

## Botmetabolisme: een overzicht van de klinisch-chemische markers

M.I. GERRITS<sup>1</sup>, W.F. LEMS<sup>2</sup>, J.W.J. BIJLSMA<sup>2</sup>, J.H.H. THIJSEN<sup>1</sup> en H.J.M. van RIJN<sup>1</sup>

Het aantal patiënten in Nederland met osteoporose neemt door de veroudering toe en daarom bestaat er een groeiende belangstelling voor botziekten en daarmee ook het botmetabolisme. Zowel botaanmaak (in serum) als botafbraak (in serum en urine) kunnen met klinisch-chemische markers bepaald worden. Dit artikel geeft een overzicht van de markers en hun onderlinge verschillen. Een aantal markers is al langere tijd bekend en een aantal markers zijn nieuw, deze laatste worden voornamelijk nog in research projecten toegepast.

Bekende botaanmaak markers zijn totaal alkalische fosfatase en osteocalcine. Recent zijn het C-terminaal procollageen type 1 (P1CP), het N-terminaal procollageen type 1 (P1NP) en het bot specifiek alkalische fosfatase (BAP) ontwikkeld.

Voor botafbraak is hydroxyproline een bekende marker. Andere markers in urine zijn pyridinoline, deoxypyridinoline, N-telopeptide, C-telopeptide en galactosyl hydroxylysine. In serum kunnen voor botafbraak C-terminaal cross-linked telopeptide type 1 collageen (1CTP) en tartraat resistent zure fosfatase (TRAP) bepaald worden.

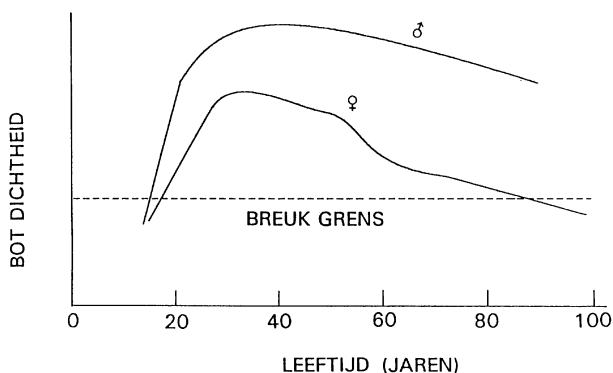
*Trefwoorden: botmetabolisme; botopbouw markers; botafbraak markers; collageen*

Botturnover wordt gekarakteriseerd door twee tegengestelde activiteiten: de vorming van bot door osteoblasten en de afbraak van bot door osteoclasten. Botturnover is een continu proces, waarbij normaliter de activiteiten van de osteoblasten en osteoclasten aan elkaar gekoppeld zijn. De dynamische balans tussen de afbraak en aanmaak van bot bepaalt voor een groot deel de uiteindelijke botmassa. De leeftijd is een belangrijke factor: rond het 30<sup>e</sup> levensjaar wordt de piekbotmassa bereikt en daarna vindt er een afname van botmassa plaats bij zowel mannen als vrouwen (figuur 1). Deze afname is met name bij vrouwen vanaf een tijd rond de menopauze tot zo'n 5 jaar erna versneld, daarna is de afnamesnelheid gelijk aan die van mannen.

Collageen is een belangrijk bestanddeel van botweefsel en omdat de klinisch-chemische collageen markers gebaseerd zijn op de biochemie van collageen

synthese en afbraak, volgt hier een kort overzicht van de collageen synthese.

