
MONOGRAFÍA

Utilidad de los marcadores de remodelado óseo teniendo en cuenta el valor de referencia para el cambio

Clinical Utility of Bone Remodeling Markers Taking Into Account the Reference Value Change

Elormendi C¹, Gómez Echeverría G¹, Gregorio N¹, Jimenez Sanchez S¹, Lafuente S¹,
Martínez M¹, Recofsky L¹, Riobó R¹, Otero P², Ruibal G³

Alumnos III Curso de Especialista en Bioquímica Endocrinológica¹ Tutora III Curso de Especialista en Bioquímica Endocrinológica², Directora III Curso de Especialista en Bioquímica Endocrinológica, SAEM³

RESUMEN

La Modelación y el Remodelado de hueso son llevados a cabo a través del proceso de Recambio Óseo en sitios específicos llamados Unidades de Remodelación Ósea (URO).

Este proceso puede evaluarse a través de marcadores bioquímicos de **Formación** y de **Resorción** que reflejan cambios globales del metabolismo esquelético. Estos marcadores de remodelado óseo son utilizados para investigación de enfermedades óseo-metabólicas, porque proveen información dinámica del metabolismo del hueso y pueden ser cuantificados en suero o en orina. La variación de estos marcadores se deben principalmente a variables preanalíticas, analíticas y biológicas y debe interpretarse teniendo en cuenta el Valor de Referencia para el Cambio significativo (VRC), que resulta de un cálculo en el que intervienen la variabilidad biológica (VB) del analito y el error aleatorio del método utilizado en el laboratorio. **Rev Argent Endocrinol Metab 52:198-203, 2015**

Palabras clave: Valor de referencia para el cambio, delta check, marcadores de formación, marcadores de resorción, enfermedades óseas

ABSTRACT

The Modeling and Remodeling processes are conducted through the process of replacement bone at specific sites called Units Bone Remodeling (URO). These can be evaluated by biochemical markers of formation and resorption that reflect changes in skeletal metabolism. These markers of bone turnover are used for research óseo-metabolic diseases because they provide dynamic information of bone metabolism and can be quantified in serum or urine. The variation of these markers is mainly due to preanalytical, analytical and biological variables and should be interpreted taking into account the Reference Value Change (VRC), which results from a calculation in which the biological variability (VB) of the analyte and the random error of the method used in the laboratory are involved. **Rev Argent Endocrinol Metab 52:198-203, 2015**

Key words: bone markers, delta check, formation markers, resorption markers, metabolic bone diseases.

OBJETIVO

Determinar la utilidad de los marcadores bioquímicos de remodelado óseo más utilizados en la práctica del laboratorio teniendo en cuenta el valor de referencia para el cambio significativo.

INTRODUCCIÓN

Durante el período de crecimiento y desarrollo, el esqueleto es esculpido hasta alcanzar su tamaño y forma removiendo tejido óseo de ciertos sitios y depositándolos en otros, este proceso es llamado

modelación ósea (MO). La regeneración continua mediante reemplazo periódico de hueso viejo por hueso nuevo, es llamado remodelación ósea (RO). MO y RO son llevadas a cabo a través del proceso de Recambio óseo. Dicho recambio ocurre en sitios específicos llamados Unidades de Remodelación Ósea (URO). En el esqueleto existen millones de URO que pueden evaluarse a través de marcadores bioquímicos de **Formación** y de **Resorción**, que reflejan cambios globales del metabolismo esquelético y que, además, están influenciados por patologías hepatoiliar o renal. Dentro de las ventajas que presentan estos marcadores es la de poder medirse por métodos no invasivos, de relativo bajo costo y que pueden repetirse en un mismo paciente. Los marcadores de remodelado óseo son herramientas extremadamente valiosas en la investigación de las enfermedades óseo-metabólicas, porque proveen información dinámica que no es proporcionada por una medición de la densidad mineral ósea o histomorfometría ósea⁽¹⁾. La apropiada interpretación de los marcadores bioquímicos debe considerar todas las fuentes de variabilidad de los mismos: variables preanalíticas, analíticas y biológicas^(2,3).

