

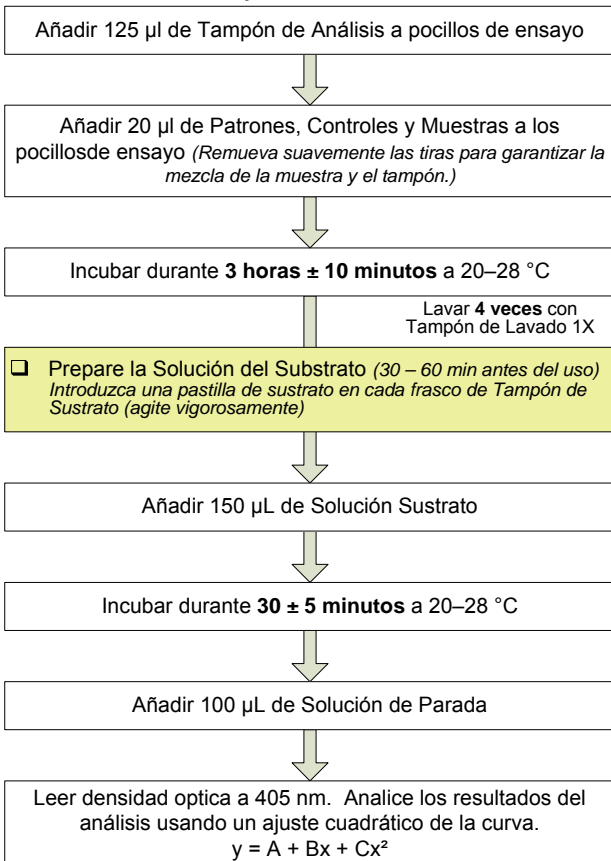
Enzimoimmunoanálisis para la cuantificación de la fosfatasa alcalina específica de los huesos (Bone-specific Alkaline Phosphatase-BAP) en el suero humano

MicroVue™ BAP EIA Resumen

Preparación del Reactivo y de la Muestra

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

Procedimiento de ensayo



RESUMEN Y EXPLICACIÓN

La isoforma esquelética, o específica de los huesos, de la fosfatasa alcalina es una glucoproteína tetrámera que se encuentra en la superficie celular de los osteoblastos.¹ Los osteoblastos son las células responsables de la síntesis de la nueva matriz ósea y de su mineralización. La función de la BAP no se ha determinado plenamente, aunque se ha confirmado su papel en la mineralización esquelética.^{1,2,3}

El hueso experimenta un proceso metabólico constante denominado remodelación.^{3,4} La remodelación consiste en un proceso de degradación, la reabsorción ósea, que está mediada por la acción de los osteoclastos, y un proceso de construcción, la formación ósea, que está mediada por la acción de los osteoblastos.^{3,4} La remodelación es necesaria para el mantenimiento y la salud general de los huesos y es un proceso estrechamente acoplado, es decir, la reabsorción y la formación se encuentran en perfecto equilibrio.^{3,4} En estados anómalos del metabolismo óseo, este proceso se desacopla y, cuando la reabsorción excede a la formación, provoca una pérdida neta de hueso, lo cual puede inducir osteoporosis^{3,4} o el tejido óseo desordenado de las lesiones pagéticas.⁵ La medición de los marcadores bioquímicos específicos de estos episodios de remodelación proporciona datos analíticos relativos a la tasa de metabolismo óseo o "recambio".^{3,4}

La osteoporosis es una enfermedad ósea metabólica caracterizada por una remodelación ósea anómala. Se trata de una enfermedad esquelética sistémica caracterizada por una baja masa ósea y un deterioro microarquitectónico del tejido óseo, con el consiguiente incremento de la posibilidad de experimentar fracturas.⁶ El tipo más habitual de osteoporosis se produce en mujeres posmenopáusicas como consecuencia de la deficiencia de estrógenos producida por la discontinuidad de la función ovárica.³ El restablecimiento de los niveles de estrógenos premenopáusicos mediante terapia de reposición impide la pérdida ósea y la osteoporosis.^{3,6} Los estrógenos y una clase de compuestos conocidos como bisfosfonatos constituyen terapias de antirreabsorción que pueden utilizarse para evitar la pérdida ósea o tratar la osteoporosis.^{3,6,7}

La osteoporosis también puede ser consecuencia de alcanzar una masa ósea máxima inadecuada durante los años de crecimiento, un desequilibrio de la remodelación ósea, con un exceso neto de reabsorción, relacionado con la edad y una serie de dolencias clínicas y terapias inductoras de pérdida ósea o desequilibrios de la remodelación ósea.³ Entre estas últimas se cuentan enfermedades endocrinas, como el hipogonadismo, el hipertiroidismo, el hiperparatiroidismo y el hipercortisolismo, insuficiencia renal, cánceres con metástasis óseas;

iu USO PREVISTO

El inmunoensayo MicroVue BAP proporciona una medición cuantitativa de la actividad de la fosfatasa alcalina específica de los huesos (BAP) en el suero como indicador de la actividad osteoblástica. La medición de la BAP está concebida para su uso como ayuda en:

- el tratamiento de la osteoporosis posmenopáusica y de la enfermedad de Paget;
- el control de mujeres posmenopáusicas en tratamiento hormonal o con bisfosfonatos;
- la predicción de la respuesta esquelética a la terapia hormonal en mujeres posmenopáusicas.

enfermedades gastrointestinales relacionadas con el metabolismo nutricional y mineral, enfermedades del tejido conjuntivo, mieloma múltiple, inmovilización crónica, alcoholismo, tabaquismo y terapia crónica con heparina o corticosteroides.³

La enfermedad ósea de Paget es un trastorno focal que provoca dolor y deformidad esquelética en pacientes sintomáticos.⁵ Las lesiones pagéticas se caracterizan por una matriz ósea con estructura muy anómala provocada por tasas excesivas de actividad de remodelación. Las lesiones se producen principalmente en el cráneo, la columna vertebral, la pelvis y los huesos largos, y pueden tener como consecuencia fracturas y deterioro neurológico.⁵ La etiología de la enfermedad de Paget es desconocida pero las hipótesis que suponen factores genéticos y víricos son convincentes.⁵ Actualmente se utilizan bisfosfonatos y calcitonina para reducir el elevado grado de actividad bioquímica a los niveles normales, lo que permite el restablecimiento de la estructura ósea normal.⁹

Como determinación cuantitativa de un marcador de remodelación ósea, la BAP proporciona información útil sobre la remodelación ósea en la osteoporosis y en la enfermedad de Paget, así como sobre los cambios producidos por el tratamiento antirreabsortivo en la actividad de la enfermedad.¹⁰⁻¹² En el análisis MicroVue BAP, se empleó tecnología de anticuerpos para producir un anticuerpo monoclonal que demostrara especificidad por la BAP.¹⁰ La especificidad del anticuerpo monoclonal utilizado en el análisis permite una cuantificación sencilla, cómoda, reproducible y directa de la actividad de la BAP en el suero.

