

Actualización sobre la determinación de marcadores de remodelado óseo

E. TORRES, P. MEZQUITA, M. DE LA HIGUERA, D. FERNÁNDEZ
Y M. MUÑOZ

Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital Clínico San Cecilio. Granada. España.

Los marcadores bioquímicos de remodelado óseo son sustancias liberadas a la circulación durante la formación y resorción ósea que reflejan la actividad metabólica del hueso en un momento puntual. Pueden ser determinados en sangre y en orina.

Se clasifican en marcadores de formación ósea y marcadores de resorción ósea.

Su determinación puede ser de utilidad en la investigación clínica y básica de las enfermedades metabólicas del hueso.

Aunque algunos de estos marcadores tienen capacidad para predecir el riesgo de fracturas, no permiten cuantificar la masa ósea.

En el momento actual, la amplia variabilidad en la sensibilidad y especificidad de los marcadores disponibles cuestiona su utilidad en la práctica clínica.

DETERMINATION OF MARKERS OF BONE REMODELING: AN UPDATE

Biochemical markers of bone turnover are products released to circulation during bone formation or bone resorption, and they reflect the bone metabolic activity at a certain moment.

We can measure them in serum or in urine and they are usually classified, according to the metabolic process they are considered to reflect, in: markers of bone formation or markers of bone resorption.

Their measurement can be useful in clinical research and routine clinical practice in metabolic bone diseases. Although some of these markers are able to predict risk fracture, they can't quantify bone mass.

At the present time, the use of these markers in the routine clinical practice is questionable because of the wide variability in sensitivity and specificity

Key words: Bone markers. Bone formation. Bone resorption. Fracture. Bone mineral density.

El tejido óseo presenta un sistema continuo de recambio durante la vida adulta en el que el hueso envejecido es destruido y sustituido por hueso nuevo mediante el acoplamiento de los fenómenos de remodelado: resorción y formación ósea.

La enfermedad metabólica ósea se caracteriza por un desequilibrio de este proceso, generalmente con un predominio de los fenómenos de resorción sobre los de formación, lo que condiciona una pérdida neta de hueso.

La evaluación de forma sencilla y con técnicas no invasivas de los fenómenos de remodelado óseo puede ser de utilidad y complementar la medida de la densidad mineral ósea (DMO) en el estudio de las enfermedades metabólicas óseas.

Entendemos por marcadores bioquímicos de remodelado óseo las sustancias liberadas a la circulación durante los procesos de formación y/o resorción ósea que reflejan la actividad metabólica ósea en un momento puntual. En los últimos años se ha incorporado la determinación de nuevos metabolitos óseos con mayor sensibilidad y especificidad que los metabolitos clásicos. Estos análisis

Palabras clave: Marcadores de remodelado óseo. Formación ósea. Resorción ósea. Fractura. Densidad mineral ósea.

Correspondencia: Dra. E. Torres.
Granada, 33. 18193 Barrio de Monachil. Granada. España.
Correo electrónico: etove@eresmas.net

Manuscrito recibido el 13-1-2003; aceptado para su publicación el 20-1-2003.

TABLA 1. Marcadores de remodelado óseo

Marcadores de formación	Marcadores de resorción
Suero Fosfatasa alcalina total (FA) Fosfatasa alcalina ósea (FAo) Osteocalcina (BPG) Propéptido C-terminal del procolágeno tipo I (PICP) Propéptido N-terminal del procolágeno tipo I (PINP)	Suero Fosfatasa ácida tartrato-resistente (TRAP) Telopéptido C-terminal del colágeno tipo I (ICTP) Orina Excreción urinaria de calcio Hidroxiprolinuria Piridolina (Pyd) Deoxipiridolina (D-Pyd) Telopéptido C-terminal del colágeno <i>crosslink</i> (CTx) Telopéptido N-terminal del colágeno tipo I <i>crosslink</i> (NTx)

permiten la monitorización del *turnover* óseo mediante las determinaciones en sangre y orina de las enzimas o fragmentos de matriz proteica liberadas a la circulación por los osteoblastos y los osteoclastos¹.

Existen multitud de factores que modifican los valores de estos marcadores. Así, su tasa de producción no es constante y, al igual que la mayoría de las determinaciones bioquímicas, está sujeta a un ritmo circadiano variable para cada marcador. Otros factores, como la dieta, la edad, el sexo, las diferencias en la masa corporal y ósea, la actividad física, la función renal, y la presencia de enfermedades y terapias concomitantes deben ser tenidos en cuenta antes de realizar una interpretación de sus resultados, corrigiéndolos o ajustándolos correctamente cuando sea posible.