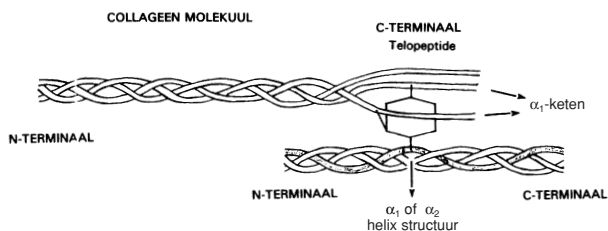
Collageen is een vezelvormig eiwit dat een grote rol speelt in de structuur van weefsels en organen en komt in o.a. huid, bot, pezen, kraakbeen en bloedvaten voor. Er zijn meerdere typen collageen, waarvan type 1 het meeste voorkomt. Type 1 collageen bevindt zich voor ca. 90% in bot. De opbouw van een collageen vezel start met de intracellulaire synthese van polypeptide ketens: de  $\alpha$ -ketens. Deze  $\alpha$ -ketens bevatten veel proline residuen waarvan een deel intracellulair gehydroxyleerd wordt tot hydroxyproline, ca. 13 %, (deze komt vrij bij collageenafbraak). Naast de proline residuen wordt een klein deel van de aanwezige lysine residuen ook gehydroxyleerd, waarna aan de hydroxylysines één of twee suikergroepen gekoppeld worden (bij afbraak van collageen komt galactosyl hydroxylysine vrij). Nu kunnen de  $\alpha$ -ketens drievoudige helix structuren vormen die vervolgens gesecreteerd worden. Deze procollageen vezels, zoals ze nu genoemd worden, zijn langer dan de uiteindelijke tropocollageen vezels. Aan zowel de carboxyals amino terminale kant bevinden zich eiwitfragmenten (de propeptides). Deze propeptides zijn van belang voor de vorming van de drievoudige helix en worden na secretie extracellulair afgesplitst. De verkregen P1CP (carboxy terminaal propeptide van type 1 collageen) en P1NP (amino terminaal propeptide van type 1 collageen) zijn markers voor de collageen synthese. Afsplitsing van propeptides is het startsignaal om de uiteindelijke collageen vezels te vormen. In deze vezels liggen de tropocollageen molekulen op een vaste afstand van elkaar, deze afstand is van groot belang bij de uiteindelijke crosslinking van de collageen vezel, waardoor stabiel collageen ontstaat.



**Figuur 1.** Leeftijdsverandering in botdichtheid bij mannen en vrouwen. Het risico op botbreuk neemt toe als de botdichtheid onder de breuk grens komt.

*Laboratorium Klinische Chemie<sup>1</sup> en Afdeling Reumatologie<sup>2</sup>, Academisch Ziekenhuis Utrecht, Utrecht*

Correspondentie: Mw. M.I. Gerrits, Afdeling Klinische Chemie, Academisch Ziekenhuis Utrecht, Huispostnr: G03.550, Postbus 85500, 3508 GA Utrecht.  
Ingekomen: 22.12.95



**Figuur 2.** Structuur van 1CTP met twee carboxy terminaal telopeptide gedeelten van twee  $\alpha_1(I)$  ketens van één type I collageen molecuul en één helix van  $\alpha_1(I)$  of  $\alpha_2(I)$  keten van een ander molecuul.

De cross-linking wordt gevormd door de pyridinolines: pyridinoline en deoxypyridinoline (deze komen vrij bij de collageenafbraak). De crosslinking bestaat uit samenvoeging van twee hydroxylysine residuen en een lysine residue door de pyridinoline cross-links (figuur 2). Bij collageenafbraak komen naast de pyridinolines ook de cross-linked carboxy terminaal telopeptide (1CTP, figuur 2) en amino terminaal telopeptide (1NTP) vrij.