PRINCIPIO DEL PROCEDIMIENTO

MicroVue BAP es un inmunoanálisis en formato de tira de microtitulación en el que se utiliza un anticuerpo monoclonal anti-BAP recubierto en la tira para capturar la BAP de la muestra. La actividad enzimática de la BAP capturada se detecta con un sustrato pNPP.

REACTIVOS Y MATERIALES PROPORCIONADOS

96 análisis para fosfatasa alcalina específica de los huesos

MicroVue BAP EIA contiene lo siguiente:

A Patrones de BAP A – F

B Refs. 4395 a 4400 0,4 ml cada uno

C (A = 0, B = 2, C = 20, D = 50, E = 80, F = 140 U/L BAP)

D BAP purificada de células SAOS-2 de osteosarcoma en una solución tamponada que contiene cloruro de magnesio, sulfato de zinc, agente tensoactivo, proteína transportadora, colorante azul y azida sódica (0,05%) como conservante

L Controles bajo/alto Refs. 4401, 4402 0,4 ml cada uno

H BAP purificada de células SAOS-2 de osteosarcoma en una solución tamponada que contiene cloruro de magnesio, sulfato de zinc, agente tensoactivo, proteína transportadora, colorante azul y azida sódica (0,05%) como conservante

1 Tiras recubiertas Ref. 4660 12 cada uno

Anticuerpo anti-BAP IgG monoclonal de ratón purificado adsorbido en pocillos en tiras

2 Solución de parada Ref. 4702 15 mL

NaOH 0,5N

3 Tampón de lavado 10X Ref. 4703 55 mL

Detergente no iónico en una solución tamponada que contiene azida sódica (0,05%) como conservante

4 Tampón de análisis Ref. 4403 27 mL

Solución tamponada que contiene cloruro de magnesio, sulfato de zinc, agente tensoactivo y azida sódica (0,05%) como conservante

5 Tampón del sustrato Ref. 4404 3 x 10 mL

Solución de 2-amino-2-metil-1-propanol que contiene HEDTA, cloruro de magnesio, sulfato de zinc y azida sódica (0,05%) como conservante

6 Pastillas de sustrato Ref. 0012 3 x 20 mg

Fosfato de p-nitrofenil

MATERIALES NECESARIOS PERO NO PROPORCIONADOS

- Micropipetas de 20 µL y 100–300 µL
- Material adecuado para medir 100-300 mL de líquidos
- Recipiente para dilución del tampón de lavado
- Agua desionizada o destilada
- Lector de placas capaz de efectuar lecturas de densidad óptica a $A_{405} > 2,0$
- Software de ajuste de curva de calibración cuadrática

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Para uso Diagnóstico *in vitro*.
2. Trate las muestras como material potencialmente biopeligroso. Respete las precauciones universales al manipular el contenido de este kit y las muestras de los pacientes.
3. Deseche los recipientes y el contenido no utilizado de acuerdo con la normativa internacional, nacional y local.
4. Use los reactivos suministrados como una unidad integral antes de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
5. Almacene los reactivos de análisis según lo indicado.
6. No emplee las tiras recubiertas si la bolsa está pinchada.
7. Analice cada muestra por duplicado.
8. Use ropa protectora adecuada, guantes y protección ocular/facial al manipular el contenido de este kit.
9. El NaOH 0,5N se considera corrosivo y puede provocar irritación en la piel. No lo ingiera. Evite el contacto con la piel, los ojos y la ropa. En caso de contacto, lave con agua. En caso de ingestión, solicite asistencia médica.
10. La azida sódica se utiliza como conservante. El contacto o la ingestión accidentales de tampones que contienen azida sódica pueden provocar irritación en la piel, los ojos o la boca. Emplee únicamente los tampones para los fines previstos y evite el contacto con ácidos. La azida sódica puede reaccionar con las tuberías de plomo y cobre y formar azidas metálicas muy explosivas. Después de desecharlo, enjuague con agua abundante para evitar la acumulación de la azida.
11. El tampón de sustrato contiene 2-amino-2-metil-1-propanol y puede causar irritación en los ojos y en la piel con el contacto prolongado. Las áreas que entren en contacto con el tampón deben lavarse de inmediato con agua y jabón.
12. Diluya las muestras superiores a 140 U/L en tampón de análisis y repita la prueba. Incluya el factor de dilución en el cálculo final.

13. Se recomienda utilizar pipetas multicanal o pipeteros de repetición para garantizar una administración oportuna de los reactivos.
14. Para una medición exacta de las muestras, añada las muestras y los patrones con precisión. Pipetee cuidadosamente utilizando sólo equipo calibrado.
15. Este análisis puede realizarse con cualquier método de lavado homologado.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Ponga los reactivos y los materiales para el análisis a 20–28 °C antes de su uso. Tras retirar los reactivos y materiales necesarios, vuelva a poner los elementos no utilizados a 2–8 °C.

Tiras recubiertas

Extraiga la estructura de pocillos en tiras y el número necesario de tiras recubiertas de la bolsa (véase la sección *PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS*). Asegúrese de que la bolsa que contenga las tiras no utilizadas quede perfectamente sellada.

Tampón de lavado

Prepare la cantidad necesaria de tampón de lavado 1X (véase la tabla) diluyendo un concentrado 10X de tampón de lavado con agua desionizada en una proporción 1:10. Guárdelo a 20–28 °C. Utilice el tampón de lavado 1X en las 21 días siguientes a su preparación.

