

396 A. de Toro
J. L. Dueñas
E. de Jaime
R. de Toro

Departamento de Obstetricia y Ginecología
Hospital Universitario Virgen Macarena
Sevilla

Correspondencia:
Dr. A. de Toro Salas
Dr. Pascual, 6
11650 Villamartín (Cádiz)
E-mail: a.detoro@wanadoo.es

Fecha de recepción: 26/4/00
Aceptado para publicación: 20/6/00

Niveles de PTH intacta y de los marcadores bioquímicos de remodelamiento óseo durante la gestación: estudio longitudinal

Intact PTH and biochemical remodeling bone markers levels during normal pregnancy: a longitudinal study

De Toro A, Dueñas JL, De Jaime E, De Toro R. Niveles de PTH intacta y de los marcadores bioquímicos de remodelamiento óseo durante la gestación: estudio longitudinal. *Prog Obstet Ginecol* 2000;43:396-402.

RESUMEN

Objetivo: Analizar los niveles plasmáticos de la PTH, la osteocalcina, la fosfatasa alcalina y de las piridinolinas urinarias el cociente piridinolinas/creatinina con el fin de evaluar indirectamente el proceso de remodelamiento óseo durante la gestación normal.

Pacientes y métodos: Se estudiaron los niveles séricos de la PTH, la osteocalcina, la fosfatasa alcalina y de las piridinolinas urinarias y del cociente piridinolinas/creatinina con una periodicidad mensual, durante el embarazo, en 38 gestantes normales.

Resultados: La PTH presenta niveles sensiblemente descendentes desde el segundo mes de la gestación, con una estabilización posterior y un ligero ascenso en el último trimestre. La fosfatasa alcalina total manifiesta una cierta estabilidad durante el primer trimestre de la gestación y un ascenso paulatino durante el segundo, que se hace brusco a partir del sexto mes, triplicando sus valores iniciales. La osteocalcina desciende progresivamente hasta el

quinto mes, asciende hasta el séptimo y experimenta un rápido descenso antes del parto. Los niveles de las piridinolinas y del cociente piridinolinas/creatinina son relativamente estables en la gestación hasta el último trimestre, momento en el que ascienden de forma importante.

Conclusiones: El remodelamiento óseo es un proceso activo durante la gestación que parece inclinarse hacia la reabsorción en el tercer trimestre, probablemente, en relación con los mayores requerimientos fetales de calcio.

PALABRAS CLAVE

PTH; Osteocalcina; Fosfatasa alcalina; Piridinolinas; Gestación.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the variations of serum intact PTH, osteocalcin and total alkaline phosphatase levels and urinary pyridinolines levels

and pyridinolines/creatinine ratio, in order to make an indirect assessment of bone remodeling processes, during normal pregnancy.

Subjects and methods: We assessed serum intact PTH, osteocalcin and total alkaline phosphatase levels and urinary pyridinolines levels and pyridinolines/creatinine ratio, monthly during pregnancy in 38 normal pregnant women.

Results: PTH levels slightly decrease until mid-pregnancy, with a later stabilisation and increase during the last trimester. Alkaline phosphatase levels present no variations during the first trimester, an increase during the second one and levels three times higher during the third trimester. Osteocalcin levels are declining until the second trimester and increasing during the third one, presenting a quick decrease before delivery. Pyridinolines and pyridinolines/creatinine ratio show similar no varying trends with a sudden increase during the third trimester.

Conclusions: Bone remodeling seems to be such an active process during pregnancy that trends to reabsorption in the last trimester, probably related to the major fetal requirements.

KEY WORDS

PTH; BGP; Alkaline phosphatase; Pyridinolines; pregnancy.

