoporosis puede no sólo ser detectada precozmente sino que además se ha conseguido una visión fisiopatológica y un mejor conocimiento de la evolución de la osteoporosis establecida lo que permite establecer medidas terapéuticas con mayor fundamento y abre la esperanza a que esta enfermedad pueda ser controlada en las próximas décadas.

C). OSTEOMALACIA

- CONCEPTO

La osteomalacia, la menos frecuente de los patrones de enfermedad metabólica ósea, es la consecuencia del defecto de mineralización de la matriz ósea del esqueleto del adulto secundario a un déficit de vitamina D o a una deplección de fosfatos. Diversos procesos pueden abocar a una osteomalacia, de ellos los más frecuentes son: ingesta inadecuada de vitamina D, déficit de exposición a la radiación ultravioleta, malabsorción intestinal de vitamina D, defectos tubulares con hipofosfemia y administración crónica de anticonvulsivantes. Cuando la osteomalacia se desarrolla en el contexto de una tubulopatía renal y no remite con dosis adecuadas de vitamina D, se denomina osteomalacia resistente a la vitamina D.

La expresividad clínica de la osteomalacia es variable y menos dramática que la del raquitismo de los niños. En grados extremos se manifiesta por dolores óseos, debilidad muscular proximal y fracturas. De patogenia poco aclarada, con unas alteraciones bioquímicas y radiológicas que pueden estar ausentes, su diagnóstico inequívoco lo proporciona la biopsia ósea (41).

- CLASIFICACION

La osteomalacia es el resultado de un déficit de vitamina D secundario a distintos procesos, que en su mayoría pueden incluirse en los siguientes apartados: déficit dietético o de irradiación solar, déficit de absorción intestinal, alteraciones en el metabolismo de la vitamina D o bien osteomalacia de etiología renal.

En la tabla VII se expone una clasificación de la osteomalacia según su etiología (87).

- PATOGENIA

El déficit de vitamina D es la causa mejor conocida de mineralización anómala del tejido óseo. La vitamina D a través de sus metabolitos biológicamente activos proporciona una concentración adecuada de calcio y fósforo al medio extracelular para que se produzca el proceso de mineralización, además también permite que los osteoblastos sinteticen matriz ósea apta para su posterior mineralización. No se ha podido demostrar que la vitamina D a través de alguno de sus metabolitos tenga un efecto directo sobre el proceso de mineralización, siendo su principal misión -después de la conversión de 25-OH-D a $1,25(OH)_2D$ - regular e incrementar la absorción de calcio a partir de la luz intestinal (88). La patogenia de la mineralización esquelética -- inadecuada secundaria a cualquier proceso que causa un déficit de vitamina D, probablemente sea: el déficit de metabolitos activos de la vitamina D resultan en una disminución de la absorción intestinal de calcio y en una menor movilización de calcio a partir del hueso, lo que resulta en una hipocalcemia, que estimula la secreción de PTH y posteriormente incrementa su síntesis, con una hiperplasia de las glándulas paratiroides. El incremento en la concentración circulante de PTH tiende a incrementar la concentración sérica de calcio pero al mismo tiempo estimula el aclaramiento renal de fosfatos, que a su vez produce una hipofosfatemia. Cuando la concentración de fósforo en el líquido extracelular es inferior a su nivel crítico, la mineralización no se puede desarrollar normalmente. En un déficit severo de vitamina D, no se puede mantener la normocalcemia y la alteración del proceso de mineralización es más severa. La ausencia de algún supuesto metabolito de vitamina D que pudiera actuar directamente sobre la mineralización del esqueleto podría contribuir a esta patología ósea (89).

La deplección de fosfatos aislada puede producir una mineralización defectuosa, además la hipofosfatemia se puede asociar a otras anomalías que afecten el sistema endocrino de la vitamina D.

Por otro lado, se puede desarrollar una osteomalacia a pesar de unos niveles adecuados de calcio, fósforo y vitamina D si la matriz ósea no puede someterse a una mineralización normal como ocurre a la hipofosfatasa, en la que el déficit de fosfatasa alcalina no permite la destrucción del pirofosfato que es un inhibidor de la mineralización ósea, o en la intoxicación por aluminio que interfiere dicho proceso (52,89).

- CLINICA

La clínica de osteomalacia es variable. Puede cursar de forma asintomática o puede manifestarse por dolores óseos, debilidad muscular proximal y susceptibilidad para el desarrollo de fracturas. Los dolores óseos son de instauración insidiosa, mal definidos, inicialmente pelvocrurales y posteriormente torácicos. La impotencia funcional es marcada, generalmente precoz y junto con el dolor óseo puede dificultar de forma importante la deambulación (78).

Las fracturas en el contexto de la osteomalacia no son infrecuentes y pueden ser la primera manifestación de la enfermedad, afectan fundamentalmente las costillas, los cuerpos vertebrales y cuello de femur, de tal forma que un 25% de la población senil con fractura de cadera padece una osteomalacia. Las deformidades esqueléticas se manifiestan por cifoescoliosis, tórax con prominencia esternal y protusión anterior de la sínfisis del pubis (90).

- DIAGNOSTICO

El diagnóstico de osteomalacia a menudo no se realiza pues pasa desapercibido al no pensar el clínico en su posibilidad. El desarrollo de dolores óseos con debilidad muscular, fundamentalmente en el contexto de los procesos citados en la Tabla VII, junto a las alteraciones bioquímicas y radiológicas típicas de la enfermedad, nos llevarán al diagnóstico. Sin embargo, es frecuente la normalidad o la detección de alteraciones mínimas en estas exploraciones complementarias, en

estos casos, la biopsia ósea es absolutamente necesaria para el diagnóstico de osteomalacia (91).

Radiología ósea

En la osteomalacia hay una disminución de la densidad ósea indistinguible en muchos casos de la osteopenia de la osteoporosis, sin embargo, la pérdida de la trama trabecular longitudinal y horizontal y la mala definición cortical se traducen en un aspecto borroso que da la impresión al lector de una radiología de mala calidad, mal contrastada. Aunque esta característica es sugestiva de osteomalacia, las pseudofracturas y las deformidades de pelvis y tórax son hallazgos radiológicos específicos de osteomalacia que cuando existen, permiten distinguirla de la osteoporosis. Las pseudofracturas o fisuras de Looser-Milkman son bandas radiolúcidas, habitualmente simétricas perpendiculares a la superficie ósea y que se localizan en la cara interna del cuello de femur, en pelvis, borde externo de escápula, en peroné proximal y en los metatarsianos, estas fisuras o pseudofracturas pueden progresar a fracturas completas que a su vez también pueden desarrollarse en su ausencia (81).

Exámenes de laboratorio

Los cambios en las concentraciones plasmáticas de calcio, fósforo y metabolitos de la vitamina D varían según el proceso causante de la osteomalacia. Así, cuando es secundaria a un déficit dietético, de exposición solar o de malabsorción intestinal, los niveles plasmáticos de calcio son normales o bajos y los de fósforo y 25-OH D son habitualmente bajos mientras que los de $1,25(OH)_2D$ pueden ser normales aunque en los estados severos de deplección de vitamina D se desarrolla tras la hipofosfatemia una hipocalcemia más o menos severa. Estas alteraciones suelen acompañarse de una elevación de los niveles de fosfatasa alcalina, de una acidosis metabólica moderada y de un incremento de los niveles de PTH por un hiperparatiroidismo secundario.

La osteomalacia secundaria a patología tubular renal presenta constantemente una hipofosfatemia que no se acompaña de hipocalcemia, se asocia además a otras alteraciones propias de la enfermedad de base. La excreción urinaria de calcio es usualmente baja en la osteomalacia, pero puede estar elevada en ciertas tubulopatías.

Aunque los cambios en las concentraciones plasmáticas de los parámetros bioquímicos citados pueden ser orientativos del diagnóstico, tampoco es infrecuente su normalidad, por lo que el diagnóstico final de osteomalacia no debe ser ni realizado ni excluido por alteraciones bioquímicas aisladas (87).

Biopsia ósea

El diagnóstico de osteomalacia frente la existencia de signos bioquímicos y radiológicos típicos no precisa de una biopsia ósea, sin embargo, en casos "border-line" la biopsia ósea transiliaca es extremadamente útil y permite realizar un diagnóstico inequívoco. En el apartado siguiente se comentan las características histológicas y los criterios diagnósticos de osteomalacia.

TABLA V. CLASIFICACION DE LAS CAUSAS DE OSTEOPOROSIS

I. Osteoporosis primaria

- Juvenil
- Idiopática del adulto joven
- Osteoporosis involutiva (post-menopausa y senil)

II. Enfermedades endocrinas

- Hipogonadismo
- Hipertiroidismo
- Hiperparatiroidismo
- Hiperkorticismo
- Diabetes mellitus

III. Enfermedades gastrointestinales

- Gastrectomia subtotal
- Síndromes de malabsorción
- Colestasis crónica
- Malnutrición severa
- Alactasia

IV. Enfermedades de la médula ósea

- Mieloma múltiple
- Mastocitosis sistémica
- Carcinoma diseminado

V. Enfermedades del tejido conectivo

- Osteogénesis imperfecta
- Homocistinuria
- Síndrome de Ehles-Danlos
- Síndrome de Marfan

VI. Miscelánea

- *Inmovilización*
- *Enfermedad pulmonar obstructiva crónica*
- *Alcoholismo crónico*
- *Administración crónica de heparina*
- *Artritis reumatoidea (?)*

TABLA VI. TECNICAS NO INVASIVAS DE MEDICION DE MASA OSEA

TECNICAS DE MEDICION DE MASA OSEA TRABECULAR

<u>Técnica</u>	<u>Ventajas</u>	<u>Inconvenientes</u>
INDICE DE SINGH	Simple y barata	Poca correlación con otras medidas de masa ósea. Se correlaciona mejor con las fracturas de cadera -- que con las vertebrales.
DENSIOMETRIA FOTONICA DUAL Y TC	Precisión en la medida de masa vertebral. Elevada correlación con las fracturas - vertebrales.	Cara y entretenida Problemas de reposición en estudios longitudinales.

TECNICAS DE MEDICION DE MASA OSEA CORTICAL

<u>Técnica</u>	<u>Ventajas</u>	<u>Inconvenientes</u>
RADIOGRAMETRIA	Simple y barata Utilizable en estudios longitudinales. *Precisa en la evaluación de masa cortical?	No detecta pérdida de masa trabecular. No se correlaciona con la masa vertebral. **Escasa correlación con otras técnicas de medición de masa cortical.
DENSITOMETRIA FOTONICA SIMPLE	Rápida, baja dosis - de radiación. Precisa en la evaluación de masa ósea -- cortical.	Escasa correlación con la masa vertebral. Problemas técnicos con: - reposición del antebrazo - interferencia de tejidos blandos.

* H. Rico-Lenza

** C. Conrad Johnston, Jr.

**TABLA VII. CLASIFICACION DE LAS ENFERMEDADES ASOCIADAS A OSTEOMALACIA
SEGUN SU MECANISMO CAUSANTE**

I. Alteraciones en el sistema de la vitamina D

1. Biodisponibilidad disminuida:

- . déficit de exposición solar
- . déficit dietético de vitamina D
- . síndrome nefrótico (pérdidas urinarias)
- . malabsorción intestinal (pérdidas fecales):
 - .. gastrectomía (Billroth II)
 - .. esprue
 - .. enteritis regional
 - .. By-pass yeyunoileal
 - .. insuficiencia pancreática
 - .. colestasis crónica
 - .. Tratamiento con colesteramina

2. Alteraciones del metabolismo:

- . enfermedad hepática crónica
- . insuficiencia renal crónica
- . osteomalacia tumoral hipofosfatémica
- . osteomalacia hipofosfatémica ligada al cromosoma x
- . hipoparatiroidismo (?)
- . acidosis crónica (?)
- . Tratamiento con anticonvulsivantes

3. Respuesta anómala de los tejidos diana:

- . procesos gastrointestinales (esprue, enteritis regional, resección intestinal).

II. Alteraciones en la homeostasis del fosfato

1. Disminución de la absorción intestinal:

- . malnutrición
- . malabsorción
- . antiácidos que contengan hidróxido de aluminio

2. *Incremento de las pérdidas renales:*

- . *osteomalacia tumoral hipofosfatémica*
- . *síndrome de Toni-Debré-Fanconi*
- . *paraproteineimas*
- . *enfermedad de Wilson*
- . *neurofibromatosis*
- . *intoxicación por cadmio*

III. Alteraciones de la matriz ósea

- . *hipofosfatasa*
- . *fibrogénesis imperfecta*
- . *osteomalacia axial*

IV. Inhibidores de la mineralización

- . *aluminio (nutrición parenteral total, insuficiencia renal crónica)*
- . *Tratamiento con etidronato*
- . *Tratamiento con fluoruro sódico (?)*

V. Déficit de calcio (en niños)

D). LA BIOPSIA OSEA. SU UTILIDAD EN LA EVALUACION DE LA OSTEOPOROSIS Y LA OSTEOMALACIA.