FISIOLOGÍA ÓSEA

El esqueleto está formado por millones de unidades funcionales microscópicas (unidades básicas de remodelado), que son las responsables de la renovación del tejido óseo mediante el acoplamiento de los fenómenos de formación y resorción óseas. Este proceso se produce mediante la acción coordinada de osteoblastos y osteoclastos. Estos fenómenos están regulados por factores locales y sistémicos².

El ciclo de remodelado óseo en el hombre se completa en 3-6 meses, y predomina la duración de la fase formativa (meses) sobre la resorptiva (días). La periodicidad con la que ocurren los episodios de formación y resorción representa la frecuencia de activación y constituye el principal factor determinante del remodelado esquelético total.

En condiciones normales, existe un acoplamiento entre los fenómenos de formación y resorción, por lo que la masa ósea permanece estable. Cuando existe un desacoplamiento, generalmente con predominio de los fenómenos de resorción, aparece la pérdida de masa ósea, que es lo que ocurre en las osteoporosis primarias y secundarias³.

CLASIFICACIÓN DE LOS MARCADORES DE REMODELADO ÓSEO (tabla 1)

Se clasifican en marcadores que reflejan la tasa de formación y marcadores que reflejan la tasa de resorción. Cuando ambos fenómenos están acoplados, cualquier marcador puede reflejar la tasa global de remodelado óseo⁴.

Marcadores de formación ósea

El mayor producto sintetizado por el osteoblasto es el colágeno tipo I. Sin embargo, los osteoblastos sintetizan también otras proteínas no colágenas, dos de las cuales son utilizadas como marcadores de acción osteoblástica y, por tanto, de formación ósea:

Fosfatasa alcalina (FA)

Se conocen 5 isoenzimas diferentes (hepática, renal, ósea, intestinal y placentaria), y su actividad en el plasma resulta de la suma de las cinco. Las hepáticas y las óseas son las más abundantes, y su diferencia es-triba en su patrón de glucosilación

Presenta una baja sensibilidad y especificidad en el estudio de la enfermedad metabólica ósea, al englobar la actividad de las 5 isoenzimas. Sin embargo, resulta un marcador sencillo y barato en ausencia de gestación y con una función hepática normal⁵.

La isoenzima ósea (50% del total) es una proteína producida por el osteoblasto, y su medida tras el desarrollo de anticuerpos monoclonales específicos (bALP) refleja fielmente la actividad osteoblástica. Es el único marcador que no se encuentra influido por la variación diurna debido a su larga vida media⁶. Está aumentada durante la fase de formación ósea de la infancia y adolescencia, y disminuye en la edad adulta, sin diferencias entre sexos⁷. Se eleva en los trastornos metabólicos que cursan con aumento del remodelado óseo y en las mujeres al llegar la menopausia.

Osteocalcina (BGP)

Es una proteína no colágena secretada por el osteoblasto y, por tanto, es aceptada como marcador de la actividad osteoblástica o de la formación ósea. Es una proteína de 49 aminoácidos codificada por un gen localizado en el cromosoma 1. Su papel exacto en el remodelado óseo no ha sido definido.

También conocida como *bone gla protein* (BGP), es

la proteína no colágena más abundante de la matriz extracelular⁸.

Las concentraciones séricas de osteocalcina son mayores en niños y adolescentes, con un pico máximo en la pubertad. En el adulto permanecen estables, y en la mujer aumentan a partir de la menopausia y en el varón a partir de los 60 años. Presenta un ritmo circadiano caracterizado por el descenso de su concentración por la mañana, con valores mínimos al mediodía y un aumento paulatino por la tarde, con un pico máximo a medianoche⁹⁻¹¹.

Se encuentra elevada en situaciones con recambio óseo acelerado.

Se considera el mejor marcador de remodelado óseo y, recientemente, su forma incompletamente descarboxilada ha mostrado ser predictora del riesgo de fractura en la cadera¹².

Como hemos indicado, el mayor producto de síntesis del osteoblasto es el colágeno de tipo I y, por tanto, su medida podría considerarse como el mejor marcador de formación ósea. En este sentido, en los últimos años se han desarrollado análisis para las siguientes mediciones.

Péptidos de extensión del procolágeno tipo I

Durante el proceso extracelular del colágeno se liberan péptidos de los extremos carboxi y aminoterminal de las moléculas de procolágeno, que pasarían al torrente sanguíneo. Su concentración sérica refleja, por tanto, los cambios en la síntesis de las nuevas moléculas colágenas procedentes de los osteoblastos y los fibroblastos.

Hay que tener en cuenta que no todo el procolágeno tipo I circulante procede del hueso, ya que también es un componente de la piel, las encías, los tendones, el cartílago, el intestino, etc.