INTRODUCCIÓN

El esfuerzo metabólico que supone la gestación afecta también al sistema esquelético. El feto es hipercalcémico respecto de la madre, a expensas de la obtención del catión a partir del suero de la gestante^(1,2). Para mantener la calcemia la madre extrae de la ingesta la mayor parte del calcio⁽³⁾, disminuye su excreción y recurre a sus depósitos en el hueso. Los niveles de calcio total presentan una tendencia descendente a lo largo de la gestación, que acompaña a los niveles séricos de albúmina, al contrario de los de calcio iónico, estables durante todo el período⁽⁴⁻⁶⁾. Esta estabilidad se consigue gracias a una gran cantidad de hormonas, entre las que destaca la PTH, que colabora de manera indirecta con la vitamina D^(7,8) en la absorción intestinal del calcio y di-

rectamente en el hueso y el riñón, aumentando la calcemia, dentro de un ambiente hiperestrogénico desfavorable para la reabsorción ósea. Para compensar la teórica hipocalcemia se ha postulado^(2,9,10), clásicamente, la hipótesis del hiperparatiroidismo fisiológico, que presenta niveles ascendentes de la PTH en la gestación. Con la aparición de los nuevos métodos de análisis de la PTH intacta (PTHi), que desecha los fragmentos del metabolismo de la hormona, podemos discutir esta hipótesis, con niveles estables de la hormona durante todo el embarazo^(12,13). A pesar de esta aparente inactividad (Ca^{++} y PTH estables), el metabolismo óseo es primordial para el mantenimiento de la homeostasis del calcio durante la gestación. La aparición de nuevos y fiables marcadores bioquímicos de remodelamiento óseo permite un estudio más exhaustivo de este metabolismo. La fosfatasa alcalina total es un marcador de formación ósea poco sensible y específico, pero el uso de su isoenzima ósea es complicado y la correlación entre ambas es buena, sobre todo en el tercer trimestre⁽¹⁴⁾. Se han documentado^(15,16) niveles elevados de esta enzima en la gestación, sobre todo en el tercer trimestre, así como en patologías óseas médicas, traduciendo una elevada tasa de formación ósea. La osteocalcina (BGP) es también un marcador de formación ósea, pero más sensible y específica que la anterior, constituyendo un marcador bioquímico muy fiable⁽¹⁷⁾. Algunos estudios longitudinales^(18,19) presentan descensos de esta proteína hasta el segundo trimestre, con una leve recuperación en el tercer trimestre. Otros, como Gallacher⁽²⁰⁾, no encuentran variaciones significativas durante la gestación.

Las piridinolinas (PIR), enlaces irreductibles del colágeno excretados en la orina, constituyen un marcador muy fiable de reabsorción ósea, siendo muy específicas del metabolismo óseo^(21,22). Existen pocos estudios⁽²³⁾ sobre estos marcadores en la gestación. Manabe et al⁽²⁴⁾ presentan ascensos paulatinos de estos enlaces en orina hasta el parto. Con objeto de evitar las variaciones del flujo plasmático renal se utiliza la corrección con respecto a la creatinina urinaria (cociente piridinolinas/creatinina, PIR/CRE), cuya excreción presenta buena correlación con la de las piridinolinas.

El objetivo final de este estudio ha sido analizar los niveles plasmáticos de la PTH, la osteocalcina, la fosfatasa alcalina, las piridinolinas urinarias y calcu-

398 lar el cociente piridinolinas/creatinina con el fin de evaluar indirectamente el proceso de remodelamiento óseo durante la gestación normal.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio, realizado de manera prospectiva y descriptiva, incluye a 38 gestantes normales que acudieron al Departamento de Obstetricia y Ginecología del Hospital Universitario Virgen Macarena de Sevilla para el control de su embarazo antes de las 12 semanas. El período de reclutamiento comenzó en noviembre de 1995, y el seguimiento finalizó en abril de 1998. Se excluyeron de la muestra a las mujeres que presentaban alguna patología durante el embarazo actual o previa a la gestación, con una edad gestacional superior a las 12 semanas y a aquellas que habían empleado anticonceptivos orales en los 6 meses previos al embarazo. Los controles se realizaron con periodicidad mensual, desde la inclusión en el estudio hasta el último mes de la gestación. Todas las mujeres autorizaron, mediante consentimiento informado, su inclusión en el estudio. En cada control, además de la vigilancia clínica materna, se determinaron los niveles plasmáticos de la PTH, de la osteocalcina, de la fosfatasa alcalina total y en orina de las piridinolinas y del cociente piridinolinas/creatinina.