Los cambios en resultados sucesivos se conocen como Valor de Referencia de Cambio (VRC), que resulta de un cálculo en el que intervienen la variabilidad biológica (VB) del analito y el error aleatorio del método utilizado en el laboratorio. El VCR indica cuanto debería modificarse un analito para poder ser interpretado como un cambio en el estado del paciente. Dicho VCR ha mostrado ser una herramienta altamente eficaz en la interpretación de la significación clínica de los cambios en los resultados bioquímicos de un individuo⁽⁴⁻⁶⁾.

MARCADORES BIOQUÍMICOS DE REMODELAMIENTO ÓSEO

Estos marcadores son productos secretados por la actividad de las células óseas y posteriormente liberados al torrente sanguíneo. Aquellos marcadores provenientes de la actividad de los osteoblastos son denominados “marcadores de formación” y todos ellos pueden ser evaluados en sangre. Los provenientes de la actividad de los osteoclastos son los denominados “marcadores de resorción” y pueden determinarse tanto en suero como en orina⁽⁷⁻⁹⁾.

Marcadores de Formación

Los marcadores bioquímicos óseos de formación disponibles para ser medidos en el laboratorio clínico son: Fosfatasa Alcalina Total (FAL), Fosfatasa Alcalina ósea (FAO), Osteocalcina (OC), Propéptido C-terminal del protocógeno tipo I (PICP), Propéptido N-terminal del protocógeno tipo I (PINP).

La FAL es una glicoproteína tetramérica que pertenece a una gran familia de proteínas unidas a las membranas celulares mediante un grupo glicano-fosfatidil-inositol carboxilo terminal. En suero circula como dímero con dos sitios activos simétricos y su actividad comprende a la de varias isoenzimas originadas en diferentes tejidos (hígado, hueso, bazo, riñón, placenta o expresión de tumores), siendo la hepática y la ósea las fracciones mayoritarias. Estas isoenzimas se diferencian en su patrón de glicosilación⁽¹⁰⁾. En condiciones normales los niveles sanguíneos de FAO corresponden a un 40% del total de la FAL total pero en niños y adolescentes, que se encuentran en un proceso de crecimiento, los niveles de FAO pueden alcanzar valores mayores, de hasta un 90% de la FAL total⁽¹¹⁾. La FAO es una isoenzima sintetizada por los osteoblastos maduros y precursores. Aunque su función precisa no está establecida, es sabido que cumple un rol fundamental en la formación e iniciación de la mineralización ósea. Por ello, la medición de su actividad en suero es una manera indirecta de cuantificar el proceso de formación, siendo más sensible y específica que la FAL. La determinación sérica de FAO presenta poca variabilidad entre sujetos, baja variabilidad metodológica y biológica⁽⁹⁾. Las isoformas hepática y ósea son codificadas por el mismo gen y son idénticas en su composición aminoacídica. Solo difieren en modificaciones postraslacionales⁽³⁾, lo que provoca que difieran en su movilidad electroforética; susceptibilidad al calor e inhibición química, haciendo que estas variables sean útiles en el proceso de separación de las isoenzimas. Actualmente se usan anticuerpos monoclonales dirigidos a la isoforma ósea; esta técnica mejoró significativamente la sensibilidad del marcador para evaluar el recambio óseo de la mujer postmenopáusica, respecto a la determinación de FAL. Sin embargo, el inmunoensayo para la isoforma ósea mantiene todavía una reactividad cruzada del 15 a 20% con la isoforma hepática que limita su utilidad en presencia de daño hepático.

En cuanto a su uso en diferentes patologías, la FAO es más útil en aquellas que presentan una gran actividad de formación, En osteoporosis pueden producirse incrementos ligeros de la fracción total así como también se pueden encontrar valores elevados en enfermedades como hiperparatiroidismo, tirotoxicosis o fracturas. Los valores se elevan en cantidades muchos mayores en otras patologías como osteomalacia, enfermedad de Paget y aquellas enfermedades que presenten alteraciones hepáticas, por lo cual la separación de las isoenzimas es un paso fundamental.