Estos péptidos de extensión del procolágeno tipo I, también conocidos como propéptidos carboxiterminales del procolágeno tipo I (PICP) y propéptidos aminoterminal del procolágeno tipo I (PINP), pueden ser determinados como índices de formación ósea¹³, pero hasta que se conozca con exactitud su significado biológico, así como qué proporción de estos péptidos proviene del hueso o de los tejidos blandos (baja especificidad), no parece recomendable su uso para el estudio de la enfermedad metabólica ósea. Asimismo, en algunos estudios existe una escasa correlación entre los valores de PICP y PINP¹⁴.

Marcadores de resorción ósea

Excreción urinaria de calcio

La excreción urinaria de calcio proporciona información sobre la tasa de resorción ósea. Se encuentra influida por diversos factores, como la ingesta cálcica, la absorción intestinal de calcio y el umbral renal de calcio. Por ello, su sensibilidad es baja y sólo es útil en la clínica en casos de resorción ósea marcada⁴.

Hidroxiprolina

La excreción urinaria de hidroxiprolina (OHP) refleja la degradación del colágeno óseo, pero también está influida por el metabolismo de otros tejidos (cartílago, piel) y por la absorción de productos ricos en colágeno, como carne o gelatinas. Debido a su origen tisular diverso y a su patrón metabólico, se correlaciona escasamente con la resorción ósea¹⁵.

Fosfatasa ácida tartrato-resistente (TRAP)

Las fosfatasas ácidas son un grupo de enzimas lisosomales, con 6 isoenzimas conocidas, entre las que destaca el tipo 5, resistente a la inhibición por tartrato, que se encuentra en el hueso, el bazo, la placenta, los macrófagos pulmonares y la piel.

Es una enzima del osteoclasto que parece estar relacionada con la degradación de la matriz ósea. Se encuentra elevada en situaciones de aumento de *turnover* óseo, pero su especificidad y sensibilidad son bajas, ya que otras células, además de los osteoclastos, presentan actividad TRAP. Su elevación en situaciones de baja resorción ósea, como la osteopetrosis, cuestiona su utilidad como marcador de la actividad osteoclástica¹⁶.

Puentes piridolínicos

Los puentes de piridolina han sido los marcadores de reabsorción ósea más medidos en los últimos años. Proceden de tres residuos de moléculas del tropocolágeno que se condensan para formar un anillo de piridolina (*crosslink*). Por su estructura pueden dividirse en puentes de piridolina (Pyr), formados por dos residuos de hidroxilisina y uno de lisina, y deoxipiridolina (D-Pyr), formados por tres residuos de hidroxilisina. La Pyr se localiza en el hueso y el cartílago, y en pequeñas cantidades en otros tejidos¹⁷, mientras que la D-Pyr procede exclusivamente del hueso y la dentina¹⁸. No obstante, como el recambio de colágeno en los otros tejidos es escaso, se acepta que la mayoría de la Pyr y, sobre todo, la D-Pyr son de origen óseo¹⁹. Esto explica la magnífica correlación existente entre la excreción de Pyr y la tasa de resorción ósea medida por estudios de cinética de calcio²⁰, y entre la tasa de D-Pyr y estudios de resorción ósea mediante radiotrazador²¹.

Aunque están presentes en la dieta, no se absorben, y se excretan por orina en forma libre en el 30% o unidas al péptido aminoterminal. Su determinación se realiza mediante Cromatografía líquida de alta afinidad o enzimo-inmunoanálisis¹⁹.

Están aumentadas en todas las situaciones que cursan con un incremento de remodelado óseo²¹.

Telopéptidos carboxiterminales (ICTP, CTX) y aminoterminal (NTX) del colágeno

En los procesos de resorción ósea, los osteoclastos liberan minerales y fragmentos del colágeno. Algunos de estos fragmentos peptídicos de los extremos amino o carboxiterminales no presentan la estructura helicoidal

TABLA 2. Uso clínico en osteoporosis primarias

Uso clínico	Utilidad
Diagnóstico de osteoporosis	Ninguna
Predicción de pérdida de masa ósea	Poca
Predicción de fracturas	
Selección de pacientes para tratamiento	Posible, cuando se usa junto a medida de DMO
	Sin DMO, no útil hasta que la predicción de riesgo de fractura esté bien documentada
Selección de tratamiento específico	Será de mayor utilidad cuando estén disponibles agentes terapéuticos que estimulen formación ósea (PTH)
Selección de dosis específica	Muy útil, cuando exista más de una dosis disponible
Monitorización de cumplimiento terapéutico	No, es más coste-efectivo preguntar al paciente
Monitorización de la eficacia del tratamiento	Es su mayor utilidad clínica
Predicción de incremento de masa ósea tras tratamiento	Sí, pero no se ha demostrado en todos los estudios, ni con todas las terapias

dal típica de la fibra de colágeno, las regiones telopeptídicas, que se unen a los puentes piridolínicos y pasan a la circulación. Según las fracciones que engloben se denominan:

1. Péptidos carboxiterminales del colágeno tipo I (ICTP, CTX). Constituyen la fracción conjunta de las regiones carboxiterminales de la región α -1 y los puentes de piridolina.