Inzicht in het botmetabolisme van een individu kan op verschillende manieren worden verkregen:

- Histomorfometrie: Histomorfologie van een botbiopt geeft goede informatie over het botmetabolisme, het wordt ook wel de "gouden standaard" van botturnover genoemd. De nadelen van deze methode zijn dat er een botbiopt genomen moet worden, waardoor deze benadering belastend is voor de patiënt en de verkregen informatie geeft alleen een lokaal beeld van het botmetabolisme en niet in het gehele skelet.
- Calciumkinetiek: Bij balansstudies wordt radioactief calcium bij de patiënt ingespoten en vervolgens wordt het calciummetabolisme gevolgd. Deze methode heeft als nadeel dat ze tijdrovend en duur is en er radioactief materiaal gebruikt wordt. Daarnaast wordt de kinetiek mede bepaald door de nier- en darmfunctie.
- Botdichtheidsmeting: Met behulp van deze methode is de botmassa te bepalen. Deze methode is niet belastend voor de patiënt maar heeft wel een aantal nadelen. De botmassa wordt in een klein deel van het skelet bepaald, net als bij het botbiopt geeft het alleen lokale informatie en niet in het gehele skelet. Om een verschil in botmassa aan te tonen zijn meerdere metingen over een langere tijd nodig, waardoor de methode duur wordt om toe te passen.
- Klinisch-chemisch: Klinisch-chemische parameters worden op dit moment het meest gebruikt om meer inzicht in het botmetabolisme te krijgen. De parameters kunnen zowel in bloed als in urine bepaald worden en de metingen zijn gemakkelijk te herhalen. Met behulp van deze parameters bestaat de mogelijkheid om afzonderlijk de botopbouw en botafbraak in kaart te brengen. Het behoeft geen betoog dat het klinisch-chemisch onderzoek als weinig belastend gezien wordt voor de patiënt, in vergelijking met de drie eerder genoemde onderzoeksmethoden (1-3). Een nadeel is dat de relatie met verandering in botmassa op langere termijn niet altijd is gegarandeerd en nog niet is vastgesteld.

De groeiende belangstelling voor botmetabolisme bij verschillende botziekten heeft geresulteerd in een toenemende interesse voor de klinisch-chemische parameters, welke vermeld zijn in tabel 1. Klinisch-chemische markers zijn adequaat gebleken omdat zij in staat zijn snelle veranderingen in botmetabolisme te detecteren. Voor dit doel zijn de laatste 10 jaar een aantal nieuwe markers voor bepaling van botmetabolisme, met name botafbraak, ontwikkeld. Om botresorptie snelheid te bepalen worden thans veelvuldig de zo genoemde crosslinks pyridinoline en deoxypyridinoline (Pyr en Dpyr) in urine bepaald en daarnaast, zij het in mindere mate, het galactosyl hydroxylysine (GHYL) (4).

Een voorbeeld waarbij de botafbraak markers evt. in combinatie met botdichtheidsmeting een grote rol kunnen spelen is bij screening van vrouwen tijdens de menopauze of deze tot de risicogroep voor osteoporose behoren (5).

In dit artikel wordt een overzicht gegeven van de stand van zaken ten aanzien van de waarde van de (veel) gebruikte klinisch-chemische markers voor het botmetabolisme.

### Botopbouw markers

#### *Alkalische fosfatase en botspecifiek alkalische fosfatase*

Alkalische fosfatase (AP) is een enzym dat zich niet alleen in weefsels zoals lever, darm, placenta etc. bevindt maar ook in het membraan van osteoblasten. Door een nog onbekend mechanisme komt het in de circulatie (6). Ondanks de matige gevoeligheid, specificiteit en correlatie met histomorfologisch bepaalde botopbouw (6-8) is totaal AP tot nu toe de meest gebruikte serum parameter voor de botaanmaak. De lage specificiteit wordt veroorzaakt door productie van AP in veel andere organen. Lever- en bot-AP leveren de grootste bijdrage aan totaal AP in serum; beide isoenzymen worden door hetzelfde gen gecodeerd en verschillen alleen in koolhydraat ketens (9,10). Recent zijn er een aantal nieuwe methoden op de markt gebracht die de specificiteit van AP verhogen door alleen specifiek bot-AP te bepalen. De ver-