Marcadores de Resorción

Los marcadores de resorción ósea que pueden medirse en suero y/o en orina son: relación calcio/creatinina, Fosfatasa Ácida Tartrato Resistente (TRAP), Hidroxiprolina, Piridinolina (Pyr), Deoxipiridinolina (DPyR), Telopéptidos C-terminal (α -CTX y β -CTX), y N-terminal (NTX) del colágeno tipo I, Enlaces unidos a C-telopéptidos del colágeno tipo I (ICTP).

Los niveles de TRAP-5b representan el número y la actividad de los osteoclastos más que el nivel de degradación ósea; por lo tanto constituye el único marcador de remodelado que evalúa la actividad directa del osteoclasto ya que el resto de los marcadores de resorción son indicadores del grado de destrucción de la matriz ósea⁽¹¹⁾. Su especificidad y sensibilidad son bajas, ya que otras células, además de los osteoclastos, presentan actividad TRAP⁽³⁾. La mayoría de los ensayos para la medición de TRAP utilizaban métodos colorimétricos donde no era posible diferenciar ambas isoformas. En la actualidad existen inmunoensayos con anticuerpos monoclonales específicos para TRAP-5b.

Telopéptido Amino y Carboxi Terminal de Colágeno Tipo I

En la actualidad NTX y CTX, son los marcadores más sensibles y específicos de la resorción ósea. Estos fragmentos se forman por la actividad de la catépsina K (enzima proteolítica) y aparecen en cantidades significativas, tanto en sangre como en orina, donde pueden medirse por inmunoensayos específicos^(5,9). La medición sérica proporciona una ventaja con respecto al ensayo en orina porque evita el efecto aditivo de la variabilidad biológica de la excreción de creatinina urinaria⁽⁶⁾.

Existen dos ensayos para el NTX, uno urinario por ELISA y el otro automatizado tanto en suero como en orina por electroquimioluminiscencia; en

ambos casos se utiliza un anticuerpo monoclonal dirigido contra la cadena $\alpha 2$ (I) que no reacciona con la parte lineal de la secuencia peptídica.

En el hueso recién formado el Asp de la molécula del telopéptido se encuentra en la posición espacial α y cuando el hueso envejece se transforma espontáneamente en la forma β ^(12,13). De ello, el α -CTX corresponde a hueso degradado de menor edad biológica que el β -CTX. Ambas formas pueden evaluarse independientemente por ensayos específicos. El β -CTX es uno de los marcadores óseos que presenta mayor sensibilidad y especificidad en este momento y puede evaluarse en suero u orina en forma manual o automatizada. En la enfermedad de Paget, como el hueso degradado es el recientemente sintetizado, la medición de β -CTX no es útil, mientras que la α -CTX sería la adecuada. En el HPT1°, en cambio, el hueso degradado es más viejo, por ello el β -CTX determina en forma más sensible el aumento en la resorción ósea. En la región telopeptídica C-terminal se produce por acción enzimática otro telopéptido denominado anteriormente ICTP, en la actualidad CTX-MMP (telopéptido reticulado carboxi-terminal de suero de colágeno tipo I generados por metaloproteinasas de la matriz). Este fue el primer marcador de resorción evaluado en suero pero como proviene de la actividad de MMPs específicamente de la MMP-9, es menos sensible y específico que NTX y CTX para evaluar cambios en el remodelado óseo inducido por osteoporosis. Se considera, en cambio, que el CTX-MMP sería útil para medir cambios agudos de la resorción ósea por neoplasias⁽¹⁴⁾.