2. Péptidos aminotermiales del colágeno tipo I (INTP, NTX). Constituyen la fracción conjunta de las regiones carboxiterminales de las cadenas α -1 y α -2 junto a los puentes de piridolina.

Ambos pueden ser determinados en la orina mediante técnicas de radioinmunoanálisis o inmunoenzimológico²².

Han mostrado una correlación significativa con la densidad mineral ósea (DMO) en mujeres posmenopáusicas²³.

En resumen, se consideran como marcadores más sensibles y específicos de la actividad osteoclástica que la hidroxiprolina o los puentes de piridolina^{24,25}.

LIMITACIONES DEL USO DE LOS MARCADORES DE REMODELADO ÓSEO

1. La determinación de los marcadores de resorción ósea se realiza habitualmente en la orina, lo que obliga a ajustarlos según la excreción de creatinina. Esto tiene algunas limitaciones ya que, junto a la variabilidad de los propios marcadores, hay que añadir la variabilidad en la determinación de creatinina.

2. Algunos marcadores de *turnover* óseo presentan un ritmo circadiano, lo cual obliga a tenerlo en cuenta a la hora de hacer el muestreo.

3. La mayoría de los marcadores de *turnover* óseo se correlacionan positivamente con la edad, excepto desde la adolescencia hasta los 25 años, en que la fase de consolidación del esqueleto se ha completado. Por ello, el clínico debe conocer los rangos de referencia de cada marcador en función de la edad.

4. Es importante conocer que los diferentes marcadores pueden estar aumentados o disminuidos en fun-

ción de distintas enfermedades, o tener una respuesta diferente en función de la terapia.

5. Por último, hay que tener en cuenta la variabilidad inter e intraanálisis, así como la variabilidad de cada paciente. En términos generales, se estima que la variabilidad de los marcadores óseos urinarios es del 20-30%, mientras que los marcadores determinados en el suero presentan una variabilidad del 10-15%²⁶.

USO CLÍNICO DE LOS MARCADORES DE REMODELADO ÓSEO

Osteoporosis primaria (tabla 2)

Diagnóstico

Las concentraciones medias de marcadores de remodelado óseo son superiores en pacientes con osteoporosis que en individuos sanos de igual edad o sexo^{27,28}. Asimismo, se correlacionan de forma negativa con la DMO²⁹.

Sin embargo, no son útiles para el diagnóstico debido al solapamiento entre los valores encontrados entre pacientes y sujetos sanos³⁰.

Predicción de pérdida ósea y riesgo de fractura

En la actualidad, el mayor predictor del riesgo de fractura es la medida de la DMO, tal y como se ha demostrado en múltiples estudios. Diversos estudios han señalado que los marcadores de remodelado óseo pueden ser útiles en la predicción de la tasa de pérdida ósea³¹⁻³⁴. De esta forma, la información que aportan podría mejorar la estimación del riesgo de fractura. Los mecanismos por los que el incremento del *turnover* aumenta el riesgo de fractura pueden ser la exacerbación del rango de pérdida ósea, el deterioro de la microarquitectura del hueso debido a la perforación de las trabéculas, y la pérdida de elementos estructurales óseos o la reducción de la elasticidad ósea por un aumento del espacio de remodelado.

Algunos estudios sugieren que los marcadores de *turnover* pueden ser un predictor independiente de

riesgo de fractura. En un estudio prospectivo realizado en mujeres francesas mayores de 75 años, el incremento de CTX y D-Pyr en la orina por encima de 2 desviaciones estándar (DE) del rango superior de mujeres premenopáusicas se asoció a un incremento del riesgo de fracturas de cadera. Otros estudios, como los de van Daele et al, encuentran que una elevación de 1 DE en la excreción de D-pyr libre urinaria multiplica por cuatro el riesgo de fractura de cadera³⁵. De igual forma, Garnero et al describen que las mujeres con elevación de D-pyr o CTX duplican su riesgo de fractura, especialmente aquellas con una menor DMO, en cuyo caso el riesgo aumenta hasta 4,5 veces³⁶. Sin embargo, hasta que se disponga de más estudios prospectivos, el uso sistemático de los marcadores de remodelado para complementar las determinaciones de DMO y predecir el riesgo de fractura no puede recomendarse.