LA BIOPSIA OSEA

La biopsia ósea que se practica con el fin de estudiar las enfermedades metabólicas del hueso, se ha realizado a nivel de cresta iliaca o de costilla. Esta última localización es menos satisfactoria ya que produce una fractura en el lugar de la biopsia y se obtiene un espécimen con predominio de hueso cortical. En la actualidad la cresta iliaca es la localización habitual y preferida para la práctica de biopsia ya que: 1). el espécimen obtenido está constituido fundamentalmente por hueso trabecular en el que las enfermedades metabólicas alcanzan su mayor expresividad. 2). el abordaje es accesible, poco doloroso y además no resulta en fractura. 3). se obtiene un espécimen óseo de dimensiones adecuadas para su estudio (que se recomienda tenga un diámetro de 7.5 mm.) con lo que se disminuye la variación de los parámetros evaluados entre diferentes especímenes. La biopsia del hueso iliaco puede ser practicada verticalmente o con un abordaje horizontal transiliaco, esta última técnica permite obtener un cilindro de diámetro adecuado, que consta de hueso trabecular limitado por los dos corticales y que permite realizar de forma adecuada el estudio del tejido óseo (92).

El mayor avance en la evaluación histológica de la patología metabólica ósea ha sido el desarrollo de técnicas que permiten el estudio de la biopsia sin decalcificación previa. Las razones para evitar la decalcificación son numerosas, la principal es la conservación de las diferencias entre hueso calcificado y osteoide que permiten el diagnóstico de las anomalías de la formación y del proceso de mineralización ósea, además, permite la práctica de los estudios dinámico y morfométrico que no pueden realizarse en especímenes decalcificados (93).

HISTOMORFOMETRIA OSEA

Bases de la histomorfometría

La histomorfometría es la técnica que proporciona **información numérica indirecta** de una estructura anatómica en términos de volumen, área de superficie, número y tamaño de sus componentes, al permitir obtener de forma indirecta una medición tridimensional de las estructuras a partir de mediciones sobre imágenes bidimensionales, dado que el área de una estructura en un corte histológico está en relación con su volumen (94).

La histomorfometría ósea consiste en el análisis histológico cuantitativo de los diferentes elementos que integran el tejido óseo. En los últimos años se ha desarrollado su empleo como método de diagnóstico y de evaluación de terapéuticas en patología ósea, además de ser un instrumento de investigación de la fisiopatología de las enfermedades metabólicas óseas (92).

Técnicas de histomorfometría ósea

Las mediciones de las estructuras óseas pueden realizarse mediante:

- Método manual. Las mediciones se efectúan utilizando una retícula y se obtienen al calcular las intersecciones o "puntos" de esta retícula que se superponen a la estructura problema del corte histológico. Se deberán realizar contajes de diversos campos microscópicos. En conjunto, se trata de una técnica con un coste económico escaso, pero lenta.
- Método semiautomático. Es el método con mejor relación coste/eficacia. Para su realización se precisa de un microscopio dotado de una cámara clara, de un tablero digitalizador con cursor y de un ordenador con programa para histomorfometría.

Mediante la cámara clara, que consiste en una serie de espejos y prismas intercalados entre los objetivos y el cabezal del microscopio, - se proyecta dentro del campo de observación del microscopio la imagen -- del cursor (diodo luminoso) situado sobre el tablero digitalizador. Bajo la superficie del tablero hay una malla electrónica, de tal forma, que a cada punto de intersección de esta malla le corresponde en la memoria -- del ordenador una coordenada en el eje de las x y otra en el eje de las y . Si se desplaza el cursor sobre el tablero, mediante la cámara clara - el observador puede reseguir con la imagen proyectada del cursor cual--- quier estructura histológica que aparezca en el campo de observación del microscopio y estos puntos recorridos sobre la malla son transferidos al ordenador. Mediante un programa adecuado, el ordenador puede analizar la figura trazada y proporcionar directamente mediciones de longitud, perímetros y áreas. Para obtener los resultados en valores reales es necesario introducir previamente mediante una escala de trabajo una distancia preestablecida.

- Método automático. La identificación de las estructuras se realiza - - electrónicamente mediante un análisis del nivel de grises. En estos sistemas, la imagen microscópica es captada por una cámara de televisión de alta definición, adaptada al microscopio y que realiza un barrido electrónico. Un ordenador transforma la imagen y la re-- presenta en pantalla en distintas intensidades de grises, además, a cada punto de la pantalla le corresponde una coordenada en el eje de la x y - otra en el eje de las y . El observador identifica el segmento de la escala de grises en el que se halla comprendida la estructura problema, y a partir de ahí selecciona los puntos de la pantalla que tienen una de-- terminada intensidad de gris y el ordenador realiza en estas estructuras las mediciones programadas.

Parámetros histomorfométricos

Resultan de relacionar entre sí una serie de contajes y mediciones efectuados en el tejido óseo, lo que nos permite definir cuantitativamente las características morfológicas y funcionales del tejido óseo.

Las mediciones realizadas en los cortes histológicos analizados según cualquiera de las técnicas previamente descritas permiten obtener **parámetros de carácter estático**. El marcaje con tetraciclinas, que se comenta a continuación, al introducir el factor tiempo nos posibilita el conocimiento de los **parámetros dinámicos**. Tanto los parámetros estáticos como los dinámicos pueden ser **primarios o secundarios**. Los parámetros -- primarios se calculan directamente a partir de las mediciones efectuadas en el corte histológico y se refieren fundamentalmente a superficies y volúmenes, mientras que los parámetros secundarios se calculan a partir de los parámetros primarios y generalmente reflejan de forma más concreta la cinética del tejido óseo (95).

ESTUDIO HISTODINAMICO. MARCAJE CON TETRACICLINA

La biopsia ósea se realiza en un punto aislado en el tiempo y es imposible mediante las técnicas de tinción habituales, estudiar las alteraciones de la dinámica del tejido óseo. El empleo de tetraciclinas como marcadores óseos "*in vivo*" nos permite estudiar estas variables al introducir la dimensión del tiempo en el análisis cuantitativo, cuyo conocimiento es preciso para el diagnóstico fidedigno de osteomalacia y para la subclasificación de la osteoporosis.

La tetraciclina es un marcador óseo al ser un antibiótico autofluorescente que tiene la propiedad de quelarse con el mineral amorfo o recientemente depositado en el frente de mineralización (interfase osteoide-hueso mineraliza) durante el tiempo en que la tetraciclina está en la circulación sistémica y permanece "*in situ*" mientras la estructura ósea cristalina permanece intacta. Cuando se examina el hueso marcado con tetraciclina con microscopio de fluorescencia aparecen en su seno, bandas amarillas o anaranjadas localizadas en los frentes de mineralización. El mecanismo por el que las tetraciclinas se ligan a la hidroxapatita inmadura en cantidad suficiente para producir fluorescencia es desconocido, pero, probablemente esté relacionado con sus propiedades estequiométricas. La administración

de dos tandas de tetraciclinas separadas por un periodo de tiempo conocido da lugar a dos bandas paralelas fluorescentes que corresponden a los frentes de mineralización existentes durante la administración de la primera y segunda tandas, respectivamente (96).

Junto a las bandas dobles se obtiene un porcentaje variable de bandas únicas que pueden ser causadas en condiciones normales, al menos, por dos mecanismos: el "escape" de uno de los marcajes y la superposición de las proyecciones geométricas. Una unidad funcional del hueso "escapa" del segundo marcaje si los osteoblastos que la integran finalizan su actividad antes de la administración de la segunda tanda de tetraciclina y "escapa" del primer marcaje si la unidad funcional inicia la formación de hueso entre la administración de las dos tandas de tetraciclina. Por otro lado, si el corte histológico es grueso y oblicuo los márgenes de las dos bandas se pueden superponer dando lugar a la falsa impresión de que se trata de una banda única.

Los marcajes dobles nos aportarán una mayor información de la dinámica ósea, dado que nos permiten conocer el grado de aposición ósea dividiendo la distancia entre las dos bandas por el número de días que separaron los dos "marcajes" y junto a la medición de su extensión proporcionan el cálculo de los parámetros dinámicos, como son el índice de formación ósea o el intervalo de mineralización (89,96).

CARACTERISTICAS HISTOLOGICAS DE LA OSTEOPOROSIS

La osteoporosis es la enfermedad metabólica del hueso que consiste en una disminución de la masa ósea. Se caracteriza histológicamente por una reducción del volumen óseo trabecular, que puede acompañarse de una disminución del volumen cortical. La mineralización ósea es normal (97,98).

Con la introducción del estudio morfométrico y dinámico de la biopsia ósea no decalcificada se ha demostrado la heterogeneidad histológica de la osteoporosis al diferenciarse tres subtipos histológicos (73).

1. Osteoporosis de bajo turnover u "osteoporosis inactiva"

Refleja una situación en que está disminuida la actividad ósea. La formación ósea está deprimida, por lo que en la biopsia aparecen escasas bandas de osteoide, que son delgadas y un número reducido de osteoblastos. La reabsorción ósea, aunque en menor grado que la formación, también está deprimida de tal forma que en la biopsia se visualizan escasas lagunas de Howship y un reducido número de osteoclastos.

Los marcajes fluorescentes correspondientes a la fijación de tetraciclina en los frentes de mineralización son escasos y si aparecen dobles marcajes la distancia entre ellos está habitualmente disminuida, no por una alteración de la mineralización ósea, sino por una disminución de la síntesis de matriz ósea neoformada (97,99).

2. Osteoporosis de alto turnover u "osteoporosis activa"

Refleja un incremento de la reabsorción y formación ósea, con un predominio de la reabsorción. La biopsia ósea muestra abundantes lagunas de Howship muchas de ellas ocupadas por osteoclastos y numerosas bandas de osteoide que están en una elevada proporción recubiertas por ribetes osteoblásticos.

Los marcajes fluorescentes son abundantes debido al alto número de frentes de mineralización a los que se ligan las tetraciclinas y la distancia existente entre los dobles marcajes es normal, por ser normal el proceso de mineralización ósea.

Una cantidad no despreciable de pacientes diagnosticados de osteomalacia, por presentar un incremento de las bandas de osteoide,

presentaban probablemente una osteoporosis activa. La práctica del estudio dinámico hubiera proporcionado el diagnóstico acertado (97,99).

3. Osteoporosis de turnover normal

Las biopsias presentan características morfológicas y dinámicas intermedias entre los subtipos histológicos previamente descritos.

El significado de los subtipos histológicos de la osteoporosis se desconoce en la actualidad y no se puede descartar que sean estadios de un mismo proceso (97,99).

CARACTERISTICAS HISTOLOGICAS DE LA OSTEOMALACIA

La osteomalacia se caracteriza por un defecto en la mineralización de la matriz ósea que resulta en un acúmulo de osteoide (hiperosteoidosis). En la biopsia ósea se traduce por un incremento de la superficie trabecular cubierta por bandas de osteoide, que además son anormalmente anchas (100).

El exceso de osteoide en superficie y en grosor es fundamental para el diagnóstico de osteomalacia pero no es suficiente para identificar de forma inequívoca los pacientes con mineralización defectuosa, dado que los estados con alto turnover óseo pero con mineralización normal, como el hiperparatiroidismo, desarrollan una hiperosteoidosis como resultado de un incremento de la síntesis de matriz ósea. Algunos rasgos morfológicos y fundamentalmente el estudio dinámico con tetraciclinas permite diferenciar estos procesos.

Los criterios histomorfométricos de osteomalacia no están definidos, pero la mayoría de investigadores aceptan estos parámetros para su diagnóstico: volumen trabecular óseo normal, aumento de la superficie de extensión de las bandas de osteoide e incremento de su grosor (existencia de por lo menos cinco laminillas birrefringentes

en todas o en una proporción significativa de bandas), junto a la presencia de escasos osteoblastos cúbicos (101).

El estudio dinámico con el doble marcaje con tetraciclinas puede adoptar los siguientes patrones de fluorescencia: ausencia de marcajes o presencia de marcajes únicos difusos y mal definidos, que son consecuencia de una ausencia de frentes de calcificación o de una anomalía en la maduración a hidroxapatita cristalina, respectivamente. Otra característica histodinámica de los trastornos de mineralización es la prolongación del intervalo de mineralización (mineralization lag time), por una fase mineral anómala y por una alteración en la maduración de la matriz ósea.

En ausencia de un estudio histodinámico, a menudo se puede distinguir la hiperosteoidosis secundaria a osteomalacia de la resultante a una síntesis incrementada de matriz ósea, como ocurre en el hiperparatiroidismo. Los fenómenos histológicos de este proceso incluyen: hiperosteoidosis, abundancia de osteoblastos y osteoclastos, formación de hueso no laminar y fibrosis paratrabecular, con una interfase osteoide-hueso mineralizado generalmente irregular que refleja un alto índice de remodelaje. La hiperosteoidosis de la osteomalacia se asocia típicamente a un hueso laminar y a ausencia de fibrosis paratrabecular, con una interfase osteoide-hueso laminar lineal. Los osteoblastos de los ribetes que recubren las bandas de osteoide en el hiperparatiroidismo son característicamente cuboidales o "activos" mientras que los correspondientes a osteomalacia suelen formar ribetes de células planas o "inactivas".

Estos fenómenos histológicos estáticos son generalmente útiles para realizar el diagnóstico de osteomalacia, sin embargo, no sólo son mal interpretados en muchas ocasiones sino que es relativamente frecuente la coexistencia de osteomalacia e hiperparatiroidismo en la misma biopsia. Sólo el conjunto del estudio morfológico y dinámico -- con tetraciclinas nos permitirá establecer el diagnóstico de osteomala--
cia con total seguridad (101).