Hidroxiprolina

Es un aminoácido no esencial que proviene de la hidroxilación post traslacional de prolina y constituye el 10 % del contenido del colágeno maduro. El 90 % de hidroxiprolina es liberado durante la degradación del colágeno tipo I, pasa a circulación, se metaboliza en el hígado y posteriormente es excretado en la orina donde se encuentra en forma libre solo en un 10 %. El mayor porcentaje corresponde a hidroxiprolina unida a péptidos por lo que para su determinación es indispensable una hidrólisis previa⁽⁹⁾. La excreción urinaria de hidroxiprolina también está influida por el metabolismo de otros tejidos (cartílago, piel) y por la absorción de productos ricos en colágeno como carnes y gelatina. Debido a su origen tisular diverso, a su patrón metabólico y a la alta variación diaria que presenta, se correlaciona escasamente con la resorción ósea⁽¹⁰⁾.

Piridolina y Deoxipiridolina

Una vez depositado en el hueso, las fibras de colágeno forman enlaces estabilizadores. Los aminoácidos modificados que forman los enlaces son característicos del colágeno y de los módulos de elastina. La Pyr y Dpyr son los dos principales tipos de aminoácidos encontrados en estos enlaces, los cuales aumentan la fuerza y estabilidad de las cadenas de colágeno. La Pyr se encuentra principalmente en el cartílago y, en niveles bajos, en el colágeno del hueso. La Dpyr se encuentra casi exclusivamente en la dentina y en el colágeno tipo I del hueso, siendo un marcador excelente de pérdida ósea⁽⁷⁾. Como el recambio de colágeno en los otros tejidos es escaso, se acepta que la mayoría de la Pyr y sobre todo la Dpyr son de origen óseo⁽¹⁰⁾.

Pyr y Dpyr son liberadas de la matriz de las estructuras helicoidales del colágeno cuando la matriz ósea se degrada por acción de los osteoclastos y no son reutilizados para la síntesis de nuevas cadenas colágenas. Estas dos moléculas están presentes en la orina en dos formas: una libre (40 %) y una forma ligada a péptidos (60 %)⁽⁷⁾. Aunque están presentes en la dieta, no se absorben⁽¹⁰⁾. Una ventaja respecto a la determinación de hidroxiprolina es que no es necesaria una dieta previa a la toma de muestra⁽⁹⁾.

La excreción urinaria de Pyr y Dpyr aumenta con la edad, en pacientes con hipertiroidismo, enfermedad de Paget, menopausia, osteomalacia e hiperparatiroidismo. Se encuentran niveles urinarios elevados de estas moléculas en pacientes con osteoporosis y los niveles disminuyen durante el tratamiento con antirresortivos y con estrógenos^(7,8). Están aumentados en todas las situaciones que cursan con incremento de remodelado óseo⁽¹⁰⁾.

VARIABILIDAD

Como ya se mencionó, los marcadores óseos pueden ser cuantificados en suero o en orina. Los problemas que subsisten en la interpretación de estos marcadores se deben principalmente a las variables pre-analíticas, analíticas y biológicas⁽³⁾.

Variabilidad analítica

Varios factores, tales como la disponibilidad de anticuerpos sensibles y específicos, calibradores puros y el diseño del ensayo, determinan su capacidad analítica⁽²⁾. Durante la última década varios de los inmunoensayos tradicionales han sido automatizados, mejorando la performance técnica e incrementando su disponibilidad. Con la mejora de

los ensayos el CV analítico se mantiene alrededor de un 5 %. Sin embargo, la precisión dentro y entre lotes, la exactitud y la estandarización, siguen siendo una problemática. La ausencia de una estandarización uniforme hace difícil comparar los valores obtenidos en diferentes laboratorios. La variación interlaboratorio es crucial y diversos estudios han demostrado que los resultados de la mayoría de los marcadores de recambio óseo, para ensayos idénticos, son significativamente diferentes. Esta es la razón por la que todas las mediciones del individuo deben realizarse en el mismo laboratorio^(15,16).