La PTH en el suero se analizó en el Immulite Automated Analyzer® mediante quimioluminiscencia tras un enzima inmunoensayo (Immulite® Intact PTH) en suero y plasma con EDTA. El sistema utiliza anticuerpos policlonales anti-PTH purificados en una fase sólida de polistireno. La osteocalcina sérica se analizó mediante inmunoensayo (Novocalcin®), que detecta la osteocalcina intacta mediante anticuerpos monoclonales antiosteocalcina de ratón. La fosfatasa alcalina se analizó dentro de la batería de la bioquímica general en el BM/Hitachi 917 mediante un test con p-nitrofenilfosfato y agua. Las D-piridinolinas en orina se analizaron en el Immulite Automated Analyzer® mediante quimioluminiscencia tras un enzima inmunoensayo. Los resultados de las D-piridinolinas obtenidos con el Immulite® fueron normalizados para la concentración urinaria de creatinina con objeto de corregir las variaciones de flujo urinario.

La edad media de las gestantes en el momento de su inclusión en el estudio fue de $28,947 \pm 4.033$ años, el número medio de gestaciones de $1,684 \pm 0,739$

(rango de uno a tres embarazos) y la edad gestacional en el parto fue de $280,132 \pm 10,052$ días.

Los datos se almacenaron para su estudio estadístico en una base de datos confeccionada en el programa DBaseV y se analizaron con los programas Epi-Info y SPSS-PC+. Se estableció el nivel de significatividad en el 95% ($p < 0,05$).

RESULTADOS

El valor medio de la fosfatasa alcalina (PALC) fue de $170,189 \pm 84,129$ U/l. Esta enzima presenta una evolución mensual claramente ascendente hasta el último mes del embarazo. Los valores medios séricos del tercer trimestre triplican a los del primero. Este ascenso denota una gran formación ósea durante la gestación de manera global y durante el tercer trimestre de manera particular. Existen diferencias estadísticamente significativas entre los tres trimestres del embarazo ($p < 0,05$ entre el primero y quinto, cuarto y octavo y quinto y octavo controles). El valor medio de la fosfatasa alcalina al comienzo de la gestación fue de $109 \pm 0,61$ U/l, encontrándose entre los rangos de normalidad para la población general al igual que los del segundo trimestre, pero con diferencias significativas entre ambos ($p < 0,05$). El valor medio en el tercer trimestre se encuentra, por encima de los rangos de normalidad para la población general (Fig. 1 y tabla 1).

El valor medio de la PTH durante la gestación fue de $33,527 \pm 24,887$ pg/ml. Esta hormona presenta una evolución sin apenas cambios durante el emba-

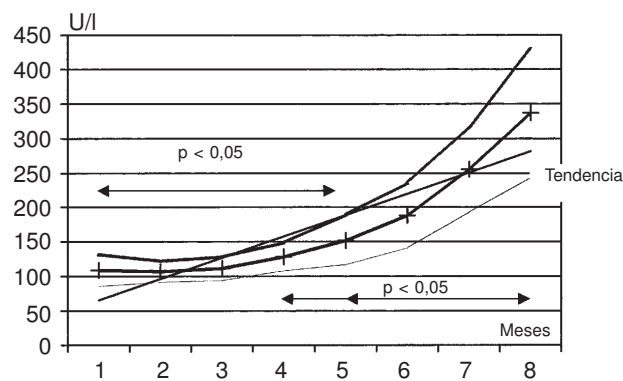


Figura 1. Evolución de la fosfatasa alcalina sérica durante la gestación.

Tabla 1 Niveles séricos de PTH, fosfatasa alcalina, osteocalcina, piridinolinas urinarias y del cociente piridinolinas/creatinina durante la gestación normal (n = 38)