E). FACTORES HORMONALES QUE INFLUYEN EN EL REMODELAJE Y LA MINERALIZACION OSEA.

PARATHORMONA

La parathormona (PTH) es un péptido compuesto por 84 aminoácidos en forma de cadena única. Su determinación mediante radioinmunoensayo -- (RIA) ha llevado a controversias acerca de la "heterogeneidad" de la PTH al evidenciarse que la mayoría del material inmunoreactivo en circulación periférica es inferior al de la hormona secretada. Se trata de fragmentos de la hormona cuyo origen no está claro y que pueden ser el resultado de una proteólisis post-secreción o de una secreción conjunta a la de la hormona intacta. Ensayos con antisueros han permitido reconocer residuos aminoterminal (NH_2 terminal) y carboxiterminal (COOH terminal) de su secuencia (102). La actividad biológica de la hormona, a nivel renal y óseo, parece residir en 34 residuos con secuencia aminoterminal, sin embargo, el principal fragmento circulante de la hormona inmunoreactiva que contiene aproximadamente el 60% de la secuencia de la hormona intacta (porción media y carboxiterminal) carece de la secuencia aminoterminal requerida para su actividad biológica, por lo que probablemente se trate de un fragmento hormonal biológicamente inactivo.

El mecanismo de acción de la PTH a nivel biológico se realiza a través de la adenil-ciclase de las células del tejido diana pues estimula su actividad enzimática y así aumenta la concentración intracelular de adenosin monofosfato cíclico (AMPc).

El rápido incremento intracelular del AMPc (segundo mensajero) -- es la primera fase bioquímica de la acción de la PTH. Independientemente del órgano diana afectado por el incremento intracelular de AMPc, en el tejido óseo el efecto inicial de la PTH, que ocurre en escasos minutos, es una hipocalcemia debida al paso de calcio de la circulación al interior de las células ósea. Se ha especulado si el calcio podría ser un -- "segundo mensajero" adicional (103).

Fisiológicamente la PTH es el regulador más importante de la concentración de calcio extracelular. Cuando la concentración de calcio sérico disminuye, la PTH restablece dicha concentración a la normalidad estimulando la movilización de mineral óseo, la reabsorción tubular de calcio y la síntesis de vitamina D, que a su vez estimula la absorción de calcio y fósforo a nivel intestinal y junto con la PTH puede estimular la reabsorción tubular de fosfatos incrementando su excreción urinaria. En conjunto, el efecto neto de la PTH es incrementar el calcio sérico y disminuir la concentración plasmática de fósforo (104).

A nivel del tejido óseo estimula el número de osteoblastos y osteoclastos. A pesar de que aparecen algunos osteoblastos adicionales la PTH en condiciones normales inhibe su actividad, en contraste, no sólo incrementa el número de osteoclastos sino que también estimula su actividad celular, lo que junto a la estimulación de la osteolisis osteocítica da lugar a su efecto neto en el hueso: incrementar la reabsorción ósea (73).

CALCITONINA

La calcitonina es una hormona peptídica compuesta por 32 aminoácidos y secretada por las células parafoliculares del tiroides. Su secreción se realiza de forma equimolecular con la catacalcina a partir de la pro-calcitonina. La catacalcina es un polipéptido que estimula el efecto de la calcitonina, de tal forma que en presencia de un exceso de catacalcina su potencia se multiplica por cinco, sin -- embargo, se desconoce si la catacalcina tiene una función fisiológica importante en el hombre, aunque es posible que muchas de las acciones atribuidas a la calcitonina se deban a la actuación sinérgica de ambas hormonas (105).

Se han identificado calcitominas de más de 15 especies de mamíferos, aves, anfibios y peces todas ellas diferentes, pero que tienen en común en su estructura monomérica un mismo número de aminoácidos, un --

puente disulfuro entre las cistinas de las posiciones 1 y 7 formando un anillo de 7 residuos a nivel del grupo aminoterminal de la molécula y un residuo prolin-amida carboxiterminal (106).

Su determinación en plasma por radioinmunoensayo no es específica para la calcitonina monomérica (activa) sino que puede representar la inmunoreactividad de diversas formas de calcitonina que pueden variar en número y proporción, sin embargo, el radioinmunoensayo continua siendo una técnica de valor en el diagnóstico y la investigación de las alteraciones en esta hormona (106).

Los efectos farmacológicos mejor conocidos de la calcitonina -- son la disminución de la concentración plasmática de calcio a través de su acción en sus principales órganos diana: hueso y riñón. Además la calcitonina tiene diversos efectos a nivel de intestino, hígado, pancreas y otros órganos aunque estos efectos no están relacionados probablemente con sus propiedades hipocalcémicas (107).

La calcitonina ejerce su principal acción sobre el hueso al disminuir la reabsorción ósea a través de la inhibición de la actividad osteoclástica, además, probablemente disminuye el número de osteoclastos. La inhibición de la actividad de los osteoclastos es rápida y parece ser directa por las siguientes razones: el ribete en cepillo de los osteoclastos disminuye pocos minutos después de la administración de calcitonina, los osteoclastos tienen receptores para esta hormona y la calcitonina aumenta la concentración de AMPc en poblaciones celulares óseas ricas en osteoclastos y aunque no está confirmado, el AMPc parece actuar como "segundo mensajero" de la acción de la calcitonina a nivel celular. Como resultado de la inhibición de la reabsorción ósea, esta hormona tiene un efecto hipocalcémico en aquellos procesos con un "turnover" óseo acelerado (108).

La disminución de la concentración plasmática de calcitonina ha sido implicada como un factor patogenético de la osteoporosis postmeno--

páusica (109) y la eficacia de las calcitoninas sintéticas como agentes terapéuticos en este proceso es motivo de controversia en estos últimos 15 años (110).

VITAMINA D

La vitamina D no es una prohormona aislada, sino que se puede hablar de la "familia de la vitamina D" integrada por diversos compuestos con actividad de vitamina D. La vitamina D₂ y sobre todo la vitamina D₃ son sus componentes más importantes.

Metabolismo de la vitamina D

- Síntesis cutánea de la vitamina D. La vitamina D₃ es producida en la piel por la irradiación ultravioleta. El 7-dehidrocolesterol u otros 5-7 esteroides diénicos en solventes orgánicos sufren fotólisis bajo la influencia de los rayos ultravioletas. En la epidermis está presente el 7-dehidrocolesterol que es producido en grandes cantidades por la piel y tras su fotólisis se convierte en previtamina D₃ que posteriormente sufre una isomerización a vitamina D₃ - - (110).

- Absorción de la vitamina D. La vitamina D se encuentra en concentraciones elevadas en el hígado de ciertos peces además, en diversos países se enriquecen alimentos como la leche, el pan y la mantequilla con suplementos de vitamina D₂ y D₃ por lo que es relativamente importante el considerar su absorción a pesar de que la producción endógena o cutánea es su principal fuente (111).

La vitamina D es fácilmente absorbible, Norman y De Luca administraron vitamina D radioactiva disuelta en aceite y demostraron que se absorbe el 80% de la vitamina administrada (88,111). Hay dudas sobre el mecanismo y la localización exacta de la absorción, sin embargo está claro que la absorción de vitamina D, dada su naturaleza liposoluble, requiere

la presencia de sales biliares a nivel del intestino delgado. La porción de intestino delgado implicada en la absorción no está clara, Schachter et al. (112) demostraron que la vitamina D se absorbe más rápidamente en los segmentos altos, mientras que otros estudios indirectos in vivo concluyen que la vitamina D disuelta en aceite probablemente se absorbe a nivel de la porción distal del intestino delgado. Dada su naturaleza liposoluble, gran parte de su absorción se realiza a través del sistema linfático, ligada a los quilomicrones (88).

- Metabolitos de la vitamina D

1. Conversión de vitamina D a 25-OHD

Tras administrar vitamina D de un 40% a un 80%, dependiendo del estudio y del investigador, se acumula en el hígado durante la primera hora, siendo el hígado el principal órgano en que aparece la vitamina tras su entrada en la circulación sistémica (113). A nivel hepático la vitamina D sufre una 25-hidroxilación en la fracción microsomal y mitocondrial mediante una reacción que requiere NADPH, oxígeno molecular e iones de magnesio. El hígado es el único órgano con capacidad de 25-hidroxilación de la vitamina D en el hombre y a pesar de que Turker et al. (114) demostraron en cultivos in vitro de intestino y riñón de pollo que estos órganos también poseían esta facultad, no ha podido ser demostrada ni en la especie humana ni en otros animales de experimentación como la rata.

Se conoce poco la naturaleza de la 25-hidroxilasa (25-OHasa) pero parece ser que en animales de experimentación como la rata está regulada por el producto de la reacción, y el nivel hepático de 25-OHD de alguna forma suprime la actividad de la 25-Ohasa. En el hombre, la autoregulación de la 25-hidroxilación es un tema de debate dado que la administración de grandes cantidades de vitamina D resulta en un incremento de los niveles plasmáticos de 25-OHD lo que sugiere que el sistema regulador es de una capacidad determinada. El mecanismo de esta regulación es desconocido, pero puede estar en relación con la existencia de 25-OH asa no es-

pecífica que no está sometida a una regulación por "feed-back" puede actuar sobre la vitamina D si hay una elevada concentración del substrato que permita su actividad. En conjunto, la regulación de la 25-hidroxiación debe considerarse como una función fisiológica que puede ser superada por una cantidad elevada y farmacológica de vitamina D (111).

La 25-OH D es de dos a cinco veces más activa que la vitamina D₃ -- von un "turnover" más rápido y una vida media más corta. Aunque a dosis farmacológicas actúa en los órganos diana de la vitamina D, a concentraciones fisiológicas no es activa y debe ser convertida en otros metabolitos. En realidad, la 25OHD es el resultado de una primera conversión en el metabolismo de la vitamina D y es su mayor forma circulante, así como el reflejo del estado nutricional del organismo respecto a la vitamina D (115).

2. Conversión de 25-OHD a 1,25 (OH)₂D

La 25-OHD es transportada al riñón donde sufre la conversión a -- 1,25 (OH)₂D, esta reacción probablemente se produce en el túbulo contorneado proximal donde es hidroxilada la 25-OHD en el carbono 1 por la 25-OHD-1 a hidroxilasa (1x-Ohasa) que se encuentra en la fracción mitocondrial. Experimentos con oxígeno-18 han demostrado que este enzima tiene una función mixta monooxigenasa que requiere NADPH, oxígeno molecular e iones de magnesio y es dependiente del citocromo P-450, pues los inhibidores de las reacciones dependientes del citocromo P-450 bloquean la 1-hidroxilación de la 25-OH D in vitro. La 1-hidroxilación se produce en el riñón, y aunque recientemente se ha demostrado una síntesis de 1,25 (OH)₂D en -- cultivos celulares de tejido placentario y de macrófagos alveolares de -- proceso granulomatosos, la regulación fisiológica y la importancia de esta 1-hidroxilación extrarenal es desconocida (116).

La actividad biológica de la 1,25 (OH)₂D es entre ocho y diez veces superior a la de la vitamina D y es el metabolito activo a nivel intestinal y óseo, por lo que debe ser considerada como una hormona. Se --

han hallado receptores para la $1,25 (OH)_2D$ en los órganos considerados clásicamente como efectores de la vitamina D: el intestino, el hueso y el riñón, y además en numerosos órganos y tejidos de mamíferos y aves: pancreas, placenta, piel, útero, colón, glándulas paratiroides, pituitaria, ovario y glándulas mamarias además de hígado, cerebro y médula espinal en algunas aves. LA importancia fisiológica de la existencia de estos receptores para la $1,25 (OH)_2D$ es desconocida (117).

La regulación de la síntesis de $1,25 (OH)_2D$ está influenciada por diversos factores, de ellos el más importante es la hipocalcemia. De Luca demostró que los niveles de calcio dietético afectaban la conversión de $25-OH D$ a $1,25 (OH)_2D$ con una estimulación inversamente dependiente del calcio de la dieta. La hipocalcemia es el principal mecanismo estimulador de la producción de $1,25 (OH)_2D$ (88). Este mecanismo está mediatizado por la parathormona al estar la OH asa bajo su control, sin embargo, recientemente Henry et al. (58) han sugerido que la influencia de los niveles de calcio sérico sobre el metabolismo de la $25-OHD$ posiblemente actuen por un mecanismo independiente de la parathormona. La hipofosfotemia aunque en menor grado que la hipocalcemia y por un mecanismo distinto estimula producción de $1,25 (OH)_2D$. Existen otros factores que pueden intervenir en la regulación de este metabolito, en concreto ciertas hormonas sexuales como la prolactina y el estradiol, cuya acción ha sido estudiada en las aves evidenciándose que estimulan el sistema 1 -hidroxilasa, sin embargo su acción en la especie humana está por demostrar (118).

3. Conversión de $25-OHD$ a $24,25 (OH)_2D$

Cuando hay un déficit de vitamina D hay una conversión a $25-OHD$ y posteriormente a $1,25 (OH)_2D$, pero cuando no hay déficit de vitamina D o se ingerien dietas muy ricas en calcio, la vitamina D se metaboliza a $25-OHD$ y predominantemente a otro metabolito aislado e identificado como $24,25 (OH)_2D$. Esta transformación se realiza a nivel renal por el enzima $25-OHD-24$ hidroxilasa ($24-O$ asa) que precisa igual que la $1-O$ asa

NADPH, oxígeno molecular e iones de magnesio, pero a diferencia de este enzima no es bloqueada por los inhibidores de las reacciones dependientes del citocromo P-450.