Solución sustrato de trabajo

Prepare la solución sustrato de trabajo en la hora anterior a su uso. Introduzca una pastilla de sustrato en cada frasco necesario de tampón de sustrato a 20–28 °C (véase la tabla). Deje disolver las pastillas durante 30 y 60 minutos. Agite vigorosamente las botellas para mezclar completamente. Deseche la solución de sustrato de trabajo restante tras su uso.

ALMACENAMIENTO

Guarde el conjunto a 2–8 °C. No congele. Guarde los reactivos no utilizados a 2–8 °C. Equilibre los reactivos a 20–28 °C antes de su uso. Guarde el tampón de lavado 1X (10X diluido) a 20–28 °C.

RECOGIDA Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

Recoga el suero utilizando una técnica de venopunción normalizada. Las muestras deben recogerse sin anticoagulantes y de tal modo que se evite la hemólisis. Deje que la sangre coagule y separe el suero mediante centrifugado. El suero puede guardarse durante 5 días a 2–8 °C, a ≤ -40 °C durante 12 meses o a ≤ -80 °C durante 36 meses. No someta las muestras a más de 3 ciclos de congelación/descongelación.

El suero “separado del coágulo”, el suero de las probetas separadoras de suero, el plasma con heparina sódica y el plasma con heparina de litio producen resultados sustancialmente equivalentes. Se recomienda no preparar las muestras de plasma utilizando quelantes como el EDTA o el citrato.

PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

Lea todo el prospecto del producto antes de iniciar el análisis.

Vea *PREPARACIÓN DE REACTIVOS* antes de continuar.

Determine la cantidad necesaria de cada reactivo para el número de tiras que se vayan a utilizar.

Nº de tiras	4	6	8	12
Nº de muestras (analizadas por duplicado)	8	16	24	40
Sustrato (frasco)	1	1	2*	2*
Tampón de lavado 1X (mL)	100	150	200	300

*Cuando se vaya a utilizar más de un frasco o vial, combine el contenido y mezcle antes de usarlo

Incubación de las muestras

1. Extraiga la estructura de pocillos de tiras y el número necesario de tiras recubiertas de la bolsa (véase la tabla) antes de usarlos. Asegúrese de que la bolsa de papel de aluminio que contenga las tiras no utilizadas quede perfectamente sellada.
2. Introduzca el número deseado de tiras recubiertas en la estructura de pocillos en tiras. Etiquete las tiras para evitar la mezcla en caso de extracción accidental de la estructura de pocillos.
3. Añada 125 μ L de tampón de análisis a cada pocillo.
4. Añada 20 μ L de patrón, control o muestra a cada pocillo. **No** mezcle con tampón de análisis volviendo a pipetear. Este paso debe completarse en 30 minutos. **Remueva suavemente las tiras para garantizar la mezcla de la muestra y el tampón.**
5. Incube durante 3 horas (\pm 10 minutos) a 20–28 °C.
6. Prepare la solución de sustrato de trabajo como máximo 1 hora antes de su uso. Introduzca una pastilla de sustrato en cada frasco necesario de tampón de sustrato a 20–28 °C (véase la tabla). Deje disolver las pastillas durante 30 y 60 minutos. Agite vigorosamente las botellas para mezclar completamente.

Paso de lavado

7. Prepare la cantidad necesaria de tampón de lavado 1X (véase la tabla) diluyendo de tampón de lavado 10X con agua desionizada en una proporción 1:10. Guárdelo a 20–28 °C. Utilice el tampón de lavado 1X en las 21 días siguientes a su preparación.
8. Invierta/vacíe manualmente las tiras. Añada como mínimo 250 μ L de tampón de lavado 1X a cada pocillo e invierta/vacíe manualmente las tiras. Repita tres veces más hasta un total de cuatro lavados. Seque vigorosamente las tiras sobre toallitas de papel después del último lavado.

Incubación del sustrato

9. Añada 150 μ L de solución sustrato de trabajo a cada pocillo. Deseche la solución de sustrato de trabajo restante tras su uso.
10. Incube durante 30 minutos (\pm 5 minutos) a 20–28 °C.

Parada/lectura

11. Añada 100 µL de solución de parada a cada pocillo. Añada solución de parada de la misma forma y en los mismos intervalos de tiempo que en el caso de la solución sustrato.
12. Lea la densidad óptica a 405 nm. Asegúrese de que no hay burbujas grandes en los pocillos y que el fondo de las tiras está limpia. Las tiras debe leerse en los **15 minutos** siguientes a la adición de la solución de parada.
13. **Debe** utilizarse software de cuantificación con una ecuación de ajuste de curva de calibración cuadrática para analizar los resultados del análisis MicroVue BAP.
Ecuación: $y = A + Bx + Cx^2$

CONTROL DE CALIDAD

El certificado de análisis incluido en este kit es específico de lote y ha de emplearse para verificar que los resultados obtenidos por su laboratorio son similares a los obtenidos en Quidel. Se proporcionan los valores de densidad óptica, pero deberán utilizarse únicamente a efectos orientativos. Los resultados obtenidos por su laboratorio pueden ser diferentes.

Se proporcionan los intervalos de control de calidad. Los valores de control están concebidos para verificar la validez de la curva y los resultados de las muestras. Cada laboratorio debe establecer sus propios parámetros para límites de análisis aceptables. Si los valores de control NO están dentro de los límites de aceptación de su laboratorio, los resultados del análisis deben considerarse cuestionables y las muestras tendrán que repetirse.

Si la densidad óptica del patrón F de MicroVue BAP es inferior a 1,0, los resultados deberán considerarse cuestionables y habrán de repetirse las muestras.