Selección de pacientes para terapia antirreabsortiva

Algunos estudios muestran que los pacientes con una mayor elevación de los parámetros de *turnover* óseo responden mejor a la terapia antirreabsortiva (estrógenos, calcitonina o bifosfonatos). En un estudio prospectivo a 2 años en mujeres con terapia hormonal sustitutiva, Chesnut et al³⁷ hallaron que aquellas con mayor excreción urinaria de NTX presentaban una mayor ganancia de masa ósea.

Monitorización de la terapia antirreabsortiva

Hoy día representa la mayor indicación clínica del uso de marcadores óseos. Diversos estudios demuestran que, tras el inicio de la terapia antirreabsortiva, existe un descenso significativo, tanto de los marcadores de reabsorción óseos (entre 4-6 semanas) como de los marcadores de formación ósea (entre 2-3 meses). Por tanto, pueden ser de utilidad para medir la adherencia y efectividad del tratamiento³⁸⁻⁴⁰.

También se ha descrito que las mujeres posmenopáusicas con mayores niveles de marcadores son las que más se benefician de la terapia antirreabsortiva⁴¹. Asimismo, se ha observado que mujeres en tratamiento hormonal sustitutivo con valores de marcadores normales o bajos no presentan una disminución de masa ósea³⁹. Por otra parte, en algunas pacientes, la terapia antirreabsortiva no es eficaz y, a pesar del tratamiento, prosigue la pérdida de masa ósea^{31,39} (un tercio de las tratadas con terapia hormonal sustitutiva y un sexto de las tratadas con alendronato). En estos casos, la medida de marcadores a los 2 o 3 meses ofrece ventajas adicionales a la medida de la DMO, ya que para ésta habría que esperar 12-24 meses⁴¹.

Osteoporosis secundarias

Al igual que ocurre en la osteoporosis primaria, la determinación de los marcadores de remodelado óseo aporta información útil para explicar los cambios fisiopatológicos del hueso. Sin embargo, su utilidad clínica está en discusión.

Hipertiroidismo

Las hormonas tiroideas incrementan el remodelado óseo y aumentan la actividad osteoblástica y osteoclástica. Así, un exceso de hormonas tiroideas ocasiona un desequilibrio del remodelado, con un acortamiento de los ciclos y un predominio de la resorción, cuyo balance neto es una pérdida de masa ósea^{42,43}.

En el hipertiroidismo se encuentran aumentados los marcadores de remodelado y, tras la consecución del eutiroidismo, se produce una fase de recuperación de masa ósea medida inicialmente por un incremento de los marcadores de formación y, posteriormente, por un descenso de los marcadores de resorción⁴⁴.

Hiperparatiroidismo

El incremento de los marcadores de *turnover* óseo (TRAP, ICTP) en el hiperparatiroidismo primario puede indicar una afección temprana del hueso en pacientes teóricamente asintomáticos. Sin embargo, hacen falta más evidencias antes de recomendar su uso sistemático en clínica⁴⁵.

Diabetes

En la diabetes mellitus se produce una disminución del remodelado óseo^{46,47}, lo que se traduce en disminución de los valores de marcadores de formación ósea, como ocurre con la osteocalcina^{48,49}. En las situaciones de descompensación glucémica mantenida se producen alteraciones metabólicas que aumentan la resorción. Esto determina un efecto deletéreo sobre la masa ósea; la aparición de complicaciones microvasculares es el punto crítico en la progresión de la osteopenia diabética⁵⁰, que se asocia a un aumento de los marcadores de resorción⁵¹.

Déficit de hormona del crecimiento (GH)

En adultos con déficit de GH existe una disminución del contenido mineral óseo y de la densidad mineral ósea, asociada habitualmente a una reducción de los marcadores de remodelado óseo⁵². El tratamiento sustitutivo muestra acciones beneficiosas, produciendo una estimulación del recambio, caracterizada por aumento de los marcadores de remodelado, que conlleva una pérdida inicial de DMO seguida de una ganancia significativa a partir de los 12-18 meses⁵³.

Hipercortisolismo

El exceso de corticoides debido al síndrome de Cushing o a la terapia corticoidea se asocia a una disminución de la actividad osteoblástica y a un incremento de la resorción ósea. Suele asociarse a un descenso de los marcadores bioquímicos de formación, como la osteocalcina sérica⁵⁴, y a un aumento de los índices de resorción⁵⁵.

APLICACIONES DEL USO DE LOS MARCADORES DE REMODELADO ÓSEO EN OTRAS AFECCIONES

Metástasis óseas

La medida de los marcadores de *turnover* óseo es una alternativa prometedora para la detección temprana de metástasis óseas, si bien está pendiente de validación. Se ha descrito una elevación de los marcadores de *turnover* óseo en pacientes con metástasis, tanto la bALP como los derivados del colágeno.