Se ha implicado un efecto directo de la $24,25 (OH)_2D$ en el metabolismo óseo en concreto sobre la mineralización, sin embargo, su importancia biológica no está aclarada y simplemente puede representar un paso inicial en la inactivación y eliminación de la molécula de vitamina D -- (88).

- Circulación enterohepática de la vitamina D: La circulación enterohepática de los metabolitos de la vitamina D, $1,25(OH)_2D$, 25-OHD y $24,25 (OH)_2D$ no representa sólo una vía de eliminación del organismo sino que además tiene una repercusión fisiológica importante ya que constituye una vía de reutilización de estos productos.

La vida media de la $1,25 (OH)_2D$ en plasma es aproximadamente de 10 horas y los metabolitos de la $1,25 (OH)_2D$ aparecen en heces y en orina en un período relativamente corto de tiempo después de la administración endovenosa de $1,25 (OH)_2D$ marcada. Estos metabolitos son excretados a través de la bilis al duodeno y de allí a las heces (119). En el hombre de un 15% a un 20% de una dosis de $1,25 (OH)_2D$ marcada administrada por vía endovenosa aparece en la bilis en un período de 6 horas y una no despreciable cantidad de esta radioactividad es reabsorbida por el intestino y reaparece en la bilis o es excretada por la orina como productos polares (120). Este proceso es muy similar al que ocurre en animales de experimentación como la rata (121).

Los metabolitos de la $1,25 (OH)_2D$ presentes en la bilis, a diferencia del esteral parenteral, son hidrosolubles y algunos de ellos están en forma de glucorónidos, mientras que otros son compuestos neutrales posiblemente sulfatos y disulfatos. Probablemente los glucorónidos de $1,25 (OH)_2D$ son reutilizados después de su hidrólisis (120).

Se ha sugerido la existencia de una circulación enterohepática también para el metabolito 25-OHD. Arnaud et al (122) tras administrar por vía endovenosa 25-OHD marcada, detectan en menos de 24 horas que un tercio de la radioactividad aparece en duodeno, probablemente mediatizada por la bilis, y que un 85% de la radioactividad secretada sufre una reabsorción intestinal.

La importancia de la contribución de la circulación enterohepática al "status" de la vitamina D ha sido puesta en duda por algunos autores. Clements et al (123) consideran que la cantidad de los metabolitos de la vitamina D presentes en la bilis es mínima (inferior al 4%) por lo que no se puede asumir que su reabsorción intestinal contribuya al "status" de dicha vitamina, sin embargo, hasta el momento actual los trabajos que sostienen esta hipótesis son insuficientes para mantenerla (124). Otros trabajos apoyan la importancia de la circulación enterohepática en el "status" de la vitamina D, así enfermos con by-pass o resección intestinal, a pesar de una exposición normal a la luz ultravioleta presentan niveles plasmáticos de 25-OHD bajos (125), además, se ha demostrado una reducción de la vida media de la 25-OHD marcada ($25\text{-OHD}^{3\text{H}}$) y un aumento de su excreción fecal en pacientes con malabsorción intestinal independientemente del "status" de la vitamina D, lo que sugiere una interrupción del círculo enterohepático como responsable de estas alteraciones (126).

Funciones de la vitamina D

- Intestino. La principal acción de la vitamina D, de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, es facilitar la absorción intestinal de calcio y permitir la adaptación del intestino a las necesidades orgánicas de este ion. Además estimula la absorción intestinal de fósforo por un mecanismo independiente al de la absorción de calcio (125).

El transporte de calcio a través de las células de la membrana intestinal tiene tres etapas: paso a través del borde en cepillo de la mem

brana, transporte a través de la célula y salida del calcio al espacio extracelular. Aunque se conocen diversos aspectos de la acción de la vitamina D sobre este proceso, quedan varias incógnitas por esclarecer -- (111).

Se ha propuesto que la vitamina D incrementa la permeabilidad del intestino delgado para el calcio, en concreto en el duodeno, afectando algún proceso cerca de la superficie en cepillo que facilita la entrada de este ion en la célula intestinal y además facilita su salida a través del polo basolateral de la célula al espacio extracelular, probablemente por un mecanismo de liberación de calcio de la mitocondria o bien por un incremento de la actividad de la bomba de sodio en la membrana celular -- (88).

La acción de la $1,25 (OH)_2D$ a nivel del intestino está mediatizada por una proteína descubierta en 1966 por Wasserman, la proteína transportadora de calcio (CaBp), en cuya síntesis participa esta hormona (127). De manera similar a otras hormonas esteroideas, la $1,25 (OH)_2D$ se asocia a un receptor citoplasmático de la célula diana, el complejo hormona-receptor emigra al núcleo y se asocia a la cromatina celular donde de alguna forma efectúa la transcripción de genomas específicos para la síntesis de proteína transportadora de calcio (88). La CaBp probablemente -- participa en la movilización de calcio del citoplasma celular al espacio extracelular, sin embargo, su misión exacta en el metabolismo celular -- del calcio no está absolutamente aclarada y quizá su principal misión -- sea la prevención del incremento de la concentración celular de calcio libre (118).

A nivel del intestino delgado distal, la $1,25 (OH)_2D$ facilita la absorción de fósforo mediante un sistema de transporte poco conocido -- (118).

El resultado neto de la acción de la vitamina D en el intestino es el incremento del calcio y fósforo séricos para permitir una normal mineralización del esqueleto, además de otras funciones fisiológicas de estos minerales (119,128).

- Hueso. El déficit de vitamina D provoca un fallo de la mineralización ósea que se manifiesta en el niño por raquitismo y por osteomalacia en el adulto (41). La principal razón para el fallo del proceso de mineralización parece ser el insuficiente aporte de calcio y de fósforo a los condroblastos y osteoblastos, además se ha especulado sobre una acción directa de los metabolitos de la vitamina D en la mineralización ósea, en concreto de la $1,25 (OH)_2D$ y de la $24,25 (OH)_2D$, basándose en la existencia de receptores para la $1,25 (OH)_2D$ en el tejido óseo, sin embargo, los ensayos que se han realizado en cultivos celulares no han aportado datos que justifiquen la confirmación de esta hipótesis (111).

La vitamina D juega un papel importante en la movilización del calcio del hueso al compartimento extracelular. Este proceso ha sido investigado in vivo y en cultivos tisulares, donde actúa la $1,25 (OH)_2D$ como metabolito activo, aunque in vivo requiere la acción conjunta de la PTH, provocando un estímulo de los osteoclastos que resulta en un incremento de la reabsorción ósea. Este proceso parece paradójico cuando se considera que la función principal de la vitamina D es permitir una mineralización normal del hueso, sin embargo, el resultado de la reabsorción ósea es proveer de calcio y posiblemente de fósforo para la formación y depósito de mineral en el tejido óseo, nuevamente sintetizado (118).

- Riñón. La vitamina D participa en la reabsorción renal de calcio probablemente a nivel del túbulo distal y a pesar de que el 99% del calcio filtrado se reabsorbe en ausencia de vitamina D o PTH, el 1% restante no es insignificante al aplicarse sobre los 7-10 gr. de calcio filtrados al día. En el metabolismo del fósforo, la $1,25 (OH)_2D$ incrementa la reabsorción renal de este ion a través de un mecanismo incierto, bien por una acción directa sobre el túbulo proximal o bien a través de una supresión de la secreción de PTH (88).

PATOLOGIA OSEA ASOCIADA A LA CIRROSIS BILIAR PRIMARIA

RECUERDO HISTORICO

La descripción en la literatura de la asociación de patología ósea y colestasis prolongada se remonta a 1910 en que Seidel et al. (129) describen el caso de una paciente portadora de una fístula biliar que desarrolló a los tres años una marcada cifosis dorsal y diversas fracturas de los huesos largos. En 1933 otro grupo de investigadores aplican el término de "osteomalacia hepática" a las lesiones óseas que desarrollaron dos niños con atresia biliar y otro con cirrosis hepática. Posteriormente, en 1939 Loeper et al. (130) describen una paciente con cirrosis biliar primaria que desarrolló una osteoporosis con fracturas vertebrales. Siete años más tarde, se publican dos casos de colangitis recurrente y cirrosis biliar primaria asociadas a osteoporosis y posteriormente, Ahrens et al. (131) detectan en 12 de 22 pacientes con CBP signos radiológicos de "osteoporosis", siete de los cuales presentaban cifosis y fracturas vertebrales. Atkinson et al. (132) en 1956 estudian de forma más rigurosa una serie de 24 pacientes con colestasis de larga evolución, 12 de ellos con CBP, y evidencian mediante readiología, determinaciones de bioquímica y biopsia ósea decalcificada, que 17 pacientes tenían patología ósea que correspondía en siete casos a una osteomalacia, en tres casos a una osteoporosis y en dos pacientes se asociaban ambos procesos, además otros cuatro pacientes tenían una posible "osteomalacia inicial". A partir de este estudio, pero fundamentalmente a partir de 1965, son numerosos los estudios realizados, generalmente en los países anglosajones, que intentan esclarecer la incidencia, tipo y patogenia de la patología ósea metabólica asociada a la cirrosis biliar primaria.

OSTEOMALACIA Y CBP

La estimación de la prevalencia de osteomalacia asociada a la CBP ha sido muy variable oscilando entre un 0 y un 75% (133-141). A partir de los estudios iniciales que establecen que la osteomalacia se -

asocia con mayor o menor frecuencia a la CBP, son diversos los estudios realizados y a su vez contradictorios. En 1968, Kehayoglou et al. (134) estudian una serie de 12 pacientes con CBP mediante biopsia ósea con estudio del espécimen no decalcificado y diagnostican una osteomalacia en sólo un paciente, pero consideran que otros siete pacientes (66%) pueden ser portadores de una osteomalacia "inicial". Seis años más tarde, el mismo grupo de investigadores ingleses utilizando criterios histológicos diagnostican en una serie de 11 pacientes con CBP una enfermedad metabólica ósea asociada en cuatro pacientes, que corresponde a una osteomalacia en dos casos (18%) y a una osteoporosis en los dos casos restantes (135). Long et al., después de describir cuatro enfermos con CBP y osteomalacia (136), en 1978 comunican una sorprendentemente elevada prevalencia de osteomalacia en las hepatopatías crónicas y en concreto en la CBP, de tal forma que diagnostican en 22 de 32 pacientes (69%) una osteomalacia asociada en cinco casos a una osteoporosis, además otros cinco pacientes tenían una osteoporosis sin trastorno de la mineralización ósea. De estos 32 pacientes, 20 padecían una CBP y de ellos, 15 presentaban una osteomalacia (75%) (137). Sin embargo, un estudio posterior realizado por Compston et al. (138) en una población de pacientes similares y utilizando criterios histológicos diagnósticos de osteomalacia más estrictos, hallan que sólo tres de 30 pacientes con CBP (10%) eran portadores de dicha patología ósea. A partir de entonces, diversos estudios realizados en Europa y Estados Unidos coinciden en la detección de una baja prevalencia de osteomalacia asociada a CBP, sin embargo, otros investigadores siguen hallando una prevalencia elevada de este proceso. Así, Reed et al. (139) en 1980 estudian una serie de siete pacientes con CBP del área de Chicago y diagnostican una osteomalacia en cinco de ellos (71%) mediante biopsia ósea con estudio morfométrico pero sin estudio de la dinámica ósea, técnica que adoptan Dibble et al. (140) en su estudio de una serie de 12 pacientes del área de Leeds, cinco de los cuales (41%) tenían una osteomalacia. A pesar de ello, el estudio que incluye mayor número de pacientes con colestasis crónica realizado hasta la actualidad y en el que se utilizan unos criterios histológicos estrictos no aporta ningún nuevo caso de osteomalacia a los diagnostica-

dos en las series de pacientes británicos con colestasis crónica (141).

OSTEOPOROSIS Y CBP

La asociación de osteoporosis a la CBP es aceptada desde principios de este siglo de tal forma que incluso las dos series en que se detectó una mayor incidencia de osteomalacia, ésta se asociaba en un elevado porcentaje de casos a una disminución de la masa ósea (137,139). Sin embargo, han sido fundamentalmente las investigaciones realizadas a partir de 1980 que han permitido concluir a Arnaud (142) y a Kaplan (143), que la osteoporosis es la patología ósea que comúnmente se asocia a la CBP, aunque indudablemente, se puede desarrollar una osteomalacia en alguno de los pacientes. En 1982, Matloff et al. (144) diagnostican una osteoporosis en nueve de 10 pacientes con CBP y Herlong et al. (145) en el mismo año demuestran mediante análisis histomorfométrico y densitometría fotónica simple una pérdida importante de masa ósea en su serie constituida por 15 pacientes con CBP. Ninguno de los dos grupos de investigadores hallaron un sólo caso de osteomalacia entre sus pacientes. Sorprendentemente, Cuthbert et al. (146), dos años más tarde, no hallan osteoporosis ni osteomalacia en una serie de 11 pacientes con CBP analizados mediante biopsia ósea, sin embargo, un estudio posterior realizado por Hodgson et al. (147) demuestra que casi la mitad de 15 pacientes con CBP tienen una densidad mineral ósea, determinada en columna lumbar, inferior al umbral teórico de fractura.