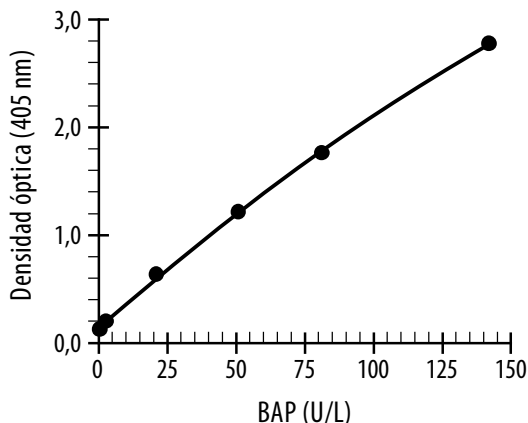
INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Los resultados de las muestras se expresan como U/L y **no** tienen que corregirse por dilución (a menos que la muestra se diluyera antes del análisis).

En el análisis MicroVue BAP, 1 unidad representa 1 µmol de pNPP hidrolizado por minuto a 25 °C en tampón 2-amino-2-metil-1-propanol.

Curva patrón representativa

Niveles de patrón de BAP: 0, 2, 20, 50, 80, 140 U/L



LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Interferencia de HAMA

Algunas personas tienen anticuerpos contra anticuerpos de ratón (HAMA), que pueden causar interferencia en los inmunoanálisis que emplean anticuerpos procedentes de ratón. En particular, se ha publicado que muestras de suero de pacientes que han sido sometidos a procedimientos terapéuticos o diagnósticos que incluyen la infusión de anticuerpos monoclonales de ratón pueden producir resultados erróneos. Por consiguiente, para dichos pacientes, sólo deben utilizarse los resultados de MicroVue BAP junto con los resultados de algún otro procedimiento diagnóstico y con información procedente de la evaluación clínica del paciente.

Muestras con elevaciones significativas de la actividad de la fosfatasa alcalina hepática pueden causar resultados anormalmente elevados en el análisis MicroVue BAP.

Los pacientes con enfermedad de Paget que tienen niveles bajos de esta dolencia pueden presentar niveles de fosfatasa alcalina específica de los huesos que entren dentro del intervalo de referencia de MicroVue BAP.

VALORES DE LA MUESTRA

Los intervalos de referencia de BAP se han establecido para varones normales mayores de 25 años (n = 126), mujeres premenopáusicas normales con edades de 25 a 44 años (n = 178) y mujeres posmenopáusicas normales (n = 107). A efectos de establecer los intervalos de referencia, las personas normales se definieron como:

Básicamente sanos, sin trastornos óseos, endocrinos ni crónicos

- Ciclos menstruales regulares (mujeres premenopáusicas)
- Sin embarazo ni en período de lactancia (mujeres)
- Sin estar tomando en la actualidad ningún medicamento con influencia conocida en el metabolismo óseo.

Los valores pueden verse influidos por factores como una baja producción de estrógenos, una escasa ingesta de calcio o poca actividad física.⁸ La carencia de estrógenos en mujeres posmenopáusicas puede tener provocar una elevada remodelación ósea.^{3,4} Cada laboratorio deberá establecer su propio intervalo de referencia normal. Los intervalos se expresan como intervalos de referencia no paramétricos (IC del 90%).

	Edad (Años)		Rango (U/L)	Mediana
Mujeres	25 - 44	Premenopáusicas	11,6 - 29,6	18,3
Mujeres	≥ 45	Posmenopáusicas	14,2 - 42,7	25,0
Varones	≥ 25		15,0 - 41,3	23,2

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Especificaciones del anticuerpo

El anticuerpo contra la fosfatasa alcalina específica de los huesos tiene una afinidad elevada y selectiva por la isoforma de la fosfatasa alcalina específica de los huesos, baja reactividad cruzada con la forma hepática de la fosfatasa alcalina y una unión insignificante a las isoenzimas intestinal y placentaria.

Isoenzima de FA	% Reactividad
Ósea	100
Hepática	3 – 8
Placentaria	0
Intestinal	0,4

Sensibilidad

El límite de detección mínimo del análisis MicroVue BAP es de 0,7 U/L, determinado por el límite superior de 3 DE en un estudio de precisión de patrón cero.

Recuperación - Recuperación de concentración máxima

La recuperación de las concentraciones máximas se determinó añadiendo una cantidad conocida de BAP purificada a muestras de suero con diferentes niveles de BAP endógena. Se presentan los resultados habituales después de cromatografiar muestras séricas con concentraciones bajas, medias y altas de BAP y analizarlas por triplicado.

Endógena (U/L)	Añadida (U/L)	Observada (U/L)	Recuperación (%)
13,4	15,7	29,1	99
17,6	37,5	55,3	99
27,2	57,2	88,1	106

Recuperación - Linealidad

La linealidad se determinó diluyendo en serie las muestras y comparando los valores observados con los valores esperados. A continuación se muestran los resultados típicos.

Muestra	Factor de dilución	Observada (U/L)	Esperado (U/L)	Recuperación (%)
1	pura	108,5	-	-
	1:2	51,1	54,2	94
	1:4	25,8	27,1	99
	1:6	18,0	18,1	99
2	pura	39,1	-	-
	1:2	20,1	19,5	103
	1:4	10,3	9,8	105
	1:6	6,7	6,5	103
3	pura	58,4	-	-
	1:2	29,9	29,2	102
	1:4	15,7	14,6	108
	1:6	9,7	9,7	100

Precisión

La precisión intra-análisis se determinó analizando ≥ 21 repeticiones de 3 muestras en 3 placas de cada uno de los tres lotes del kit (total, 9 placas). La precisión inter-análisis se determinó para 3 muestras analizadas en 6 placas independientes de cada uno de los tres lotes del kit (18 placas en total). A continuación se muestran los resultados típicos.

BAP (U/L BAP)	Intra-análisis ¹ CV%	Inter-análisis ² CV%
12	5,8	5,2
35	3,9	7,6
100	5,2	5,0

¹ n° = 21

² n° = 6 análisis

Sustancias que interfieren

Se analizaron las siguientes sustancias a las concentraciones especificadas, y no se observó interferencia en el análisis.