Artritis reumatoide

Se han detectado valores elevados de productos de degradación del colágeno en las fases activas de la enfermedad.

Enfermedad de Paget

Se produce un incremento del remodelado óseo, tanto de los fenómenos de formación como de resorción, que permanecen acoplados. Son útiles para valorar el grado de afección y actividad de la enfermedad, así como para determinar la respuesta a la terapia.

CONCLUSIONES

Las determinaciones de marcadores bioquímicos de remodelado óseo informan sobre las tasas de formación y resorción, por lo que constituyen herramientas esenciales en la investigación clínica y básica de procesos relacionados con el metabolismo óseo. Aunque estos marcadores no pueden cuantificar la masa ósea, tienen capacidad para predecir el riesgo de fractura y pueden ser útiles en la adopción de determinadas decisiones terapéuticas. La combinación apropiada de mediciones de DMO y marcadores de remodelado debe mejorar la eficiencia en la evaluación de los pacientes con trastornos del metabolismo óseo. No obstante, la amplia variabilidad en la sensibilidad y especificidad de los marcadores disponibles no permite establecer su preciso papel en la práctica clínica en el momento presente⁵⁵.

BIBLIOGRAFÍA

1. Calvo MS, Eyre DR, Gundberg CM. Molecular basis and clinical application of biological markers of bone turnover. *Endocr Rev* 1996;17:333-68.
2. Strewler GJ. Bone anatomy and remodeling. En: Greenspan FS, Strewler GJ, editors. *Basic and clinical endocrinology*. Stanford: Appleton & Lange, 1994; p. 290-5.
3. Eriksen EF. Normal and pathological remodeling of human trabecular bone: three dimensional reconstruction of the remodeling sequence in normals and in metabolic bone disease. *Endocr Rev* 1986;7:379-410.
4. Delmas PD, Garnero P. Utility of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. En: Marcus R, editor. *Osteoporosis*. San Diego: Academic Press, 1996; p. 1075-88.
5. Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover for the clinical assessment of metabolic bone disease. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1990;19:1-18.
6. Hill CS, Wolfert RL. The preparation of monoclonal antibodies

which react preferentially with human bone alkaline phosphatase and not liver alkaline phosphatase. *Clin Chim Acta* 1989;186:315-20.

7. Eastell R, Delmas PD, Hodgson SF, Eriksen EF, Mann KG, Riggs BL. Bone formation rate in older normal women: concurrent assessment with bone histomorphometry, calcium kinetics, and biochemical markers. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67:741-8.
8. Price PA, Williamson MK, Lothringer JW. Origin of vitamin K-dependent bone protein found in plasma and its clearance by kidney and bone. *J Biol Chem* 1981;256:12760-6.
9. Charles P, Poser JW, Mosekilde L, Jensen FT. Estimation of bone turnover evaluated by ⁴⁷Ca-kinetics. *J Clin Invest* 1985; 76:2254-8.
10. Brown J, Malaval L, Chapuy M, Delmas P, Edouard C, Meunier P. Serum bone GLA-protein: a specific marker for bone formation in postmenopausal osteoporosis. *Lancet* 1984;19: 1091-3.
11. Marie PJ, Sabbagh A, de Vernejoul MC, Lomri A. Osteocalcin and deoxyribonucleic acid synthesis in vitro and histomorphometric indices of bone formation in postmenopausal osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1989;69:272-9.
12. Vergnaud P, Garnero P, Meunier PJ, Bréart G, Kamihagi K, Delmas PD. Undercarboxylated osteocalcin measured with an specific immunoassay predicts hip fracture in elderly women: The EPIDOS study. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82:719-24.
13. Melkko J, Niemi S, Risteli J. Radioimmunoassay of the carboxyterminal propeptide of human type I procollagen. *Clin Chem* 1990;36:1328-32.
14. Ebeling PR, Peterson JM, Riggs BL. Utility of type procollagen propeptide assays for assessing abnormalities in metabolic bone diseases. *J Bone Miner Res* 1992;7:1243-50.
15. Eastell R, Robins SP, Colwell T, Assiri AMA, Riggs BL, Russell RGG. Evaluation of bone turnover in type I osteoporosis using biochemical markers specific for both bone formation and bone resorption. *Osteopor Int* 1993;3:255-60.
16. Bollerslev J, Marks SC Jr, Pockwinse S, Kassem M, Brixen K, Steiniche T, et al. Ultrastructural investigations of bone resorptive cells in two types of autosomal dominant osteopetrosis. *Bone* 1993;14:865-9.
17. Robins SP, Duncan A, Riggs BL. Direct measurement of free hydroxypridinium crosslinks of collagen in urine as new markers of bone resorption in osteoporosis. En: Christiansen C, Overgaard K, editors. *Osteoporosis*. Copenhagen: Osteopress, 1990; p. 465-8.
18. Eyre D. New biomarkers of bone resorption [editorial]. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;74:A470-C470.
19. Eyre DR, Koob TJ, Van Ness KP. Quantitation of hydroxypridinium crosslinks in collagen by high-performance liquid chromatography. *An Biochem* 1984;137:380-8.
20. Eastell R, Hampton L, Colwell A. Urinary collagen crosslinks are highly correlated with radio isotopic measurements of bone resorption. En: Christiansen C, Overgaard K, editors. *Proceedings of the third International Symposium on Osteoporosis*. Denmark: Osteopress, 1990; p. 469-70.
21. Uebelhart D, Gineyts EC, Chapuy MC, Delmas PD. Urinary excretion of pyridinium cross-links: a new marker of bone resorption in metabolic bone disease. *Bone Miner* 1990;8:87-96.
22. Taylor AK, Lueken SA, Libanati C, Baylink DJ. Biochemical markers of bone turnover for the clinical assessment of bone metabolism. *Rheum Dis Clin North Am* 1994;20:589-607.
23. De la Piedra C, Díaz Martín MA, Díaz Diego EM, Rapado A. Correlación entre el telopeptido carboxiterminal del colágeno tipo I y la densidad mineral ósea medida por DEXA en la osteoporosis postmenopáusica. *REEMO* 1992;1(Suppl B):30.
24. Jódar E, Muñoz-Torres M, Quesada M, Luna JD, Olea N, Escobar-Jiménez F. Nuevos marcadores de metabolismo mineral en pacientes hipertiroides: ¿son realmente útiles? *REEMO* 1995;4(Suppl A):18.