Variación preanalítica

Varios marcadores de recambio óseo, especialmente OC y TRAPb5, son sensibles a la termo degradación, los niveles pueden ser significativamente reducidos luego de unas pocas horas a temperatura ambiente; las piridolinas son sensibles a la irradiación UV. Una disminución poco significativa ha sido detectada en CTX guardado a -20 °C varios meses. Sin embargo, disminuye rápidamente su concentración en suero a 4 °C y 37 °C. El mecanismo es desconocido pero esta disminución es minimizada por el uso de EDTA. Si las muestras no son analizadas inmediatamente, deben guardarse a -20 °C o menos. La hemólisis no afecta a TRAPb5 pero si las proteasas de los glóbulos rojos a la OC⁽¹⁵⁾.

Variabilidad biológica (pre-analítica)

Las causas de VB pueden dividirse en pre analíticas no controlables (edad, sexo, etnia, reparación de fracturas, función renal y hepática, otras enfermedades asociadas, etc.) que, para minimizar su efecto, son necesarios valores de referencia adecuados, algo muy difícil en la práctica clínica; y variables pre analíticas controlables (dieta, ejercicio, ritmo circadiano, cambios estacionales, etc.). Así es, por ejemplo que, después de una fractura, las concentraciones de los marcadores suben 20-60 %, y se mantienen altas por 6 meses o más. Con el peso bajo el reposo prolongado, se incrementan en un 40-50 % pero el patrón de recuperación depende del marcador^(3,12,15). En adultos, la principal fuente de indeseable pero controlable de **variabilidad biológica intraindividual** es el ritmo circadiano; con valores más altos en las primeras horas de la mañana, que disminuye abruptamente para alcanzar el nadir al final de la tarde. La mayoría de los marcadores siguen el mismo patrón, con la excepción de la FAL, porque tiene mayor vida

media. El decaimiento más profundo durante la mañana ha sido descripto para el crosslaps sérico. Este marcador es más alto entre las 01:30 y 04:40 hs llegando a más del doble que el nadir de entre las 11.00 y 15.00 hs; esto puede ser atenuado por factores tales como la edad, género, etnia, menopausia, grado de osteoporosis y agentes antirresortivos o suplementación con calcio, pero esta disparidad es disminuida en los pacientes que mantienen el estado de ayuno^(15,16). La actividad física en las 24 horas previas es también significativa. El recambio óseo varía con el estadio del ciclo menstrual; estudios demuestran que la actividad osteoblástica es más alta durante la fase lútea y, la resorción ósea, está incrementada durante la fase folicular.

Las drogas antirresortivas, tales como los bifosfonatos y la terapia de reemplazo hormonal, tienen un gran efecto en los marcadores de resorción ósea (disminuyen notablemente) mientras que, por su parte, la terapia a largo plazo con corticoides es conocido que suprime la formación. Las condiciones inflamatorias son un gran precipitador para la pérdida ósea, especialmente la artritis reumatoidea, que se agrava, además, por la disminución de la actividad funcional y el uso de glucocorticoides.

Por otra parte, debe tenerse en cuenta que los marcadores óseos se metabolizan a través del hígado y riñón, con lo que estarían influenciados por las enfermedades que afectan a estos sistemas. Cuando hay un cambio en la tasa de remodelamiento, los marcadores de resorción caen más rápidamente que los de formación (2-12 semanas para resorción y 3-6 meses para formación), debido a que es más corto el proceso de resorción que el de formación^(3,15).

La **variación interindividual** es mayormente determinada por factores no controlables como la edad (aumentan), género (más altos en mujeres que en hombres) y menopausia (gran incremento luego de la última menstruación); mientras que la etnia y zona geográfica de la población no influye de manera importante. La variación día a día es de alrededor de un 10% para marcadores de formación y de un 20 % aproximadamente para los marcadores de resorción^(15,16). En general, los marcadores de formación son menos variables que los de resorción y los urinarios más que los séricos⁽¹²⁾.