Sustancia	Concentración
Hemoglobina	500 mg/dl
Bilirrubina	25 mg/dl
Triglicéridos	1420 mg/dl
Proteínas totales	6,0 g/dl †
Proteínas totales	15,6 g/dl †
Proteínas totales	6,0 g/dl ‡
Proteínas totales	15,6 g/dl ‡

† Proteína con agua

‡ Proteína con BAP (concentración de BAP = 43,6 U/L)

Interferencias de medicamentos

Se añadieron varias concentraciones de medicamentos a tres mezclas séricas independientes que contenían aproximadamente 35, 70 y 105 U/L de BAP y se analizaron por triplicado. Los medicamentos y las concentraciones mayores analizadas fueron:

Sustancia	Concentración más elevada
Etidronato	350 µg/ml
Estrógeno	100 µg/ml
Ibuprofeno	150 µg/ml
Paracetamol	350 µg/ml
Aspirina	350 µg/ml
Calcitonina - Humana	80 µg/ml
Calcitonina - Salmón	80 µg/ml
Calcio	500 µg/ml
Mezcla de noretindrona/etinilestradiol (anticonceptivo oral)	3 mg/ml
Vitamina D	400 IU/ml

Precisión

Se realizaron estudios comparativos para evaluar las correlaciones entre las determinaciones de fosfatasa alcalina específica de los huesos (BAP) sérica obtenidas utilizando el análisis MicroVue BAP y los resultados obtenidos utilizando tres métodos existentes actualmente en el mercado para medir la fosfatasa alcalina total (Total Alkaline Phosphatase - TAP) o BAP. Los estudios se efectuaron en un centro de investigación clínica independiente utilizando suero de 114 pacientes con la enfermedad de Paget y 464 personas sanas. El primer método comparativo fue una técnica colorimétrica para la medición de la TAP. El coeficiente de correlación (r) obtenido entre dicho método colorimétrico y el análisis MicroVue BAP fue de 0,99. El segundo método comparativo fue un método electroforético para la determinación de los niveles de isoenzimas de BAP (r = 0,99). El tercer método comparativo consistió en un análisis inmunoradiométrico para la determinación de la BAP (r = 0,99). De los 114 pacientes diagnosticados con la enfermedad de Paget, 101 pacientes presentaron valores superiores al límite superior de los intervalos de referencia para el análisis MicroVue BAP. Trece pacientes tuvieron valores inferiores al límite superior de los intervalos de referencia.

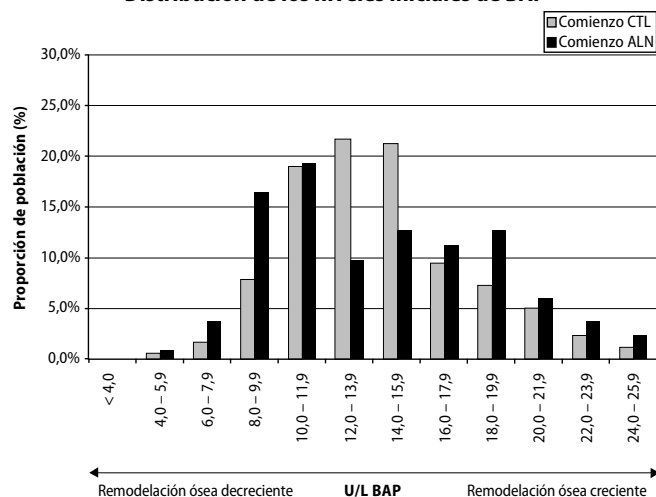
ESTUDIOS CLÍNICOS

Uso de MicroVue BAP para el control de la eficacia de la terapia antirresorptiva en la osteoporosis

Se llevó a cabo con éxito un ensayo aleatorizado, controlado y multicéntrico con objeto de establecer la seguridad y la eficacia del análisis MicroVue BAP para controlar los cambios de las concentraciones séricas de BAP asociados con la terapia antirresorptiva de aminobisfosfonato (alendronato). Los pacientes, procedentes de un estudio más extenso para determinar la eficacia del alendronato en el tratamiento de la osteoporosis,⁷ fueron mujeres posmenopáusicas de 45 a 84 años (media de 64 ± 7 años), diagnosticadas de osteoporosis (en función de la presentación clínica o de una densidad mineral ósea de la columna lumbar [Lumbar Spine Bone Mineral Density - LSBMD] inicial más de 2,5 desviaciones estándar por debajo de la media para mujeres premenopáusicas maduras). Al comienzo, se aleatorizaron las pacientes idóneas a recibir o bien 10 mg de alendronato y 500 mg de calcio al día (ALN) o bien placebo y 500 mg de calcio al día (CTL). Se obtuvieron muestras de suero de todas las pacientes al comienzo y a los 3, 6 y 12 meses.

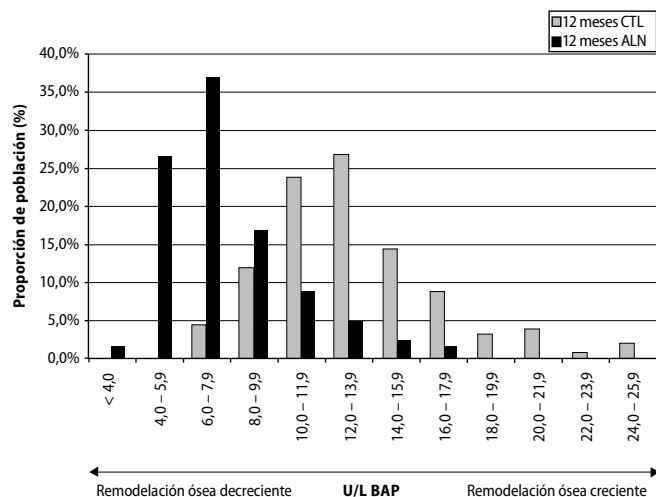
Las concentraciones iniciales medias de BAP (± 1 DE) ($14,6 \pm 5,4$ frente a $14,6 \pm 4,6$; $p = 0,900$) y la LSBMD ($0,74 \pm 0,10$ frente a $0,75 \pm 0,09$; $p = 0,751$) presentaron valores similares para ALN y CTL. En la siguiente figura se muestran las distribuciones de valores iniciales de BAP con ALN y CTL por proporción de la población estudiada.