Si el tipo y frecuencia de patología ósea asociada a la CBP es un motivo de controversia, también lo ha sido el subtipo de osteoporosis asociada. Así, mientras los trabajos de Matloff et al. (144) y de Herlong et al. (145) sugieren a Arnaud (142) que la osteoporosis asociada a la CBP se caracteriza por un estado de alto "turnover" óseo, Compston (133) tras revisar los resultados de la histomorfometría ósea de diversas series de pacientes con CBP (141,144-146) y analizado de forma más exhaustiva los parámetros de valoración de osteoide,

concluye que en la CBP hay un déficit de formación ósea, teoría que confirman Hodgson et al. (147) lo que apoya que la osteoporosis asociada a la CBP es de bajo "turnover" óseo.

PATOGENIA DE LA PATOLOGIA OSEA ASOCIADA A LA CBP

A). OSTEOMALACIA. METABOLISMO DE LA VITAMINA D.

El déficit de vitamina D ha sido el factor implicado en el desarrollo de osteomalacia en la CBP (148). Esta afirmación se basa en la determinación de niveles plasmáticos de 25-hidroxivitamina D (25-OH D) bajos en series de pacientes con CBP y osteomalacia (144,150) Sin embargo, no sólo es controvertida la existencia de una correlación - entre el grado deficitario del "status" de vitamina D y la presencia de osteomalacia histológica (137), sino que además ciertos investigadores han detectado niveles bajos de 25-OH D en pacientes con CBP sin osteomalacia (140,146) y no es infrecuente el hallazgo de niveles plasmáticos en el límite bajo de la normalidad en pacientes sin esta patología ósea (151). Por otro lado, la respuesta terapéutica de los pacientes con CBP y osteomalacia a los metabolitos de la vitamina D (139,152) es otro factor que apoya su implicación en la patogenia de esta patología ósea. Además, Compston et al. (138) demuestran que los pacientes con CBP que reciben vitamina D de forma profiláctica tienen unos niveles plasmáticos de 25-OH D superiores a los de los pacientes no tratados y en caso de asociarse una osteomalacia su severidad es inferior a la de los pacientes que no recibían este tratamiento. La existencia de unos niveles plasmáticos bajos de 25-OH D en una no despreciable proporción de pacientes con CBP (153) asociados o no a una osteomalacia, ha sido atribuido a distintos mecanismos (Tabla VIII) (153-158) que se comentan a continuación:

1. Producción hepática de vitamina D

Dado que la síntesis endógena de vitamina D es la principal fuente de 25-OH D circulante y que el hígado es la ubicación de la

25-hidroxilasa, es lógica la sospecha de una alteración de su actividad enzimática en la hepatopatía crónica, sin embargo, esta hipótesis no ha sido confirmada en la CBP, al demostrarse no sólo una corrección de los niveles circulantes de 25-OH D tras la administración parenteral de suplementos de vitamina D en pacientes previamente deficitarios (159), lo que implica un déficit de sustrato y no de hidroxilación, sino además, al demostrarse por distintos autores una producción normal de 25-OH D en pacientes con colestasis crónica (160,161).

2. Síntesis endógena de vitamina D

Son poco conocidos los efectos de la ictericia en la síntesis cutánea de vitamina D, sin embargo, los datos obtenidos hasta la actualidad sugieren que la hiperbilirrubinemia no interfiere en la producción endógena de dicha vitamina. Así, Jung et al. (161) demuestran un incremento de los niveles plasmáticos de 25-OH D tras exposición a la irradiación ultravioleta similar en tres pacientes con CBP, dos de ellos con ictericia importante, al de un grupo de individuos normales. Además, Long et al. (162), no evidencian una alteración de la síntesis cutánea de vitamina D₃ en ratas con hiperbilirrubinemia - al compararlas con ratas anictéricas.

Si bien la ictericia parece no interferir la síntesis endógena de vitamina D, la elevada prevalencia de osteomalacia en series de pacientes residentes en Gran Bretaña, Bélgica y Chicago respecto a la de los pacientes procedentes de áreas con mayor radiación ultravioleta, ha sugerido que el defecto de exposición solar puede comportar un déficit en la síntesis endógena de vitamina D en los pacientes con CBP (163,164).

3. Inducción enzimática por medicamentos

El empleo de fenobarbital para el control del prurito en los pacientes con CBP puede interferir el metabolismo de la vitamina D al inducir la actividad enzimática microsomal que tiene como consecuencia un incremento del metabolismo con formación de metabolitos inactivos.(148)

4. Absorción intestinal de vitamina D

El déficit de sales biliares en la luz intestinal tiene como consecuencia el desarrollo de esteatorrea y la malabsorción de las vitaminas liposolubles. De esta forma, la malabsorción intestinal de vitamina D -- puede contribuir parcialmente a los bajos niveles plasmáticos de 25-OH D de los pacientes con CBP (165). Krawit et al. (160), en 1977 demuestran una malabsorción de vitamina D₃ administrada por vía oral en cuatro pacientes con CBP y esteatorrea, de forma que la absorción de vitamina D se correlacionaba negativamente con la excreción de grasas en heces. Dos años más tarde, Bagarry et al. (165) confirmaron este hallazgo. En 1982, Danielsson et al. (166) estudian una serie de ocho pacientes con CBP, asintomática en cuatro de ellos y evidencian una malabsorción intestinal de vitamina D en los ocho pacientes con una reducción de la absorción de un 40% respecto a la de un grupo control constituido por individuos sanos. La absorción de vitamina D también se correlacionaba negativamente con la excreción fecal de grasas en los pacientes con esteatorrea, pero además, los tres pacientes portadores de una CBP asintomática y sin esteatorrea también tenían una malabsorción de esta vitamina. Estos resultados contrastan con los de Bengoa et al. (167) que hallan un marcado déficit de la absorción de vitamina D en los pacientes con colestasis severa, pero una absorción normal en asociación a una colestasis moderada.

Por otro lado, la 25-OH D excretada a la bilis y que sigue la circulación enterohepática también puede estar afectada por este proceso de malabsorción y contribuir de forma no insignificante a los niveles plasmáticos de 25-OH D bajos de los pacientes con colestasis crónica (154).

El empleo terapéutico de resin-colesteramina, agente quelante de las sales biliares, puede aumentar la malabsorción intestinal de vitamina D (168). Su efecto sobre la absorción intestinal de esta vitamina ha sido demostrado en animales de experimentación (169) y Compston et al. (149) sugirieron que la resin-colesteramina contribuye a la malabsorción de 25-OH D administrada por vía oral. Sin embargo,

otros estudios que incluyen pacientes con CBP, algunos de ellos en tratamiento prolongado con resín-colesteramina, demuestran que la existencia de niveles plasmáticos de 25-OH D bajos no es exclusiva de los pacientes que siguen este tratamiento y que además, los pacientes que reciben de forma continuada resín-colesteramina y tienen niveles plasmáticos bajos de 25-OH D rápidamente normalizan estos niveles cuando se les administra 25-OH D a pesar de seguir el tratamiento (139,145).

5. Proteína transportadora de la vitamina D

En la hepatopatía crónica puede haber una reducción de hasta un 20% de la concentración plasmática de la globulina transportadora de la vitamina D. Sin embargo, dada su baja saturación (2-3%), esta reducción es insuficiente para afectar la concentración plasmática de 25-OH D (154,155).

6. Excreción urinaria de los metabolitos de la vitamina D

En los pacientes con CBP hay un incremento de la excreción urinaria de los metabolitos de la vitamina D. Krawit et al. (160) demostraron una excreción urinaria de los metabolitos de la vitamina D superior a la de un grupo de individuos normales, que además se correlacionaba con los niveles de bilirrubina sérica. Sin embargo, las causas de este hallazgo no están claras, y se han barajado tres hipótesis: que se trate de una vía alternativa a la excreción biliar de los metabolitos de la vitamina D en los pacientes con colestasis, que exista una alteración en el metabolismo de la vitamina D o bien que sea secundario a una reducción de la reabsorción tubular renal de los metabolitos de dicha vitamina. De todas formas, aunque el incremento de las pérdidas urinarias pueda contribuir al déficit de vitamina D en la CBP, es improbable que ello sea importante cuantitativamente en la mayoría de casos (142).

7. Metabolitos renales de la vitamina D

A pesar de que son escasos las series de pacientes con CBP en las que se ha determinado la concentración plasmática del metabolito 1,25 dihidroxivitamina D ($1,25 (OH)_2 D$), la mayoría de autores coinciden en la existencia de niveles normales de esta hormona en la mayoría de pacientes con colestasis crónica (146,151,170). Sólo Davies et al. (171) han hallado unos niveles plasmáticos de $1,25 (OH)_2 D$ bajos en cinco pacientes con CBP que además, tenían una tasa de 25-OH D inferior a la normalidad.

La concentración plasmática del metabolito 24,25 dihidroxivitamina D ($24,25 (OH)_2 D$) ha sido determinada en un número muy reducido de pacientes con CBP y los resultados son dispares (146,151,172). Mientras Cuthbert et al. (146) hallan niveles normales de $24,25 (OH)_2 D$ en su serie constituida por 11 pacientes con CBP, nueve de los cuales tenían una concentración plasmática de 25-OH D normal, Kaplan et al. (151) demuestran que ocho de sus 10 pacientes (80%) tenían unos niveles séricos de $24,25 (OH)_2 D$ indetectables asociados a unos niveles de 25-OH D en el límite bajo de la normalidad y que aumentaron tras administrar 25-OH D a dosis terapéuticas. Estos resultados sugieren a estos investigadores que el déficit del metabolito $24,25 (OH)_2 D$ podría ser un factor implicado en el desarrollo de la patología ósea asociada a la CBP.

B). PATOGENIA DE LA OSTEOPOROSIS ASOCIADA A LA CBP

La patogenia de la osteoporosis asociada a la CBP no está bien establecida y parece ser multifactorial. A continuación se exponen los mecanismos implicados en su desarrollo:

1. Nivel de estrógenos

La coincidencia del desarrollo de osteoporosis en una población de franco predominio femenino y de edades comprendidas entre 40 y 60 años ha sugerido la hipótesis de que la osteoporosis en la CBP podría estar en relación con un déficit estrogénico, mecanismo implicado en la osteo-

porosis postmenopausica. Sin embargo, y a pesar de que el nivel de estrógenos no ha sido evaluado en los pacientes con CBP, Pentikäinen et al. (173) tras estudiar 33 varones con hepatopatía crónica alcohólica concluyen que en dicha enfermedad hay un incremento del nivel plasmático de estrógenos. Por otro lado, en las series de pacientes con CBP en que se han descrito un mayor número de casos de osteoporosis, el porcentaje de mujeres postmenopáusicas ha sido bajo. Así, en la serie de Matloff et al. (144) sólo dos de las ocho pacientes con osteoporosis (25%) eran postmenopáusicas y todas las pacientes con CBP estudiadas por Hodgson et al. (147) reglaban regularmente y además la concentración plasmática de estradiol determinada en seis pacientes no estaba disminuida. Así pues, esta teoría permanecerá por esclarecer hasta que se realicen determinaciones de las hormonas sexuales femeninas en una población amplia de pacientes con CBP y osteoporosis.

2. Absorción intestinal de calcio

La malabsorción intestinal de calcio es uno de los principales mecanismos implicados en el desarrollo de la osteoporosis senil. En la CBP su prevalencia es elevada y su frecuencia oscila entre un 30% y un 80% según los distintos investigadores (146,174). En las series en que se ha comunicado un mayor número de pacientes con osteoporosis, aproximadamente un 50% tenían un déficit de la absorción intestinal de calcio (144,166), que se correlacionaba en la serie de Matloff et al. (144) con una disminución del volumen trabecular, relación que no ha sido confirmada en otras series de pacientes con CBP (167).

Los mecanismos implicados en la malabsorción intestinal de calcio han sido diversos: 1). alteración en la fase intraluminal de la absorción de calcio secundaria a la formación de jabones insolubles de calcio en presencia de un exceso de grasas no absorbibles, 2). defecto de la absorción secundario a un déficit de vitamina D, en concreto de su metabolito activo $1,25 (OH)_2 D$, 3). resistencia de los receptores de la mucosa intestinal a la acción del metabolito $1,25 (OH)_2$

D.

Kehayoglou et al. (174) hallaron una buena correlación entre la malabsorción intestinal de calcio y la excreción fecal de grasas, sin embargo, otros investigadores consideran que la malabsorción de calcio se relaciona más con el grado de ictericia que con la severidad de la esteatorrea (134,145) e incluso Matloff et al. (144) no hallan relación entre la malabsorción intestinal de calcio y la excreción fecal de grasas. Sin embargo Kehayoglou et al. (174) tras administrar triglicéridos de cadena media consiguen una normalización de la absorción intestinal de calcio en el 85% de sus pacientes y atribuyen este efecto al incremento en la solubilización intraluminal del calcio y a la disminución del exceso de grasas en la luz intestinal, hecho que vino a confirmarse en los pacientes de su serie al disminuir en el 90% de ellos la severidad de la esteatorrea.