25. Garnero P, Gineyts E, Arbault P, Christiansen C, Delmas PD. Different effects of bisphosphonate and estrogen therapy on free and peptide-bound bone cross-links excretion. *J Bone Miner Res* 1995;10:641-9.
26. Miller PD, Baran DT, Bilezikian JP, Greenspan SL, Lindsay R, Riggs BL, et al. Practical clinical application of biochemical markers of bone turnover. *J Clin Densitometry* 1999;2:323-42.
27. Bettica P, Taylor AK, Talbot J, Moro L, Talamini R, Baylink DJ. Clinical performances of galactosyl hydroxylysine, pyridinoline, and deoxypyridinoline in postmenopausal osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:542-6.
28. Seibel MJ, Woitge H, Scheidt-Nave C, Leydig-Bruckner G, Duncan A, Nicol P, et al. Urinary hydroxypyridinium cross-links of collagen in population-based screening for overt vertebral osteoporosis: results of a pilot study. *J Bone Miner Res* 1994;9:1433-40.
29. Schneider DL, Barrett-Connor EL. Urinary N-telopeptide levels discriminate normal, osteopenic, and osteoporotic bone mineral density. *Arch Intern Med* 1997;157:1241-5.
30. McLaren AM, Hordon LD, Bird HA, Robins SP. Urinary excretion of pyridinium crosslinks of collagen in patients with osteoporosis and the effects of bone fracture. *Ann Rheum Dis* 1992; 51:648-51.
31. Cosman F, Nieves J, Wilkinson C, Schnering D, Shen V, Lindsay R. Bone density change and biochemical indices of skeletal turnover. *Calcif Tissue Int* 1996;58:236-43.
32. Bonde M, Qvist P, Fledelius C, Riis BJ, Christiansen C. Applications of an enzyme immunoassay for a new marker of bone resorption (crosslaps): Follow-up on hormone replacement therapy and osteoporosis risk assessment. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:864-8.
33. Chesnut CH III, Bell NH, Clark GS, Drinkwater BL, English SC, Johnson CC Jr, et al. Hormone replacement therapy in postmenopausal women: Urinary N-telopeptide of type I collagen monitors therapeutic effect and predicts response of bone mineral density. *Am J Med* 1997;102:29-37.
34. Ross PD, Knowlton W. Rapid bone loss is associated with increased levels of biochemical markers. *J Bone Miner Res* 1998;13:297-302.
35. Van Daele PLA, Seibel MJ, Burger H, Hofman A, Grobbee DE, van Leeuwen JP, et al. Case-control analysis of bone resorption markers, disability, and hip fracture risk: The Rotterdam Study. *BMJ* 1996;312:482-3.
36. Garnero P, Hausherr E, Chapuy MC, Marcelli C, Grandjean H, Muller C, et al. Markers of bone resorption predict hip fracture in elderly women: The EPIDOS prospective study. *J Bone Miner Res* 1996;11:1531-8.
37. Chesnut CHI, Bell NH, Clark GS, Drinkwater BL, English SC, Johnston CC, et al. Hormone replacement therapy in postmenopausal women: urinary N-telopeptide of type I collagen monitors therapeutic effect and predicts response of bone mineral density. *Am J Med* 1997;102:29-37.
38. Johansen JS, Riis BJ, Delmas PD, Christiansen C, Plasma BGP: an indicator of spontaneous bone loss and of the effect of oestrogen treatment in postmenopausal women. *Eur J Clin Invest* 1988;18:191-5.
39. 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;79:1693-700.