	PTH pg/ml (x ± sd)	Fosfatasa alcalina U/l (x ± sd)	BGP ng/ml (x ± sd)	PIR nM (x ± sd)	Cociente PIR/CRE nM/mM (x ± sd)
Embarazo	33,527 ± 24,887	170,189 ± 4,129	6,884 ± 5,557	80,993 ± 62,907	10,348 ± 6,933
Primer mes	24,8 ± 20,962	109,061 ± 22,818	7,93 ± 6,398	81,24 ± 61,406	8,3 ± 5,169
Segundo mes	39,887 ± 36,123	106,778 ± 15,187	6,997 ± 4,644	69,293 ± 60,291	7,443 ± 4,391
Tercer mes	39,446 ± 26,234	111,526 ± 17,004	5,455 ± 2,087	69,6 ± 49,842	7,393 ± 2,797
Cuarto mes	36,971 ± 38,359	128,45 ± 20,091	6,094 ± 2,795	79,169 ± 61,595	11,979 ± 10,671
Quinto mes	33,476 ± 18,195	151,733 ± 37,519	4,919 ± 1,98	71,67 ± 59,605	8,709 ± 4,339
Sexto mes	30,888 ± 15,236	188,261 ± 47,508	6,365 ± 3,921	72,062 ± 50,985	9,926 ± 4,438
Séptimo mes	32,2 ± 14,051	255,259 ± 62,228	8,73 ± 12,481	110,12 ± 81,559	15,926 ± 7,058
Octavo mes	32,929 ± 19,407	336,727 ± 92,988	5,74 ± 2,162	107,486 ± 68,617	15,605 ± 8,811
Primer trimestre	34,779 ± 29,235	110,004 ± 18,95	6,372 ± 3,543	73,464 ± 57,194	7,712 ± 4,209
Segundo trimestre	33,712 ± 25,568	156,915 ± 44,08	5,735 ± 3,024	73,229 ± 57,065	10,123 ± 7,083
Tercer trimestre	32,537 ± 16,568	292,896 ± 87,52	7,314 ± 9,244	108,937 ± 75,264	15,592 ± 7,833

PTH: paratormona. BGP: osteocalcina. PIR: piridinolinas. PIR/CRE: piridinolinas/creatinina.

razo, de manera que aunque existen oscilaciones y amplios rangos en cada control, la tendencia final se mantiene estable, sin ascensos ni descensos. Se puede constatar un ascenso en el primer trimestre (segundo control), con valores plasmáticos casi una vez y media más elevados que los del primer control, que presenta el valor más bajo. A partir de este momento van descendiendo los niveles plasmáticos hasta el sexto mes. Durante los dos controles restantes los valores se mantienen o ascienden ligeramente. En todo momento los valores plasmáticos de la PTH se mantienen dentro de los rangos de normalidad para la población general. Si consideramos como basal el valor del primer mes en el embarazo, el valor del segundo mes presenta un ascenso estadísticamente significativo sobre el primero ($p < 0,05$) debido, probablemente, a la respuesta que se produce en la glándula paratiroidea frente al descenso en los valores de calcio durante el primer trimestre. Al estabilizarse estos valores, la PTH plasmática descende, existiendo diferencias significativas entre el segundo y el cuarto mes y entre el cuarto y el quinto ($p < 0,05$) (Fig. 2).

El valor medio de la osteocalcina en la gestación fue de $6,484 \pm 5,557$ ng/ml. Este parámetro no presenta cambios importantes en su evolución a lo largo del embarazo. Sin embargo, existe una gran dispersión de los datos, sobre todo al final del mismo. Durante el primer trimestre, y hasta el quinto mes, existe una tendencia descendente, alcanzado en este momento el valor más bajo del embarazo. Observamos diferencias

estadísticamente significativas entre el primer control y los controles en el cuarto ($p < 0,01$), quinto ($p < 0,05$) y sexto ($p < 0,01$) meses. Las diferencias entre el primer (segundo control) y tercer trimestres (séptimo y octavo controles) también son estadísticamente significativas ($p < 0,05$), alcanzando al séptimo mes el valor más alto en la gestación, aunque con una gran dispersión. En el punto de inflexión dentro del segundo trimestre (entre el cuarto y sexto control) existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) (Fig. 3).