Distribución de los niveles iniciales de BAP



La BAP fue significativamente inferior para ALN que para CTL a los 3 ($9,6 \pm 3,5$ frente a $13,4 \pm 4,0$; $p < 0,00001$), a los 6 ($8,0 \pm 3,0$ frente a $13,2 \pm 3,8$; $p < 0,00001$) y a los 12 meses ($7,8 \pm 2,6$ frente a $13,3 \pm 3,9$; $p < 0,00001$). En la siguiente figura se presentan las distribuciones de los valores de BAP al cabo de 12 meses en los grupos de ALN y CTL.

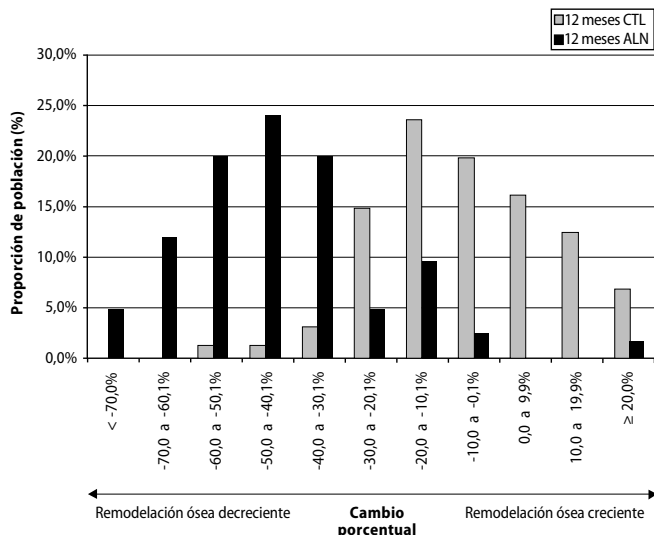
Distribución de los niveles de BAP al cabo de 12 meses Tratamiento con alendronato (ALN) o calcio (CTL)



La concentración media de BAP (± 1 DE) en las pacientes tratadas con CTL descendió modestamente desde el valor inicial hasta un $-5,4\%$ ($\pm 19,1\%$) a los 12 meses ($p = 0,00004$), lo que puede reflejar el limitado efecto limitado ahorrador de hueso del calcio.¹³

Las concentraciones medias de BAP en todas las pacientes tratadas con ALN se redujeron un $30,5 \pm 24,6\%$ a los 3 meses, un $42,8 \pm 17,3\%$ a los 6 meses y un $42,2 \pm 19,2\%$ a los 12 meses. Las pacientes tratadas con ALN fueron más propensas que las tratadas con CTL a mostrar pérdidas de BAP que sobrepasaran el cambio porcentual mínimo,¹⁴ presentando una reducción $\geq 25\%$ el 68,5%, 83,9% y 86,1% de las pacientes de ALN y el 9,5%, 15,9% y 9,0% de las pacientes tratadas con CTL a los 3, 6 y 12 meses. En la siguiente figura se presentan las distribuciones del cambio porcentual respecto a los valores iniciales de BAP al cabo de 12 meses en los grupos de ALN y CTL.

Distribución del cambio porcentual en los niveles de BAP al cabo de 12 meses Tratamiento con alendronato (ALN) o calcio (CTL)



A los 12 meses, las pacientes del grupo de ALN habían ganado LSBMD en comparación con las de CTL ($p < 0,00001$) según se muestra en la tabla siguiente.

Cambios en la LSBMD (Media \pm DE)

	n	Basiline (g/cm ²)	12 Monate (g/cm ²)	Δ (%)
CTL	159	0,75 \pm 0,09	0,74 \pm 0,09	-0,6 \pm 3,4
ALN	121	0,74 \pm 0,10	0,79 \pm 0,10	5,5 \pm 4,1

Estos resultados indican que el análisis MicroVue BAP es seguro y eficaz para el control del efecto antirreabsortivo del tratamiento con aminobisfosfonato (alendronato) entre las personas diagnosticadas de osteoporosis.

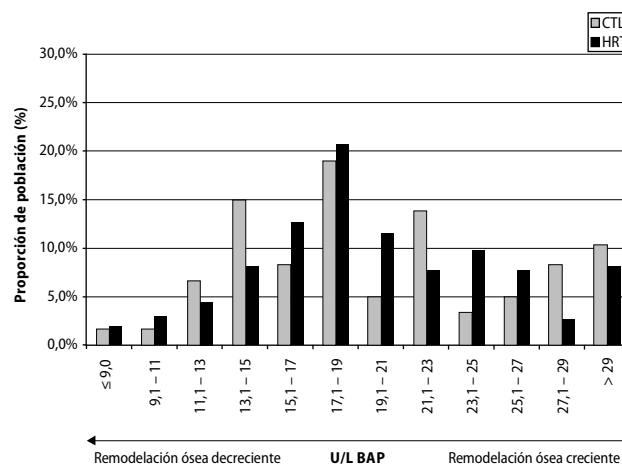
Uso de MicroVue BAP para el control del tratamiento antirreabsortivo hormonal y la previsión de la respuesta esquelética (densidad mineral ósea) en mujeres posmenopáusicas

Control del tratamiento:

Se llevó a cabo con éxito un ensayo aleatorizado, controlado y multicéntrico con objeto de establecer la seguridad y la eficacia del análisis MicroVue BAP para controlar los cambios de las concentraciones séricas de BAP asociados con la terapia antirreabsortiva con estrógenos/progestina. El incremento de la remodelación ósea y la pérdida significativa de hueso suelen estar asociadas con una carencia estrogénica posmenopáusica. Se ha demostrado que la reposición de estrógenos reduce con eficacia la remodelación ósea y protege la masa ósea existente.^{3,6} Las pacientes eran mujeres posmenopáusicas, con una edad de 45 a 64 años (media de 56 \pm 4 años), que habían experimentado menopausia natural o quirúrgica en los últimos 10 años. Al comienzo, las pacientes idóneas fueron aleatorizadas a uno de los siguientes grupos de tratamiento activo (HRT): Premarin® (0,625 mg diarios) con progestina placebo, Premarin (0,625 mg diarios) y progestina activa (Provera® 2,5 mg/día continuos, Provera 10 mg/día cíclicos o progesterona micronizada 200 mg/día cíclicos); o grupo de control (CTL): estrógeno placebo y progestina placebo. Se obtuvieron muestras séricas iniciales y a los 12 meses de todas las pacientes.