40. Fuleihan GE-H, Brown EM, Curtis K, Berger MJ, Berger BM, Gleason R, et al. Effect of sequential and daily continuous hormone replacement therapy on indexes of mineral metabolism. *Arch Intern Med* 1992; 152:1904-9.
41. Riggs BL, Melton LJ, 3rd, O'Fallon WM. Drug therapy for vertebral fractures in osteoporosis: evidence that decreases in bone turnover increases in bone mass both determine antifracture efficacy [review]. *Bone* 1996;18:S197-201.
42. Ross DS. Hyperthyroidism, thyroid hormone therapy, and bone. *Thyroid* 1994;4:319-26.
43. Jódar Gimeno E, Muñoz Torres M, Escobar Jiménez F, Quesada Charneco M, Luna del Castillo JD, Olea N. Identification of metabolic bone disease in patients with endogenous hyperthyroidism: role of biological markers of bone turnover. *Calcif Tissue Int* 1997;61:370-6.
44. Jódar E, Muñoz-Torres M, Escobar-Jiménez F, Quesada M, Luna JD, Olea N. Antiresorptive therapy in hyperthyroid patients: longitudinal changes in bone and mineral metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:1989-94.
45. Deftos LJ. Markers of bone turnover in primary hyperparathyroidism. En: Bilezikian JP, editor. *The parathyroids*. New York: Raven Press, 1994; p. 485-92.
46. Krakauer JC, McKenna MJ, Buderer NF, Rao DS, Whitehouse FW, Parfitt AM. Bone loss and bone turnover in diabetes. *Diabetes* 1995;44:775-82.
47. Olmos JM, Pérez-Castrillón JL, García MT, Garrido JC, Amado JA, González Macías J. Bone densitometry and biochemical bone remodelling markers in type 1 diabetes mellitus. *Bone Miner* 1994;26:1-8.
48. Muñoz-Torres M, Díaz Pérez de la Madrid J, Escobar-Jiménez F. Osteocalcin levels in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Br J Rheumatol* 1990;29(Suppl 1).
49. Pedrazzoni M, Ciotti G, Pioli G, Girasole G, Davoli L, Palummeri E, et al. Osteocalcin levels in diabetic subjects. *Calcif Tissue Int* 1989;45:331-6.
50. Muñoz-Torres M, Jódar E, Escobar-Jiménez F, López-Ibarra P, Luna JD. Bone mineral density measured by dual X-ray absorptiometry in Spanish patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Calcif Tissue Int* 1996;58:316-9.
51. Selby PL, Shearing PA, Marshall SM. Hydroxyproline excretion is increased in diabetes mellitus and related to the presence of microalbuminuria. *Diabet Med* 1995;12:240-3.
52. Carroll PV, Christ ER, Bengtsson BA, Carlsson L, Christiansen JS, Clemmons D, et al. Growth hormone deficiency in adulthood and the effects of growth hormone replacement: a review. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:382-95.
53. Torres-Vela E, Peñafiel J, Muñoz-Torres M, Luna V, Mezquita P, Escobar-Jiménez F. Evolución de la masa ósea en adultos con deficiencia de hormona de crecimiento en tratamiento sustitutivo. *REEMO* 1998;7(Supl A):34.
53. Nielsen HK, Thomsen K, Eriksen EF, Charles P, Storm T, Moskilde L. The effects of high-dose glucocorticoid administration on serum bone gamma carboxyglutamic acid-containing protein, serum alkaline phosphatase and vitamin D metabolites in normal subjects. *Bone Miner* 1988;4:105-13.
54. Ali NJ, Capewell S, Ward MJ. Bone turnover during high dose inhaled corticosteroid treatment. *Thorax* 1991;46:160-4.
55. Muñoz Torres M, Mezquita Raya P, López Rodríguez F. Utilidad de los marcadores de remodelado óseo. *Endocrinología* 2000;47:267-76.