El valor medio de las piridinolinas en la gestación fue de $80,993 \pm 62,907$ nM. Presentan una tendencia,

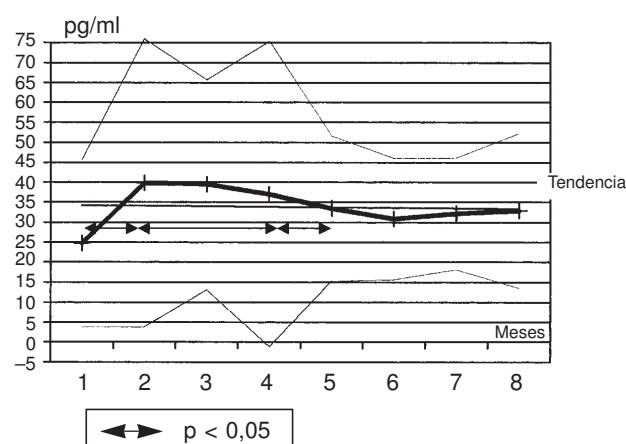


Figura 2. Evolución de la PTH intacta sérica durante la gestación.

400

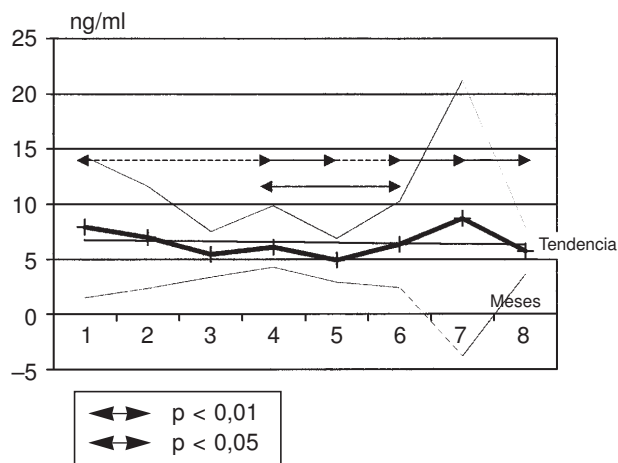


Figura 3. Evolución de la osteocalcina durante la gestación.

progresivamente ascendente, hasta el séptimo mes de la gestación con valores muy dispersos entre sí. Aunque esta tendencia es ascendente, los valores medios permanecen constantes hasta el séptimo y octavo meses, momento en el que ascienden de forma brusca. Desde los valores de partida en el primer mes hasta el segundo trimestre se produce un descenso estadísticamente significativo ($p < 0,05$) con el cuarto control. A partir de este momento la tendencia se mantiene constante hasta llegar al séptimo mes, en el que asciende bruscamente, aunque las diferencias no llegan a ser significativas. En el último mes del parto las cifras de piridinolinas en orina desciende ligeramente (Fig. 4).

La media de los valores del cociente piridinolinas/creatinina (PIR/C) durante la gestación fue de

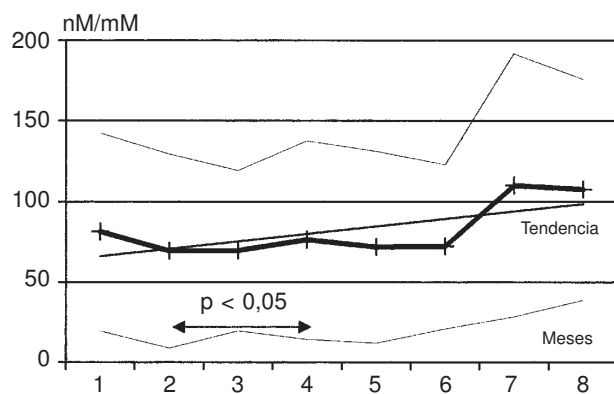


Figura 4. Evolución de las piridinolinas durante la gestación.

$10,348 \pm 6,933$ nM/mM. Este cociente presenta una tendencia ascendente que al final del embarazo duplica a los valores del primer trimestre. Las cifras del cociente correspondientes al cuarto y quinto meses que representan el segundo trimestre presentan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) con los valores del quinto y el sexto controles, respectivamente. Aunque las diferencias entre el primero y el segundo y entre el segundo trimestre y el tercero no son significativas, existe un ascenso de los valores medios del cociente, que alcanza su máximo al séptimo mes y se mantiene en el último control antes del parto (Fig. 5).