VALOR DE REFERENCIA PARA EL CAMBIO (VCR)

Es el valor que se debe superar para decir que hubo un cambio significativo o altamente significativo

entre dos resultados consecutivos de un mismo paciente. Indica cuanto debería modificarse un analito para poder ser interpretado como un cambio en el estado del paciente. El VCR resulta de un cálculo en el que intervienen la VB del analito considerado y el error aleatorio del método utilizado en el laboratorio. Cuando no existen datos de VB de un analito se puede utilizar la incertidumbre combinada (Uc) del test para establecer este número. El VRC puede ser incorporado a los sistemas informáticos de laboratorio como una función llamada Delta check, que mediante una alarma de color o de sonido permite visualizar, en forma rápida, si un nuevo valor representa un cambio significativo respecto al valor informado previamente. Es decir, si la diferencia en dos resultados sucesivos de un mismo paciente, supera al Delta Check o VCR. Chequea el porcentaje de aumento o disminución entre dos valores sucesivos para analitos que se miden cuantitativamente, o un cambio cualitativo (positivo o negativo) para las técnicas no cuantificables. Para que los resultados seriados sean significativamente diferentes, la diferencia numérica entre dos resultados sucesivos debe ser mayor a la variación combinada de los dos resultados (VRC), que está dado por la siguiente fórmula:

$$VRC = \sqrt{2} \times z \times \sqrt{(CVA\%2 + CVI\%2)}$$

VRC = valor de referencia de cambio. Se utiliza el 2 cuando se tienen dos muestras.

CVA% = Coeficiente de Variación analítico. Se obtiene a partir de los datos del control de calidad interno que procesa el laboratorio diariamente

CVI% = Coeficiente de variación Intra-individuo (VB) Estos CVI% se obtiene de las tablas de Variabilidad Biológica disponibles en la literatura.

Z = es un parámetro estadístico: para considerar un cambio significativo con 95 % de confianza ($p < 0.05$) se debe utilizar como valor z el valor de 1.96 ; para considerar un cambio significativo con 99 % de confianza ($p < 0.01$) se debe utilizar como valor z el valor de 2.56.

Aun cuando los valores estén dentro del rango normal, si la metodología analítica es la misma, cambios que superen al VCR% podrían deberse a un cambio en el estado clínico del paciente (muy útil en el monitoreo de la terapéutica). El VCR. Es menor para los marcadores séricos que para los marcadores urinarios⁽⁴⁾.

El Delta Check indica la probabilidad estadística de que un cambio sea significativo con diferentes niveles de probabilidad; es una herramienta más

en la búsqueda de la calidad. Un cambio entre resultados puede ser estadísticamente significativo pero no merecer ninguna acción clínica, o bien no significativo y clínicamente importante. Es de gran utilidad tanto para el médico, pues le alerta sobre un posible cambio en el paciente, como para el bioquímico ya que le permite validar los resultados con mayor eficiencia (seguridad y rapidez)⁽⁵⁾.

CONCLUSIÓN

La medición de los marcadores óseos es una excelente herramienta de laboratorio para evaluar enfermedades óseo-metabólicas. La apropiada interpretación de los resultados de estos marcadores bioquímicos debe considerar todas las fuentes de variabilidad, que incluyen las características analíticas del método y la variabilidad biológica del marcador en sí mismo. En general, los marcadores óseos de formación son menos variables que los de resorción y los urinarios más que los séricos. Preferentemente, los marcadores de remodelamiento óseo y el ensayo utilizado para medirlos deberían poseer una variabilidad mínima y predecible así como una performance analítica aceptable para proveer información clínica útil⁽²⁾. Las mediciones para un mismo individuo deben ser realizadas en el mismo laboratorio, usando procedimientos estandarizados; las muestras deben ser tomadas en condiciones de ayuno y, en lo posible, siempre en la misma hora del día, según las recomendaciones de la toma y conservación de la muestra para cada analito⁽¹⁶⁾.