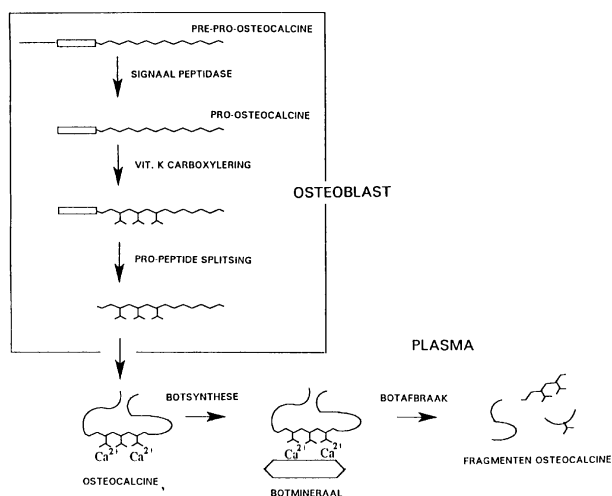
**Tabel 1.** Biochemische markers van botturnover

Aanmaak	Afbraak
<i>Routine markers:</i>	
Totaal alkalische fosfatase (serum)	Hydroxyproline (urine)
Osteocalcine (serum)	Pyridinoline (urine) Deoxypyridinoline (urine)
<i>Research markers:</i>	
Bot alkalische fosfatase (serum)	1CTP (serum)
P1CP (serum)	TRAP (serum)
P1NP (serum)	N-Telopeptide (urine) C-Telopeptide (urine) Galactosyl Hydroxylysine (urine)

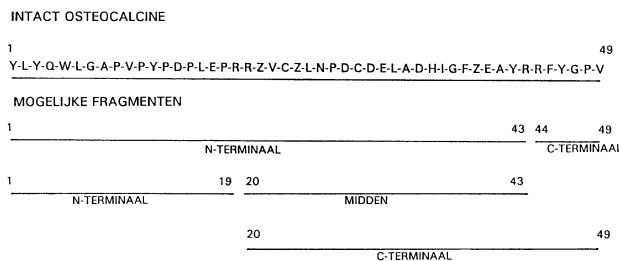
schillende methoden hebben helaas nog steeds kruisreactiviteit met lever-AP, daarom is het belangrijk om in klinische studies na te gaan of alleen het bot-AP wordt bepaald (2,6-8,11,12). Onlangs zijn de verschillende methoden met elkaar vergeleken op kruisreactiviteit met lever-AP en toepasbaarheid in de routine. Uit deze vergelijkingen is de Elisa-methode als beste naar voren gekomen, mede door de eenvoudige bepalingmethode. Daarnaast is gekeken naar de stabiliteit en de bewaartijd. Bot-AP kan zonder problemen 5 x ontdooid en ingevroren worden zonder dat de activiteit van het enzym terugloopt, ook bij bewaren tot 10 maanden bij -40 °C is de activiteit van het enzym niet afgenomen (13). Van bot-AP zijn drie isoenzymen die door "isoelectric focusing" van elkaar gescheiden kunnen worden, mede hierom is het van belang dat bij botziekten de juiste isovorm, die verhoogd is, bepaald wordt (14). Duidelijk verhoogde totaal AP-waarden worden gevonden bij aandoeningen zoals ziekte van Paget, primaire of secundaire hyperparathyreoïdie en hyperthyreoïdie (6-8,11). Ten behoeve van het vaststellen van osteoporose, dat een langzaam proces is, is gebleken dat totaal AP niet geschikt is als marker: de AP-waarden blijken per individu erg te wisselen (6-8). Bij de laatst genoemde groep patiënten is bot-specifiek alkalische fosfatase een zeer goede marker om de behandeling van deze patiënten met een bisfosfonaat (15) of met oestrogeen (16) te volgen.