DISCUSIÓN

Los autores^(2,9,10) que promulgaban la situación de «hiperparatiroidismo fisiológico gestacional» tenían a su favor la existencia de la hipocalcemia relativa y las determinaciones de la PTH mediante la técnica de RIA, que determina tanto la PTH intacta como los fragmentos residuales del metabolismo de esta hormona. Una vez que conocemos la existencia de niveles invariables de calcio iónico y de los métodos de determinación de la PTHi mediante el Immulite® podemos rechazar actualmente, al igual que otros autores^(11,12,24), esta hipótesis, actualmente más un efecto de laboratorio que una situación real.

En los resultados obtenidos en nuestra población hemos visto cómo los valores de la PALC sérica se triplican en el tercer trimestre respecto a los del primero en la gestación. Este ascenso es paulatino, comenzando con una mínima elevación durante los tres pri-

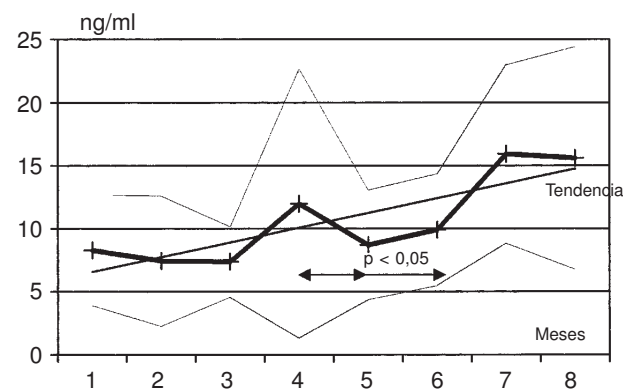


Figura 5. Evolución del cociente piridinolinas/creatinina en orina.

meros controles y finalizando con un incremento brusco en el tercer trimestre. Podemos interpretar estos resultados como la representación bioquímica de una formación ósea constante en la gestación, con un gran impulso en el tercer trimestre, momento en el que más calcio se aporta desde la madre hacia el feto. Los valores trimestrales de la PALC se correlacionan positivamente entre sí, pero no con los de la BGP, aunque ambos se presentan como marcadores de formación ósea. Probablemente este hecho sea debido a la dispersión entre los valores mensuales encontrada para las variables estudiadas y al hecho de que la correlación comentada sea más significativa entre la fracción B-PALC y la BGP que con la T-PALC. De todas las maneras las curvas y tendencias presentadas para ambos elementos durante el tercer trimestre de la gestación sobre todo, son claramente paralelas y muy ascendentes. En general, los resultados obtenidos en nuestro estudio son similares a los que presentan otros autores^(13,15,16) tanto para la B-PALC en la gestación como para la T-PALC en el seguimiento de algunas patologías médicas.

En segundo lugar, y como marcador bioquímico de formación ósea, hemos estudiado la BGP, proteína sintetizada por los osteoblastos y odontoblastos, de la que una fracción (30%) se libera al torrente sanguíneo, siendo el marcador sérico de formación ósea más específico y utilizado^(17,25). En nuestro estudio presenta una doble tendencia durante la gestación. En el primer trimestre y hasta el quinto mes de gestación, con un carácter descendente que puede representar una inexistencia de formación ósea en estos períodos o un incremento del catabolismo de la proteína. Estos resultados concuerdan con los presentados por Seki et al⁽²⁶⁾, Cole et al⁽¹⁹⁾ y Martínez et al⁽¹⁸⁾, quienes describen de manera longitudinal en la gestación un descenso de la BGP que culmina en el segundo trimestre. A partir de este momento cambia la tendencia de la curva de este parámetro, presentando un incremento estadísticamente significativo que engloba al tercer trimestre, momento en el que se produce casi todo el transvase de calcio hacia el feto. En un estudio longitudinal presentado por Gallacher⁽²⁰⁾ no se encuentran variaciones significativas para la osteocalcina a lo largo de la gestación.