El *Delta Check* indica que un cambio sea estadísticamente significativo con diferentes niveles de probabilidad. La interpretación de los datos se optimizará cuando el médico especialista y el bioquímico realizan un trabajo en conjunto, evaluando la clínica del paciente junto a los resultados de laboratorio, teniendo en cuenta las variables anteriormente descritas⁽⁵⁾.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Barba Evia JR.** Marcadores de remodelado óseo y osteoporosis. *Revista Mexicana Patología Clínica*, Vol. 58, Núm. 3, pp 113-137 • Julio - Septiembre, 2011
2. **Hsin-Shan JJu, Sumy L, Brown B, Stringer MA, Leigh S, Scherrer C, Shepend K, Jenkind D, Knudsen J, Cannon R.** Comparison of analytical performance and biological variability of three bone resorption assays. *Endocrinology and Metabolism, Clinical Chemistry* 43:9 1570/1576, 1997
3. **Watts NB.** Clinical utility of biochemical markers of bone remodeling. Beckman conference, *Clinical Chemistry* 45:8 (B) 1359-1368, 1999
4. **Clowes JA, Hannon RA, Yan TN, Hoyle NR, Blumsohn A and Eastell R.** Effect of Feeding on Bone Turnover Markers and Its Impact on Biological Variability of Measurements. *Bone* Vol. 30, N° 886-890, 6 June 2002
5. **D' Isa G.** Rubinstein M. Interpretando los resultados del laboratorio: Valor de referencia de cambio y delta check. *Medicina Infantil* 2012; XIX: 8-13, 2012
6. **Corte Arboleyaa Z, Cándenas Arroyoa M. y Venta Obayaa R.** Valor de referencia del cambio del PSA en la evaluación del riesgo de cáncer de próstata. *Rev Lab Clin.* 4(3):115-120, 2011
7. **Molina F C,** Marcadores Bioquímicos de Remodelado Óseo. *Revista metabolismo óseo y mineral.* 1(3):91-98, 2003
8. **Romero Barco C. M, Manrique Arija S. y Rodríguez Pérez M.** Marcadores bioquímicos en osteoporosis. Utilidad en la práctica clínica. *Reumatología Clínica.* 8(2):149-152, 2012
9. **Reynaga Montecinos B, Zeni S. N.** Marcadores bioquímicos del remodelamiento óseo. Utilidad clínica. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, vol. 43, núm. 2, abril-junio, 77-193, 2009
10. **Torres E, Mezquita P, De La Higuera M, Fernández D y M Muñoz M.** Actualización sobre la determinación de marcadores de remodelado óseo. *Endocrinología Nutrición* 50(6):237-243, 2003
11. **Seibel MJ.** Biochemical Markers of Bone Turnover. Part I : Biochemistry and Variability. *Clinical Biochemistry Review* Vol 26 November 97-122, 2005
12. **Pozzo M. J.** Uso de los marcadores de remodelación ósea en la práctica clínica. Actualizaciones en Osteología, Vol. 10 - N° 2 - 177-185, 2014
13. **Pedersen BJ, Ravn P, Bonde M.** Type I collagen C-telopeptide degradation products as bone resorption markers. *J Clin Ligand Assay* 21: 118-27, 1998
14. **Delmas P. D.** Committee of Scientific Advisors of the International Osteoporosis Foundation. Bone marker nomenclature. *Bone* 28: 575-6, 2001
15. **Wheater G, Elshahaly M, Tuck SP, Datta H. K and Van Laar JM.** The clinical utility of bone marker measurements in osteoporosis. *Journal of Translational Medicine* 11:201, 2013
16. **Bergmann P, Body JJ, Boutsen Y, Devogelaer J. P, Goemaere S, Kaufman JM, Reginster JY, Gangii V.** Members of the Advisory Board on Bone Markers. Evidence- based guidelines for the use of biochemical markers of bone turnover in the selection and monitoring of bisphosphonate treatment in osteoporosis: a consensus document of the Belgian Bone Club. *Int J Clin Pract*, January 63, 1, 19-26, 2009