Debido a que en la osteoporosis senil la malabsorción intestinal de calcio se ha relacionado con un déficit de $1,25 (OH)_2D$, Bengoa et al. (167) en 1984 estudian la relación entre "status" de vitamina D y absorción intestinal de calcio en 11 pacientes con CBP y no hallan relación - entre los niveles plasmáticos de $1,25 (OH)_2D$ y la absorción de calcio, - hecho ya descrito por Kaplan et al. en 1982 (151). Sin embargo, Bengoa - et al. (167), a diferencia de los resultados de Kaplan, hallan una buena correlación entre los niveles séricos de $25-OH D$ y absorción de calcio, de tal forma que concluyen que los niveles séricos del metabolito hepático de la vitamina D son útiles en la predicción de la malabsorción intestinal de calcio en estos pacientes, y que su administración a dosis terapéuticas mejora dicha absorción. Whelton et al. (175) concuerdan con Bengoa (167) en que la administración de vitamina D incrementa la absorción intestinal de calcio e incluso la normaliza, tal como ocurrió en cuatro de cinco pacientes de su serie tratados con vitamina D a dosis de 100.000 u. i semanal administrada por vía parenteral. Farrington et al. (176) -- consiguen resultados similares con la administración de $1,25 (OH)_2D$. Estos resultados sugieren que no hay una resistencia de los receptores de la mucosa intestinal a la acción de la vitamina D.

3. Función paratiroidea

La patología ósea de la CBP no parece estar en relación con un incremento de los niveles séricos de parathormona (154). En la mayoría de las series de pacientes con CBP en que se evaluó la función paratiroidea, los niveles séricos de PTH estaban dentro de la normalidad (137,145) y sólo algún paciente presentaba de forma aislada niveles aumentados de esta hormona (139,144). Incluso en la serie de Cuthbert et al. (146) en que hallan un incremento de la reabsorción ósea, lo que podría sugerir la existencia de un hiperparatiroidismo asociado, sólo dos de ocho pacientes con aumento de la superficie de reabsorción tenían unos niveles elevados de PTH.

Tampoco el estudio histológico de las biopsias óseas de pacientes con CBP ha evidenciado en ninguna de las series evaluadas signos sugestivos de hiperparatiroidismo como fibrosis paratrabecular u osteoclasia disecante (137,139).

C). FISIOPATOLOGIA DE LA OSTEOPOROSIS EN LA CBP

La osteoporosis, tal como se ha expuesto previamente, puede ser el resultado de un estado de alto o bajo remodelaje óseo. En la osteoporosis de alto "turnover" la formación ósea está aumentada o es normal aunque la reabsorción ósea siempre excede a la formación, por el contrario, en la osteoporosis de bajo "turnover" la formación ósea está disminuida (43).

1. Formación ósea

No existe acuerdo entre los distintos investigadores de la patología ósea de la CBP acerca del grado de formación ósea en los pacientes con osteoporosis. Así, mientras Herlong et al. (145) hallan que los parámetros histomorfométricos de valoración de volumen y superficie de osteoide y el grado de aposición ósea están dentro de la normalidad en su serie de pacientes, lo que implica que la

formación ósea es normal. Matloff et al. (144) demuestran en su grupo de 10 pacientes, con un 90% de osteoporosis, una disminución del volumen y grosor de osteoide con un grado de aposición ósea normal en cinco de ellos, sin embargo, otros cinco pacientes tenían marcajes únicos de tetraciclinas en la superficie de hueso trabecular con ausencia de marcajes dobles, por lo que sugieren que estos pacientes podrían tener una malabsorción de tetraciclinas, o bien un estado de muy bajo remodelaje óseo. Hodgson et al. (147) apoyan esta última hipótesis y demuestran mediante determinación del índice de formación ósea que en la CBP hay un déficit de formación secundario a una disminución de la función osteoblástica. En su serie de 13 pacientes, 11 de ellos tenían una marcada supresión de la formación ósea asociada a una normalidad en el número y morfología de los osteoblastos, lo que implica que el déficit de formación es secundario a una reducción de función y no a un déficit de población osteoblástica. La causa de este mecanismo es desconocida pero los autores sugieren que este déficit de función osteoblástica podría estar en relación con los efectos tóxicos de sustancias productos de la enfermedad hepática y de la colestasis, como el cobre o las sales biliares. Stelson et al. (177), en un trabajo publicado recientemente, confirman los hallazgos de Hodgson al hallar un bajo "turnover" óseo en una serie de 30 pacientes con CBP y además, también sugieren que esta disminución del turnover óseo es secundaria a un déficit de la función osteoblástica, al hallar una disminución del grosor trabecular y del grosor de osteoide asociados a una reducción del grado de formación ósea.

2. Reabsorción ósea

La mayoría de autores coinciden en que la reabsorción ósea no está incrementada en los pacientes con osteoporosis y CBP, aunque algún paciente puede presentar de forma aislada un aumento de la superficie de reabsorción. Bengoa et al. (167) en su serie de 11 pacientes con CBP sólo hallan un paciente con reabsorción ósea aumentada y Hodgson et al. (147) tampoco encuentran un incremento de la reabsorción ósea en su serie. Sin embargo, Cuthbert et al. (146) sugieren

que el incremento de la reabsorción ósea podría ser una fase inicial de la patología ósea asociada a la CBP al hallar en su serie de 11 pacientes un marcado incremento de la superficie de reabsorción en ausencia de osteoporosis. Sin embargo, y tal como opinan otros autores, ello podría no representar un estado de alto remodelaje, sino un fallo de la formación en la secuencia del remodelaje óseo. Esta teoría se basa en la escasez de osteoclastos asociados a las superficies de reabsorción y al déficit de aposición ósea demostrado en un porcentaje elevado de los pacientes de esta serie (147). Stelson et al. (177) confirman parcialmente la teoría de Cuthbert (146) y sugieren que el incremento de la reabsorción ósea, que hallan sólo en las pacientes postmenopáusicas de su serie, puede contribuir a la pérdida de masa ósea en la CBP.

**TABLA VIII. CAUSAS POTENCIALES DE DEFICIT DE VITAMINA D EN LOS PACIENTES
CON CBP**

- Déficit de exposición a la luz ultravioleta
- Dieta pobre en vitamina D
- Interferencia de la bilirrubina cutánea en la conversión de 7-dehidro-
colesterol a vitamina D₃
 - (. exógena
 - (. endógena, en la circulación ente-
 - Malabsorción de la vitamina D (rohepática
 - (. ambas, aumentada por la colestera
mina
- Inducción enzimática, por drogas, a metabolitos inactivos
- Incremento de la excreción urinaria
- Degradación de metabolitos

P A R T E P R A C T I C A

PACIENTES Y METODOS

PACIENTES

Se han estudiado 20 pacientes con cirrosis biliar primaria -- (18 mujeres y 2 varones) con edades comprendidas entre 33 y 69 años y -- una edad media de 48.6 ± 10.6 años. Nueve de las 18 mujeres de la serie eran postmenopáusicas, con una duración de la postmenopausia que oscilaba entre uno y 24 años (media: 6.7 ± 7.3 años).

El diagnóstico de cirrosis biliar primaria (CBP) se basó en la presencia de por lo menos tres de los siguientes criterios:

1. Historia clínica de colestasis crónica
2. Aumento de la fosfatasa alcalina igual o superior a tres -- veces el valor normal.
3. Positividad de los anticuerpos antimitocondriales
4. Biopsia hepática compatible con la enfermedad.

En todos los pacientes se descartó la existencia de cualquier proceso que aparte de su hepatopatía pudiera provocar una alteración metabólica del hueso y en los once pacientes que recibían medicaciones -- que potencialmente afectan al metabolismo mineral y óseo (resin-colest_eramina, barbitúricos, calcio, vitamina A y D) se les retiró la medicación antes de realizar el estudio. Así, se suspendió el tratamiento -- con resin-colesteramina y calcio 15 días antes de su ingreso en protocolo y el tratamiento con vitamina D tres meses antes del inicio del estudio. Nueve pacientes no seguían ningún tratamiento de forma continuada.

Los pacientes fueron incluidos en el protocolo independientemente de si presentaban o no síntomas sugestivos de patología metabólica ósea.

METODO

1. Anamnesis

Se realizó a todos los pacientes una anamnesis que incluía el interrogatorio acerca del desarrollo de fracturas de Colles, de cuello de femur o proximal de húmero. Además, se valoró si habían presentado dolor vertebral especificando si se trataba de dolor vertebral crónico o de crisis vertebrales subagudas, entendiéndose por ello el desarrollo de dolor dorsal o lumbar, invalidante y de inicio agudo, con una duración de dos a seis semanas.

Asimismo, se interrogó acerca de los factores de riesgo para el desarrollo de patología metabólica ósea: historia ginecológica con especial referencia a la duración de la postmenopausia, hábitos tóxicos (tabaquismo o ingesta crónica de alcohol), déficit en la ingesta de productos lácteos, déficit de exposición solar o antecedentes de períodos prolongados de reposo absoluto. Además se valoraron los tratamientos realizados que pudieran contribuir al desarrollo de patología metabólica ósea.

2. Exploración física

Se realizó una exploración física con especial referencia a las alteraciones de la estática de la columna vertebral (cifosis y/o cifoescoliosis), a los signos de colestasis (ictericia, lesiones de rascado, xantomas y xantelasmas) y de insuficiencia hepatocelular.

3. Radiología ósea

Se practicó a todos los pacientes radiografías de columna dorsal y columna lumbar (proyecciones: anteroposterior y perfil), así como radiografía de pelvis (proyección anteroposterior). Se valoraron según el siguiente método: todas las radiografías fueron revisadas separadamente y con desconocimiento del nombre del paciente por dos observadores (J.R. y N.G.) quienes valoraron los siguientes parámetros:

- a). *Desaparición de la trabeculación horizontal con persistencia de la vertical en los cuerpos vertebrales*
- b). *Aumento relativo de la densidad del contorno de los cuerpos vertebrales*
- c). *Pseudoaumento de la altura de los espacios intervertebrales a expensas de una disminución de los cuerpos vertebrales correspondientes*
- d). *Presencia de una o más fracturas vertebrales*

Se clasificó el grado de osteopenia radiológica, según los siguientes criterios:

- *osteopenia grado I: presencia de uno o dos de los parámetros a, b, y c.*
- *osteopenia grado II: presencia de los tres parámetros a, b y c*
- *osteopenia grado III: cuando al grado anterior se asocia el parámetro d.*

Se estableció el diagnóstico definitivo de osteopenia radiológica únicamente en aquellos casos con grados II y III, cuando había una misma valoración por los dos observadores.

4. Determinaciones bioquímicas

4.1. Estudio del grado de colestasis biológica y de la función hepatocelular. *A todos los pacientes se les determinó la concentración plasmática de bilirrubina total y de la fracción conjugada en - - aquellos con bilirrubinemia total superior a 1.2 mg/dl; la concentración sérica de la fosfatasa alcalina y de las sales biliares - (18 pacientes).*

También se determinó la concentración plasmática de colesterol y de albumina, así como la tasa de protombina en los 20 pacientes - que constituyen la serie.

4.2. Estudio del metabolismo mineral (fosfocálcico). Se determinaron los siguientes parámetros:

- 4.2.1. Concentración sérica de calcio iónico, en 19 pacientes, utilizando el sistema de analizador selectivo, modelo -- Orion. La extracción de las muestras se realizó evitando la compresión venosa prolongada y las muestras se mantuvieron en condiciones anaerobias hasta su inmediata de-- terminación.
- 4.2.2. Concentración plasmática de calcio, por método colorimétrico en analizador automático con orto-cresolftaleína-complexona.
- 4.2.3. Concentración plasmática de fósforo, por método colorimétrico en analizador automático con molibdato/amónico.
- 4.2.4. Concentración plasmática de magnesio, en 19 pacientes, - por espectrofotometría de absorción atómica.
- 4.2.5. Concentración sérica de la fosfatasa alcalina (indicada en apartado anterior).
- 4.2.6. Excreción urinaria de calcio, expresada según el índice calciuria/creatinuria (18 pacientes). La excreción urinaria de calcio se determinó por espectrofotometría de absorción atómica y la creatinuria por el método de Jaffé modificado. Previamente a la recogida de orina durante - 24 h., los pacientes habían seguido una dieta restringida en calcio que representaba un aporte diario inferior a 500 mg. de calcio/día.
- 4.2.7. Excreción urinaria de hidroxiprolina de 24 horas, en 17 pacientes, por método colorimétrico con reactivo de Ehrlich y determinación cuantitativa por espectrofotometría. Durante los tres días previos los pacientes habían segui-- do una dieta pobre en gelatinas. También se expresó la - excreción de hidroxiprolina según el índice hidroxiprolinuria/creatinuria.

4.3. Estudio de la función renal. Se determinó en todos los pacientes la concentración plasmática de BUN y creatinina.

5. Determinaciones hormonales

Se determinaron en los 20 pacientes los niveles plasmáticos de parathormona (PTH) C-terminal y N-terminal, calcitonina (CT), 25 hidroxivitamina D (25-OHD) y 1,25 dihidroxivitamina D (1,25) (OH)₂D).