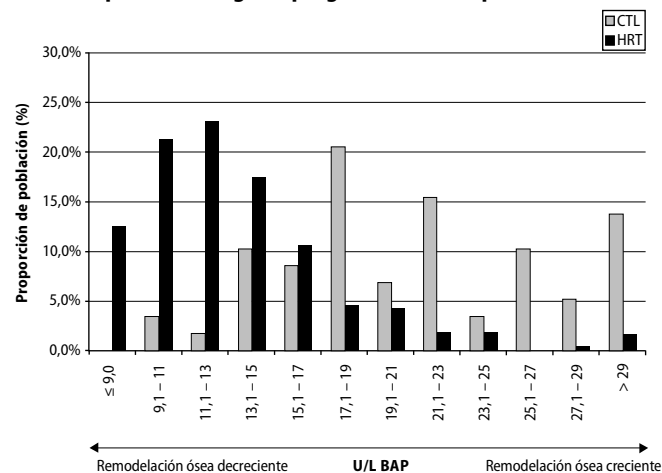
La concentración inicial media de BAP (± 1 DE) (20,7 \pm 7,6 frente a 20,3 \pm 6,8 u/l; $p = 0,704$) y la LSBMD (0,97 \pm 0,17 frente a 0,97 \pm 0,15 g/cm²; $p = 0,970$) presentaron valores similares para CTL y HRT. En la siguiente figura se muestran las distribuciones de los valores iniciales de BAP en el tratamiento con HRT y CTL por proporción de la población estudiada.

Distribución de los niveles iniciales de BAP



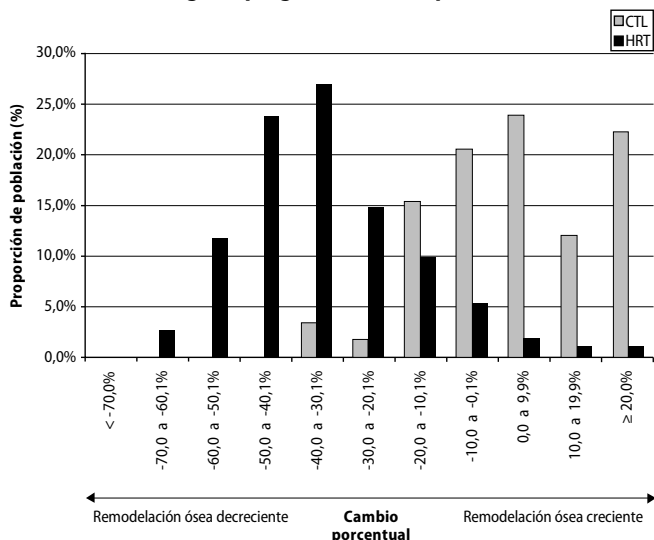
La BAP fue significativamente inferior para la HRT que para el tratamiento con CTL a los 12 meses (13,3 \pm 5,0 frente a 21,9 \pm 7,9 u/l; $p < 0,00001$). En la siguiente figura se presentan las distribuciones de los valores de BAP al cabo de 12 meses en los grupos de HRT y CTL.

Distribución de los niveles de BAP al cabo de 12 meses Terapia con estrógeno/progestina (HRT) o placebo (CTL)



La concentración media de BAP (± 1 DE) en pacientes tratados con CTL aumentó ligeramente desde el valor inicial hasta el +9,8% ($\pm 33,2\%$) a los 12 meses ($p = 0,08$) mientras que las concentraciones de BAP en pacientes tratadas con HRT descendieron desde los valores iniciales hasta -32,4 ($\pm 21,5\%$) a los 12 meses ($p < 0,00001$). Las pacientes tratadas con HRT presentaron una mayor tendencia que las de CTL a mostrar pérdidas de BAP que sobrepasaran el cambio porcentual mínimo¹²; el 73,3% de pacientes de HRT y el 3,4% de las pacientes tratadas con CTL presentaron una reducción $\geq 25\%$ a los 12 meses. En la siguiente figura se presentan las distribuciones del cambio porcentual de los valores de BAP respecto al valor inicial al cabo de 12 meses en los grupos de HRT y CTL.

Distribución del cambio porcentual en los niveles de BAP al cabo de 12 meses Terapia con estrógeno/progestina (HRT) o placebo (CTL)



Al cabo de 12 meses, las pacientes tratadas con HRT habían ganado LSBMD en comparación con las de CTL ($p < 0,00001$), como se muestra en la siguiente tabla.

Cambios en la LSBMD (Media ± DE)

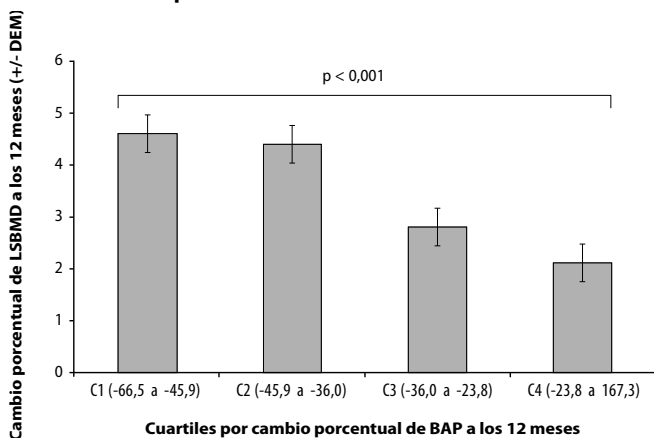
	n	Inicial (g/cm ²)	12 meses (g/cm ²)	Δ (%)
CTL	58	0,97 ± 0,17	0,95 ± 0,16	-1,6 ± 2,8
HRT	262	0,97 ± 0,15	1,00 ± 0,15	+3,5 ± 2,8

Estos resultados indican que el análisis MicroVue BAP es seguro y eficaz para controlar el efecto antirreabsortivo de la terapia de reposición hormonal en mujeres posmenopáusicas.