En nuestro estudio las piridinolinas presentan una tendencia progresivamente ascendente a lo largo de los controles gestacionales, con valores medios muy

parecidos hasta el séptimo mes del embarazo. En este momento, inmerso en el tercer trimestre, se produce un brusco ascenso de estos metabolitos del colágeno en la orina, significando un, más que probable, incremento de la reabsorción ósea. Este hecho concuerda con la hipótesis de que es en el tercer trimestre de la gestación cuando más calcio se aporta al feto para su formación y, por tanto, cuando más esfuerzo metabólico óseo tiene que realizar la madre. La elevación de la excreción de las D-PIR en el tercer trimestre también es comunicada por otros autores^(13,20,23).

La evolución que presenta el cociente PIR/C es muy parecida a la de las D-PIR, produciéndose también el ascenso brusco antes descrito en el tercer trimestre, iniciándose en el sexto mes de la gestación para luego mantener los valores hasta el parto. El incremento de la excreción de las D-piridinolinas durante el embarazo y su acentuación en el tercer trimestre no es fruto del aumento del flujo plasmático renal, sino de un incremento del aporte de calcio a la sangre materna a fin de generar una mayor oferta al feto.

En conjunto, y a pesar de la dispersión de los valores encontrados, podemos decir que la evolución tanto de las D-PIR como del cociente PIR/C representa una reabsorción ósea incrementada durante todo el embarazo, que se acelera en el tercer trimestre y que no depende del flujo renal, incrementado en la gestación. Este hecho, en caso de ser aislado, llevaría a la madre a una pérdida ósea al final del embarazo que le sería difícil de compensar.

El marcador de remodelamiento óseo más específico para la formación de hueso es la osteocalcina. Este marcador debería compensar el ascenso de su homólogo para la reabsorción, cosa que no ocurre. Es más, existe un descenso de la osteocalcina en el segundo trimestre. En el tercer trimestre sí podemos encontrar un ligero ascenso que podría relacionarse con el impulso que presentan las D-PIR. Atendiendo exclusivamente a estos dos marcadores de remodelamiento, la tendencia del *turnover* óseo sería claramente reabsortiva a lo largo de los dos primeros trimestres del embarazo, o al menos estable, finalizando en el tercer trimestre con una pérdida ósea franca que intentan compensar los osteoblastos produciendo un ascenso discreto de la BGP. Sin embargo, si comparamos las curvas de evolución de las D-PIR y la PALC nos encontramos que durante los

402 dos primeros trimestres existiría un balance reabsorptivo positivo, con una curva ascendente para ambos marcadores, pero más marcada en el caso de las piridinolas. En el tercer trimestre, por el contrario, se observa un paralelismo claro entre ambos marcadores que nos hablaría a favor de un acoplamiento del remodelamiento óseo. La T-PALC es menos especí-

fica que la BGP y que las D-PIR para el análisis óseo, pero nos ofrece, de manera clara, un sentido del *turnover*. Analizando aisladamente el comportamiento de la T-PALC y de las D-PIR podríamos hablar de un acoplamiento en el remodelamiento óseo. Probablemente éste sea el resultado final en la gestación, aunque tras un intenso metabolismo.