- 5.1. Parathormona C-terminal (PTH-C). Mediante radioinmunoensayo (RIA) (Immuno Nuclear Corporation) utilizando un antisuero de pollo -- frente a la fracción carboxiterminal de la parathormona bovina -- que presenta reactividad cruzada con el fragmento 65-84 de la parathormona humana. La sensibilidad del ensayo es de 0.15 ng/ml, y las reproductibilidades intraensayo e interensayo son de 5.2 y -- 14,3% respectivamente. Este ensayo no presenta inmunoreactividad frente al fragmento aminoterminal 1-34.
- 5.2. Parathormona N-terminal (PTH-N). Mediante radioinmunoensayo (RIA) (Nichols Institute Diagnostics) utilizando un antisuero de pollo después de su inmunización con un fragmento sintético de parathormona humana 1-34. La sensibilidad del método es de 5 pg/ml y las reproductibilidades intraensayo e interensayo son de 4 y 7.3%, -- respectivamente. Asimismo este ensayo no presenta inmunoreactividad frente al fragmento carboxiterminal 65-84.
- 5.3. Calcitonina. Se determina mediante radioinmunoensayo (RIA) (Immuno Nuclear Corporation) con antisuero de conejo obtenido tras su inmunización con calcitonina sintética humana 1-32. La sensibilidad es de 15 pg/ml y las reproductibilidades intraensayo e interensayo son 5.1 y 13.5%, respectivamente.
- 5.4. 25-Hidroxivitamina D (25-OH D). Se determina mediante un método de "protein-binding" (CPB). El ensayo se basa en la competición

de 25-OH D tritiada y 25-OH D no marcada para ligarse a la proteína transportadora de 25-OH D obtenida del suero de carnero. Se añade el metabolito tritiado a las muestras de suero y posteriormente se aplican a una microcolumna de cromatografía de octodecil sílice (ODS). Los metabolitos se eluyen secuencialmente con 5 ml. de metanol: agua (7:3) y 3 ml. de acetonitrilo. Se recogen las fracciones correspondientes y se determina el porcentaje de recuperación del metabolito tritiado. Aproximadamente el 15% de 24,25 (OH)₂D y menos del 3% de 25-OH D se eluyen con los primeros 5 ml. de metanol: agua, un 90% de 24,25 (OH)₂D y menos de un 10% de 25-OH D se eluyen con 25 ml. de metanol: agua, los metabolitos restantes son eliminados totalmente con 3 ml. de acetonitrilo.

A un alícuota del extracto resultante se añade el trazador y la proteína de ligado, incubándose a 4° C durante dos horas. La fracción no ligada a la proteína transportadora de 25-OH D se separa por absorción con carbón recubierto con dextrano y el complejo proteína ligando del sobrenadante es decantado para la medición de la radioactividad con un contador de centelleo.

- 5.5. 1,25 Dihidroxitamina D (1,25 (OH)₂D). Se determina mediante radioreceptor-ensayo específico. El receptor se obtiene de citosol de mucosa intestinal de pollo raquíptico. En resumen el método consiste en: a 2 ml. de suero o plasma se añade 1500 dpm de trazador 1-25 (OH)₂(26.27 metil³H) D₃ y se incuba durante una hora a temperatura ambiente. Se extrae con diclorometano: metanol 1:2 v/v. y el extracto obtenido se lava con diclorometano: KOH 0.2 M 1:1 v/v y dos veces con metanol: agua 1:1 v/v. Se purifica por cromografía en una columna de Sephadex LH-20 de 10 x 160 mm utilizando como eluyente hexano:cloroformo:metanol 9:1:1 v/v. Se recolecta la fracción comprendida entre 30 y 55 ml. y se seca bajo corriente de nitrógeno. Se rediluye el extracto seco con isopropanol. Una parte alícuota se utiliza para el cálculo del porcentaje de recuperación (54-71%). Dos partes alíquotas se utilizan para el ensayo incubándose durante una hora a 22° C con el receptor y 7000 dpm de traza-

dor . Se utiliza una curva standard con un rango entre 1 y 64 pg/tubo. Se separa la fracción libre de la ligada con charcoal-dextra no contándose la fracción ligada en un contador de centelleo líquido. La sensibilidad es de 1 pg/tubo, las reproductibilidades intraensayo e interensayo son de 11.6% y 16.6% respectivamente y la especificidad es de 100% para $1,25 (OH)_2D_3$ y 80% para $1,25 (OH)_2D_2$.

6. Pruebas de diagnóstico de malabsorción

Para valorar la existencia de esteatorrea se realizó la prueba del aliento con trioleína ^{14}C a 18 pacientes, a los que además se determinó la capacidad de absorción de D-xilosa (16 pacientes) para descartar la afección de la mucosa del intestino proximal. La absorción intestinal de calcio se determinó en 16 pacientes mediante la capacidad de absorción de ^{47}Ca .

6.1. Prueba del aliento con trioleína ^{14}C : Se efectua después de 12 horas de ayuno y de abstinencia de tabaco, administrando 5 μCi de trioleína ^{14}C por vía oral en solución de tolueno, conjuntamente con 15 ml. de aceite de pepita de uva y 5 ml. de aceite de oliva. Las muestras de aire exhalado por el paciente se recolectan en viales de centelleo a las 3,4,5 y 6 horas de la administración del sustrato. La radioactividad del $^{14}CO_2$ exhalado se mide con un contador de radiaciones gamma. Todos los pacientes deben permanecer durante la prueba en reposo, pero despiertos. Los resultados se expresan como el máximo porcentaje (pico) de ^{14}C eliminado en forma de $^{14}CO_2$ entre las 3 y 6 horas. Se considera que un pico igual o superior a 1.92% de $^{14}CO_2$ eliminado excluye la existencia de esteatorrea (178).

6.2. Prueba de D-xilosa: Se realiza después de 12 horas de ayuno administrando 25 mg. de xilosa disuelta en agua, por vía oral. Se realiza una extracción de sangre a las 2 horas y se recoge una muestra de orina basal y de la orina eliminada durante las 5 horas si

guientes a la administración de D-xilosa. Se determina la concentración de D-xilosa en plasma y su excreción urinaria por el método colorimétrico de Reiner. Se considera normal una excreción urinaria igual o superior a 4.5 gr. y una concentración plasmática igual o superior a 30 mg/100 ml.

- 6.3. Prueba de absorción de calcio: Tras un mínimo de 9 horas de ayuno se efectúa una extracción basal de suero y se suministran por vía oral 5 μCi de ^{47}Ca en 3 ml. de solución portadora que contiene 20 mg. de Ca^{++} en forma de cloruro cálcico. A los 60 minutos exactos de la administración del trazador se efectúa otra extracción de suero.

Para la cuantificación en cpm, de la actividad administrada se prepara una solución standard con 5 μCi de ^{47}Ca disueltos en solución portadora de Ca^{++} de la misma concentración que la dosis administrada.

La actividad de las muestras séricas y de la solución standard, - en cpm, se cuantifica mediante un contador de pozo de INa (T1) -- Packard en las condiciones de fotopico de emisión γ del ^{47}Ca . La actividad sérica se expresa en porcentaje de la dosis administrada por litro de suero, multiplicando por el 15% del peso corporal expresado en Kg., que corresponde aproximadamente al espacio extracelular por donde difunde el calcio. La absorción de calcio se expresa como fracción de la dosis absorbida por hora (α). Se calcula por el método de Marshall y Nordin (179) basado en un modelo simplificado de dos compartimentos, según la ecuación:

$$f = \frac{\alpha}{-\alpha} (e^{-\alpha(t-\Delta)} - e^{-\beta(t-\Delta)})$$

donde (f) es la fracción de la dosis circulante en el momento t; (t) es el tiempo transcurrido desde la administración de la dosis expresado en horas; (Δ) representa el momento en que la dosis administrada oralmente aparece por primera vez en plasma; (β) es la tasa fraccional horaria a la cual el ^{47}Ca abandona el plasma para pasar al espacio extracelular.

7. Biopsia ósea

7.1. Pauta seguida previa la práctica de biopsia ósea. Con el fin de valorar la mineralización y la aposición ósea, antes de realizar la biopsia ósea se administraron dos tandas de tetraciclina, según la siguiente pauta:

- días: -26, -25 y -24 oxitetraciclina
250 mg. c/8h. (vía oral)
- desde el día -23 al día -12 ninguna medicación
- días: - 11, -10 y - 9..... declomicina
300 mg. c/8h. (vía oral)
- día 0 biopsia ósea

En un caso (enfermo nº 15) no se efectuó estudio de la fluorescencia con tetraciclina ya que la muestra de tejido óseo se obtuvo inmediatamente después de su fallecimiento.

7.2. Técnica de biopsia ósea. Se realizó tras haber administrado 50 mg. de dolantina, 25 mg. de prometazina y 0.5 mg. de atropina -- vía IM, media hora antes. Con el paciente en decubito supino y -- bajo anestesia local con mepivacaina HCl 2%, se aborda la pelvis por VIA TRANSILIACA a 2-3 cm. por detrás, de la espina iliaca anterosuperior. Tras realizar una incisión de aproximadamente 3 cm se diseca hasta llegar al periostio y se introduce el TROCAR DE BORDIER (Fig. 1) dirigido perpendicularmente al hueso iliaco. -- Con movimientos rotatorios y una suave presión aplicada al tró-- car se obtiene un cilindro óseo de 7 mm. de diámetro y unos 15 - mm. de longitud que consta de dos corticales y hueso trabecular, finalmente se sutura la incisión.

7.3. Procesamiento de la biopsia ósea. Se procesa la biopsia ósea para conseguir un espécimen no decalcificado y apto para la prácti

ca del estudio al microscopio óptico, histomorfometría y estudio dinámico, según la siguiente metodología:

- 7.3.1. Fijación: con etanol al 70%, durante un mínimo de 48 h.
- 7.3.2. Deshidratación con acetona crecientes: acetona 75% (24 h.) y acetona absoluta (48 h.)
- 7.3.3. Impregnación en monómero de metil-metacrilato:
 - acetona monómero de metil-metacrilato al 50% (24 h)
 - monómero de metil-metacrilato (48 h)

Inclusión en poli-metil-metacrilato de bajo peso molecular: se coloca el fragmento óseo en un tubo de cristal con metil-metacrilato parcialmente polimerizado, se tapa y se coloca en una nevera a 4° C durante 48 h. Posteriormente se deja a temperatura ambiente hasta que endurece, proceso que dura entre una y dos semanas, y finalmente se coloca en una estufa a 37-40° C. durante 12 h. Para la obtención del metil-metacrilato parcialmente polimerizado se mezclan en un agitador continuo 300 ml. de metil-metacrilato con 6 gr. de benzoil-peróxido. Cuando la mezcla está completamente disuelta se añaden 120 gr. de poli-metil-metacrilato de bajo peso molecular, en pastillas, a razón de 30 gr. cada 15 minutos. Se agita de forma continua durante 24-36 horas.

7.3.4. Corte:

- Se piramida el bloque y se coloca en un microtomo de deslizamiento motorizado para corte de "objetos duros" modelo K de Reichert-Jung dotado de una cuchilla con filo de carburo de tungsteno de perfil HK₂.
- Se devasta el bloque hasta llegar aproximadamente a la mitad del cilindro, mojando constantemente la cuchilla y el bloque con alcohol de 70°
- Se realizan cortes de 8 µm. de grosor para el estudio a

microscopía óptica e histomorfometría y dos cortes de 15 μm de grosor para el estudio dinámico.

- Se coloca la sección sobre un porta gelatinado con gelatina de Haupt, se echan encima unas gotas de alcohol de 95° y se cubre el corte con una película de polietileno. Posteriormente se prensa y se coloca en una estufa a 60° C, durante 12 horas.

7.3.5. Desplastificación:

- Se retira la película de polietileno
- Se coloca el porta en metil-acetato durante 30 minutos, se lava en alchoholes decrecientes y se deja en agua.

7.3.6. Tinciones:

Se han realizado cuatro técnicas de tinción: hematoxilina-eosina, Von Kossa, azul de toluidina y rhodanina. La hematoxilina-eosina proporciona información de carácter general, el Von Kossa y azul de toluidina permiten distinguir con facilidad la matriz mineralizada del osteoide y la tinción de rhodanina permite identificar depósitos de cobre. Los cortes utilizados para el estudio dinámico no requieren ninguna tinción.

Hematoxilina-eosina

- hematoxilina de Harris durante 10 min, y lavado en agua
- eosina durante 30 segundos y lavado en agua
- deshidratación y montaje

Resultado: el hueso calcificado aparece de color púrpura claro y el osteoide de color rosa

Von Kossa:

- solución fresca de nitrato de plata al 2% en oscuridad durante 10 minutos y lavado en agua
- solución fresca de hidroquinona al 1% durante 1 minuto

y lavado en agua

- se fija en tiosulfato sódico al 2% durante 2 minutos y lavado en agua
- fucsina ácida durante 5 minutos y lavado en agua
- deshidratación y montaje

Resultado: el hueso calcificado aparece negro y el osteoide de rojo

Azul de toluidina:

- azul de toluidina * durante 10 minutos
- lavado en dos cambios de buffer durante 1 minuto
- secarlo al aire
- deshidratación en alcohol butílico durante 2 minutos
- alcohol butílico + tolueno durante 1 minuto
- tolueno durante 2 minutos
- montaje

Resultado: el hueso calcificado aparece azul añil y el -- osteoide azul pálido

* El azul de toluidina consiste en 100 ml de buffer (disodio fosfato 0,3 gr. + ac. cítrico 0,6 gr. + H₂O) y 2 g de azul de toluidina a ph 3.7

Rhodanina:

- se incuba en solución de rhodanina* a 56^o C durante - - tres horas y se lava con agua
- solución de borax y lavado en agua
- deshidratación y montaje

*La solución de rhodanina consiste en 0,2 g. de p-Dimetilaminobencilodeno rhodanina en 100 ml de etanol absoluto. La solución de trabajo se prepara diluyendo 3 ml. de la solución de rhodanina con 47 ml. de agua.