Previsión de la respuesta esquelética:

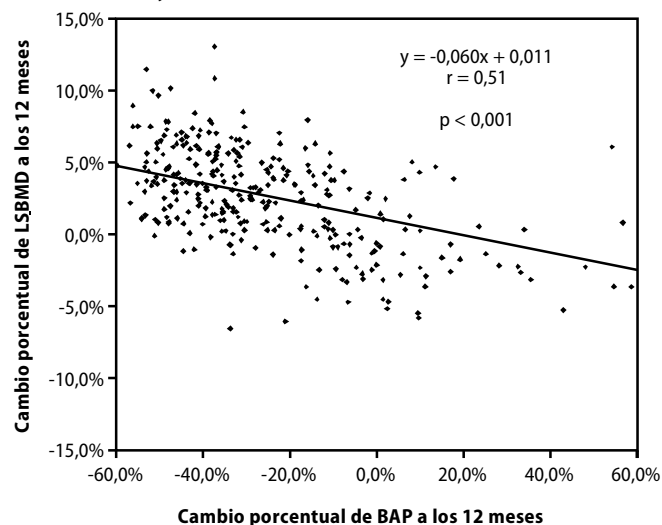
En la siguiente figura se describe la reducción porcentual de los valores de BAP desde el comienzo hasta los 12 meses por cuartil para el grupo tratado con HRT. Las pacientes del cuartil más alto (C1: mayor reducción porcentual) presentaron la mayor ganancia de LSBMD en respuesta al tratamiento con HRT.

Grupo de HRT - Valores de cambio porcentual en la BAP hasta los 12 meses estratificados por cuartil y cambio porcentual correspondiente en la LSBMD a los 12 meses



En la siguiente figura se proporciona el análisis de regresión lineal ($y = -0,060x + 0,011$, $r = -0,51$; $p < 0,001$) del cambio porcentual de la BAP desde el comienzo hasta los 12 meses y del cambio porcentual de la BMD desde el comienzo hasta los 12 meses para todas las pacientes del estudio (con placebo y tratadas).

Estudio de HRT - Regresión lineal del cambio porcentual en LSBMD y BAP desde el comienzo hasta los 12 meses



El análisis mediante tablas de contingencia demostró que una reducción $\geq 25\%$ de la BAP a los 12 meses estaba significativamente asociada ($p < 0,0001$) con una respuesta esquelética positiva al HRT (ganancia de la densidad mineral ósea) a los 12 meses. Los intervalos de confianza binómicos de un 85% (aproximación de segundo orden) para la sensibilidad y la especificidad de utilizar una reducción del 25% en la BAP para predecir una respuesta al HRT son:

- Sensibilidad = 77% (IC del 95%, 75%, 82%);
- Especificidad = 61% (IC del 95%, 41%, 78%).

Estos resultados indican que el cambio porcentual en la concentración de BAP puede utilizarse para predecir el grado de respuesta esquelética (BMD) al tratamiento con HRT.

ASISTENCIA

Para servicios fuera de EE.UU., póngase en contacto con su distribuidor local. Información adicional de Quidel, nuestros productos y nuestros distribuidores puede encontrarse en nuestra página web www.quidel.com.

REFERENCIAS

1. Price CP. Multiple forms of human serum alkaline phosphatase: detection and quantitation. *Ann.Clin.Biochem.* 1993;30:355-372.
2. Whyte MP. Hypophosphatasia and the role of alkaline phosphatase in skeletal mineralization. *Endocr.Rev.* 1994;15:439-461.
3. Riggs BL. Overview of osteoporosis. *West.J.Med.* 1991;154:63-77.
4. Garnero P, Delmas PD. Clinical usefulness of markers of bone remodeling in osteoporosis. In: Meunier PJ (ed.). *Osteoporosis: Diagnosis and management.* London: Martin Dunitz, 1998:79-101.
5. Singer FR, Roodman GD. Paget's disease of bone. In: Bilezikian JP, Raisz LG, Rodan GA (ed.). *Principles of bone biology.* San Diego: Academic Press, 1996:969-977.
6. Consensus Development Statement. Who are candidates for prevention and treatment for osteoporosis? *Osteoporos.Int.* 1997;7:1-6.
7. Liberman UA, Weiss SR, Bröll J, et al. Effect of oral alendronate on bone mineral density and the incidence of fractures in postmenopausal osteoporosis. *N.Engl.J.Med.* 1995;333:1437-1443.
8. Price CP, Thompson PW. The role of biochemical tests in the screening and monitoring of osteoporosis. *Ann.Clin.Biochem.* 1995;32:244-260.
9. Meunier PJ, Vignot E. Therapeutic strategy in Paget's disease of bone. *Bone* 1995;17(Suppl.):489S-491S.
10. Gomez B, Jr., Ardakani S, Ju J, et al. Monoclonal antibody assay for measuring bone-specific alkaline phosphatase activity in serum. *Clin.Chem.* 1995;41:1560-1566.
11. Pedrazzoni M, Alfano FS, Girasole G, et al. Clinical observations with a new specific assay for bone alkaline phosphatase: A cross-sectional study in osteoporotic and pagetic subjects and a longitudinal evaluation of the response to ovariectomy, estrogens, and bisphosphonates. *Calcif.Tissue Int.* 1996;59:334-338.
12. Garnero P, Shih WJ, Gineyts E, Karpf DB, Delmas PD. Comparison of new biochemical markers of bone turnover in late postmenopausal osteoporotic women in response to alendronate treatment. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 1994;79:1693-1700.
13. Reid IR, Ames RW, Evans MC, Gamble GD, Sharpe SJ. Long-term effects of calcium supplementation on bone loss and fractures in postmenopausal women: A randomized controlled trial. *Am.J.Med.* 1995;98:331-335.
14. Fraser CG. Data on biological variation: essential prerequisites for introducing new procedures? [Editorial] *Clin.Chem.* 1994;40:1671-1673.
15. Centers for Disease Control. Recommendations for prevention of HIV transmission in health-care settings. *MMWR* 1987;36 (suppl no. 2S):001.

GLOSARIO



Consulte las instrucciones de uso en CDROM



Uso Previsto

REF 8012 – **MICROVUE** BAP EIA Kit
Bone Health



Quidel Corporation | 10165 McKellar Court
San Diego, CA 92121 USA | www.quidel.com



MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover, Germany