BIBLIOGRAFÍA

- 1 Siddharth G, Kamath IK, Kelley AF, Smith F, Smith CH. Transport and binding in calcium uptake by microvillous membrane of human placenta. *Am J Physiol* 1992;262:C789-94.
- 2 Pitkin RM. Calcium metabolism in pregnancy and the perinatal period: a review. *Am J Obstet Gynecol* 1985;151:99-109.
- 3 Halloran BP, DeLuca HF. Calcium transport in small intestine during pregnancy and lactation. *Am J Physiol* 1980;239:E64-8.
- 4 De Toro Salas A, Dueñas Díez JL, López Millán JM, De Jaime, E. Niveles de calcio total durante la gestación, el parto y el puerperio normales: estudio longitudinal. *Prog Obstet Ginecol* 1999; 42:703-8.
- 5 Reitz RD, Daane TA, Woods JR, Weinstein RL. Calcium, magnesium, phosphorus and parathyroid hormone interrelationships in pregnancy and newborn infants. *Obstet Gynaecol* 1977;50:701-5.
- 6 Tan CM, Raman A, Sinnathayay TA. Serum ionic calcium levels during pregnancy. *J Obstet Gynaecol Commonw* 1972;79:694-7.
- 7 Seely EW, Graves SW, Weldon DK, DeMaggio DM, Brown EM. A prospective study of calciotropic hormones in pregnancy and postpartum: reciprocal changes in serum intact parathyroid hormone and 1,25 dihydroxyvitamin D. *Am J Obstet Gynecol* 1997;176:214-7.
- 8 Ardawi MS, BA'Aqueel HS, Nasrat HA. Calcium regulating hormones and parathyroid hormone-related peptide in normal human pregnancy and postpartum: a longitudinal study. *Eur J Endocrinol* 1997;137:402-49.
- 9 Pitkin RM, Gebhardt MP. Serum calcium concentrations in human pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1977;127:775-8.
- 10 Drake TS, Kaplan RA, Lewis TA. The physiologic hyperparathyroidism of pregnancy. *Obstet Gynecol* 1978;746-9.
- 11 Whitehead M, Lane G, Young O. Interrelationships of calcium regulating hormones during normal pregnancy. *Br Med J* 1981;3:10-2.
- 12 Gillette M, Insogna KL, Lewis AM, Bryan DJ. Influence of pregnancy on immunoreactive parathyroid hormone levels. *Calcif Tissue Int* 1982;34:9-12.
- 13 Cross NA, Hillman LS, Allen SH, Krause GF, Vieira EN. Calcium homeostasis and bone metabolism during pregnancy, lactation and postweaning: a longitudinal study. *Am J Clin Nutr* 1995;61:514-23.
- 14 Okesina AB, Donaldson D, Lascelles PT, Morris P. Effect of gestational age on levels of serum alkaline phosphatase isoenzymes in healthy pregnant women. *Int J Gynaecol Obstet* 1995;48:25-9.
- 15 Urena P, De Vernejoul MC, Ang KS, Ferreira A, Hruby M. Plasma total versus bone alkaline phosphatase as markers of bone turnover in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 1996;7:506-12.
- 16 Jarava C, Palma A, Salgueira M, Armas JR. Bone alkaline phosphatase isoenzyme in renal osteodystrophy. *Nephrol Dial Transplant* 1996;11(suppl 3):43-6.
- 17 Houben R, Vermeer C, Knapen MH, Soute BA. Strategies for developing human osteocalcin standards: a critical evaluation. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 1997;227:100-4.
- 18 Martínez ME, De Pedro C, Catalan P, Salinas M, Balaguer G, Ordás J. Levels of osteocalcin in normal pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 1985;153:708-9.
- 19 Cole DEC, Gundberg CM, Stirk IJ, Atkinson SA, Hanley DA, Ayer LM, et al. Changing osteocalcin concentrations during pregnancy and lactation: implications for maternal mineral metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 1987;65:290-3.
- 20 Gallacher SJ, Fraser WD, Owens OJ, Dryburgh FJ, Logue FC, Jenkins A, et al. Changes in calciotropic hormones and biochemical markers of bone turnover in normal human pregnancy. *Eur J Endocrinol* 1994;131:369-74.
- 21 Eyre DR, Koob TJ, Ness KP. Quantitation of hydroxyproline crosslinks in collagen by high-performance liquid chromatography. *Ann Clin Biochem* 1984;137:380-8.
- 22 Eyre DR. Collagen crosslinks amino-acids. *Methods in enzymology* 1987;144:115-39.
- 23 Zhou LS, Zhang GF, Zheng MC. Bone metabolism in pregnant women. *Chung Hua Fu Chan Ko Tsa Chih* 1994;29:157-8.
- 24 Manabe M, Saito Y, Sagara M, Echizenya N, Tandoh T, Kagiya A. Changes in bone mineral content and bone metabolism during pregnancy and puerperium. *Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi* 1996;48:339-404.
- 25 Riis BJ. Biochemical markers. A new approach for identifying those at risk of osteoporosis. *Bailliere's Clinical Obstetrics and Gynaecology* 1991;5:831-5.
- 26 Seki K, Makimura N, Mitsui C, Hirata J, Nagata I. Calcium regulating hormones and osteocalcin levels during pregnancy: a longitudinal study. *Am J Obstet Gynecol* 1991;164:1248-52.