Resultado: Los depósitos de cobre aparecen de color rojo brillante y los depósitos biliares de color verde

de. Debe efectuarse una lectura inmediata.

7.4. Lectura de la biopsia ósea

7.4.1. Estudio convencional de la biopsia ósea a microscopía óptica:

Parámetros evaluados. *Se valoran los siguientes hallazgos morfológicos:*

- *grosor de las corticales*
- *grosor, cantidad y distribución de las trabéculas*
- *presencia en las corticales de unidades de remodelaje óseo (BRU) y de unidades estructurales óseas (BSU)*
- *cantidad y grosor de las bandas de osteoide que recubren las trabéculas*
- *ribetes osteoblásticos que recubren las bandas de osteoide valorando si los osteoblastos tenían forma cúbica o aplanada*
- *superficies de reabsorción inactivas y activas*
- *número de osteoclastos*
- *detección de cualquier anomalía en las estructuras mencionadas: células ósea (osteoclastos gigantes ...), de la superficie trabecular (osteoclasia disecante ...) o de la médula ósea (fibrosis paratrabecular ...)*

7.4.2. Análisis del estudio a microscopía óptica. Interpretación de los parámetros analizados. El estudio a microscopía óptica permite evaluar la masa ósea y valorar la cantidad de osteoide y de las superficies de reabsorción, así como la celularidad del tejido óseo. Según estos parámetros, pueden considerarse los siguientes patrones morfológicos:

7.4.2.1. Masa ósea

- *Masa ósea normal*: cuando las corticales son de grosor normal y cuando las trabéculas también son de grosor normal y conectan entre sí.

- *Osteopenia severa*: cuando las corticales están adelgazadas y presentan signos de trabecularización y las trabéculas son escasas, delgadas, de pequeño tamaño y no conectan entre sí.

7.4.2.2. Osteoide y características de los osteoblastos

- *Osteoide normal*: cuando la superficie trabecular recubierta por ribetes de osteoide es normal las bandas de osteoide que se observan son delgadas y además algunas de ellas están recubiertas por osteoblastos cúbicos y aplanados.

- *Osteoide disminuido*: cuando la superficie trabecular recubierta por osteoide es escasa y se observan osteoblastos aplanados.

- *Hiperosteoidosis*: cuando la superficie trabecular recubierta por osteoide está aumentada y en las corticales se observan algunas unidades de remodelaje óseo (BRU) en fase osteoblástica. Se suelen observar bandas de osteoide recubiertas por osteoblastos cúbicos y aplanados.

7.4.2.3. Superficies de reabsorción y número de osteoclastos.

- *Reabsorción ósea disminuida*: cuando se observan escasas superficies de reabsorción inactivas. No hay osteoclastos.

- *Reabsorción ósea normal*: cuando se observan superficies de reabsorción, algunas de ellas con osteoclastos.

- *Reabsorción ósea aumentada: cuando se observa abundantes superficies de reabsorción y hay abundantes osteoclastos.*

7.4.3. Estudio histomorfométrico y análisis de la dinámica ósea.

7.4.3.1. Técnica:

El estudio de las biopsias se efectúa, mediante un sistema semiautomático de análisis de imagen que consta de:

a). un sistema Morphomat 30 (Zeiss) integrado por un tablero digitalizador con un sistema de lectura por diodo lumionoso y un computador con impresora.

b). microscopio Leitz-Dialux dotado de una cámara clara, con dos sistemas de iluminación:

- lámpara de halógeno de 100 W que se utiliza para el estudio convencional con luz transmitida.

- lámpara de vapor de mercurio de 50 W, que se utiliza para el estudio de los marcajes fluorescentes con tetraciclinas, mediante un sistema de luz incidente.

El análisis estadístico se realiza mediante un ordenador Hewlett-Packard 125 con programa Visicalc-plus. El estudio morfométrico se realiza de la siguiente forma: se introduce en el programa una distancia establecida según una escala milimétrica, se superpone la señal del diodo lumionoso del cursor a las estructuras que se quieren medir en el corte histológico y basta recorrer dichas estructuras moviendo el cursor sobre el tablero digitalizador para que el computador suministre los parámetros previamente programados.

El estudio dinámico se realiza del siguiente modo:

Se valora la existencia de marcajes únicos de fluorescencia y sus características ópticas (bandas bien definidas o difusas), se calculan los marcajes dobles fluorescentes y se mide la distancia entre las dos bandas a nivel de cada doble marcaje y la longitud de estas bandas siguiendo el método del estudio morfométrico previamente descrito.

7.4.3.2. Parámetros evaluados:

Los parámetros valorados a nivel de hueso trabecular son:

Parámetros primarios estáticos:

- volumen de trabecular (V_T)
- volumen de osteoide (V_{os}) (V_{osf})
- superficie de formación (S_f)
- superficie de reabsorción (S_r)

Parámetros secundarios estáticos:

- índice de grosor trabecular (TTI)
- grosor promedio de osteoide (W_{os})

Parámetros primarios dinámicos:

- grado de aposición ósea (\bar{M})

Parámetros secundarios dinámicos:

- grado de formación ósea (BFR)
- intervalo de mineralización (MLT)

7.4.3.2.1. Parámetros primarios estáticos

- Volumen trabecular (V_T): es la relación entre el volumen ocupado por el hueso trabecular (mineralizado y no mineralizado) y el volumen ocupado por la zona esponjosa (que incluye médula y hueso trabecular). Se obtiene dividiendo el área de to-

das las trabéculas por el área total del espacio medular y se expresa en %.

- Volumen de osteoide:

. Vos: es la relación entre el volumen ocupado -- por la matriz trabecular no mineralizada u osteoide y el volumen ocupado por la zona esponjosa (médula y hueso trabecular). Se obtiene dividiendo - el área de osteoide por el área total del espacio medular y se expresa en %.

. Vosf: es la relación entre el volumen ocupado - por el osteoide y el volumen ocupado por las trabéculas. Se obtiene dividiendo el área de todos - los ribetes de osteoide por el área trabecular y se expresa en %.

- Superficie de formación (Sf): es la relación entre la superficie trabecular recubierta por osteoide y la superficie trabecular total. Se obtiene dividiendo la longitud de todos los ribetes de osteoide y el perímetro de todas las trabéculas y se expresa en %.

- Superficie de reabsorción (Sr): es la relación entre la superficie trabecular con lagunas de Howship (con o sin osteoclastos) y la superficie trabecular total. Se obtiene dividiendo la longitud de las zonas reabsorbidas trabeculares por el perímetro de todas las trabéculas y se expresa en %.

7.4.3.2.2. Parámetros secundarios estáticos

- Índice de grosor trabecular (TTI): es el grosor promedio de osteoide. Se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$TTI = \frac{2 \times V}{S_v}$$

V: volumen trabecular

$$V = \frac{\text{volumen trabecular}}{\text{volumen (trabeculas + medula)}}$$

Sv: superficie específica de hueso trabecular

$$Sv = \frac{\text{superficie trabecular}}{\text{volumen (trabeculas + medula)}}$$

y simplificando:

$$\frac{2 \times \frac{\text{volumen trabecular}}{\text{volumen (trabeculas + medula)}}}{\frac{\text{superficie trabecular}}{\text{volumen (trabeculas+medula)}}} = \frac{2x \text{ vol. trabeculas}}{\text{superficie trab.}}$$

y se expresa en mm.

- Grosor promedio de osteoide (Wos): es el grosor medio de los ribetes de osteoide que recubren las trabéculas. Se obtiene dividiendo el volumen de osteoide por la superficie de osteoide y se expresa en um.

7.4.3.2.3. Parámetros primarios dinámicos

- Grado de aposición ósea (\bar{M}): es el grosor de hueso nuevo mineralizado por unidad de tiempo. Este parámetro es el cociente de: la suma de las distancias entre los marcajes dobles de tetraciclinas -- multiplicado por una constante destinada a eliminar los errores de proyección geométrica $\frac{\pi}{4}$, y el producto del número de mediciones efectuadas por el intervalo de tiempo entre marcajes expresado en días

$$\bar{M} = \frac{X \times \frac{\pi}{4}}{n \times t}$$

X = suma de distancias entre los marcajes

$$\frac{\pi}{4} = 0,79$$

n : nº de marcajes efectuados; t = 12 días (intervalo entre marcajes)

y se expresa en $\mu\text{m}/\text{día}$

7.4.3.2.4. Parámetros secundarios dinámicos

- Grado de formación ósea (BFR): es el volumen de hueso nuevo mineralizado formado por unidad de superficie de osteoide. Es el cociente entre el producto del grado de aposición ósea por la superficie de calcificación trabecular activa (ATCS) dividido por la superficie de formación

$$BFR = \frac{\bar{M} \times ATCS}{Sf}$$

$$ATCS = \frac{\text{longitud dobles marcajes} + \text{longitud marc. únicos}}{\text{longitud trabecular}}$$

y se expresa en $\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^2/\text{día}$

- Intervalo de mineralización (MLT): es el periodo existente entre la formación de osteoide y su mineralización. Este parámetro es el cociente entre el producto del grosor y la superficie de osteoide y el producto del grado de aposición ósea y la superficie de calcificación trabecular activa

$$MLT = \frac{Wos \times Sf}{\bar{M} \times ATCS}$$

La interpretación de los valores de estos parámetros primarios y secundarios en el análisis de la morfología y dinámica ósea es la siguiente:

- *Valoración de masa ósea: volumen trabecular (V)
índice de grosor trabecular (TTI)*
- *Índice de actividad celular: grado de aposición ósea (\bar{M})*
- *Valoración de la formación y de la mineralización ósea: superficie de formación (Sf)
volumen de osteoide (Vos) (Vosf)
grosor promedio de osteoide (Wos)
grado de formación ósea (BFR)
intervalo de mineralización (MLT)*
- *Valoración de la reabsorción ósea: superficie de reabsorción (Sr)*

7.4.4. Estudio microanalítico del frente de calcificación mediante EDAX (análisis dispersivo de la energía de Rx)

Se ha aplicado a las biopsias óseas de los dos pacientes con colestasis más intensa y con estadio histológico IV. El objetivo del análisis ha sido detectar la presencia de cobre en los frentes de calcificación.

Técnica: se obtienen secciones de 1 mm. de espesor de hueso sin decalcificar y se montan en soportes de grafito, posteriormente se someten a deshidratación mediante la obtención del punto crítico. El estudio se realiza mediante análisis dispersivo de energía de Rx (EDAX) acoplado a un microscopio electrónico de barrido (SEM) para detectar la existencia de iones metálicos en el frente de calcificación. El análisis global con EDAX se realiza con un voltaje de 25 Kv, un tiempo de análisis de 100 segundos y un diámetro de haz electrónico de 0,125 μm .

8. Grupos control

8.1. Grupos control de la excreción urinaria de calcio e hidroxiprolina

Los grupos control de la excreción urinaria de calcio (índice calciuria/creatinuria) y de la excreción urinaria de hidroxiprolina están constituidos por 29 y 17 individuos, respectivamente. Se trataba de individuos sanos, de sexo y edades similares (edad media: 5.8 ± 7.5 años y 52 ± 6.4 años, respectivamente) a las de los pacientes con CBP (edad media: 48.6 ± 10.6 años). Todos ellos habían seguido los días previos a la práctica de estas determinaciones las mismas dietas restrictivas en calcio y gelatina que los pacientes que constituyen la serie.

8.2. Grupo control de la absorción intestinal de calcio

El grupo control de la prueba de absorción intestinal de Ca^{47} está formado por 27 individuos sanos, mujeres y varones de edades comprendidas entre 31 y 68 años (media: 53.7 ± 13.5 años).

8.3. Grupo control de biopsia ósea

El grupo control de biopsia ósea está constituido por diez fragmentos óseos transilíacos obtenidos mediante la misma técnica de biopsia en 10 cadáveres de nueve mujeres y un varón de edades similares (45.0 ± 10.9 años) a las de los pacientes con CBP (48.6 ± 10.6 años). Ninguno de estos individuos tenía antecedentes conocidos de enfermedades predisponentes al desarrollo de patología metabólica ósea y todos habían fallecido por muerte violenta. Su procesamiento fue idéntico al de las biopsias de los pacientes con CBP (a excepción de la tinción de rhodanina) y se analizaron los mismos parámetros histomorfométricos. No se pudo practicar el estudio de la dinámica ósea al carecerse del "marcage" previo con tetraciclina.

ANALISIS ESTADISTICO

Los resultados obtenidos de las distintas determinaciones se --
introdujeron en un ordenador para proceder al análisis estadístico, que --
se efectuó utilizando un paquete de programas BMDP Statistical Software --
(W.J. Dixon et al. University of California Press, Berkeley, 1983).

La aplicación de distintos programas permitió calcular la media
y desviación estandar de la media, así como los límites de confianza de --
las variables cuantitativas. Para la comparación de medias se ha aplicado
la prueba de la t de Student para variables independientes, para la compa
ración de frecuencias se ha aplicado la prueba de Chi-cuadrado, y para es
tudiar la relación entre variables cualitativas continuas se ha aplicado
la prueba de correlación de Pearson. En los casos necesarios, cuando no
se cumplían los criterios exigidos, se aplicaron técnicas no paramétricas.
Se han considerado significativos los valores de $p < 0.05$.