### Osteocalcine

Osteocalcine, ook wel genoemd bone glutamine-protein (Bone Gla-protein, BGP), is een peptide van 49 aminozuren waaronder veel glutamine. Dit peptide is het voornaamste niet collageen matrix-eiwit dat door osteoblasten gesynthetiseerd wordt (figuur 3). De synthese is vitamine K afhankelijk en wordt door 1,25 dihydroxy vitamine D gestimuleerd (11). Het osteocalcine wordt in de extracellulaire matrix van bot opgenomen doch een klein deel van het gesynthetiseerde osteocalcine komt in de circulatie (5,8,11). Waarschijnlijk heeft osteocalcine een dag/nacht ritme, maar hierover zijn de meningen verdeeld (11,12).



**Figuur 3.** Synthese van osteocalcine, vorming van botmineraal en de osteocalcine-fragmenten na botafbraak.



**Figuur 4.** Sequentie van intact osteocalcine. Op 2 plaatsen waar Arg-Arg binding voorkomt (19-20 en 43-44) kan het osteocalcine gesplitst worden.

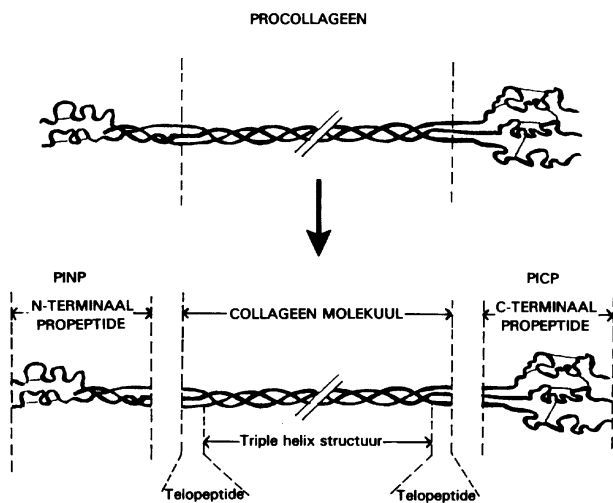
Osteocalcine is een maat voor de osteoblast-activiteit en door de koppeling van botopbouw en botafbraak geeft osteocalcine de bottenomzet terug. Bij een ont koppeling van het mechanisme, zoals bij corticosteroid geïnduceerde osteoporose, geeft intact osteocalcine duidelijk de aanmaak weer (17,18). Bij botafbraak kan ook osteocalcine vrijkomen, dit zijn dan altijd kleinere fragmenten die door de meest gebruikte immunoassays niet gemeten worden (5,19). Door proteolytische splitsing van het intacte osteocalcine op plaats 43-44 ontstaat een groot N-terminaal fragment van 43 aminozuren (figuur 4), dit kan ook bij bot-aanmaak vrijkomen of zelfs na afname in het bloed ontstaan. Om te voorkomen dat in het bloed osteocalcine gesplitst wordt, moet het direct na afname op ijs geplaatst worden en binnen 4 uur verwerkt zijn of ingevroren. Wil men een duidelijk beeld van botaanmaak hebben dan is het belangrijk dat er een immunoassay gebruikt wordt die geen kruisreactiviteit vertoont met kleinere fragmenten.

Voor de bepaling van osteocalcine zijn verschillende kits in de handel waarvan de resultaten grote concentratieverschillen laten zien die verklaard kunnen worden door gebruik van verschillende antilichamen, die kleine fragmenten wel of niet herkennen (5,8). De concentratie van osteocalcine in serum neemt bij vrouwen lineair met de leeftijd toe (20) en de concentratie is hoger dan bij mannen (12). Bij vrouwen met postmenopauzale osteoporose worden verschillende resultaten gerapporteerd met grote individuele verschillen in osteocalcine-concentratie (12,21).

De osteocalcine-concentratie is verhoogd bij verschillende ziekten die gekarakteriseerd worden door een verhoogde bottenomzet, zoals primaire en secundaire hyperparathyreoïdie, hyperthyreoïdie, ziekte van Paget, e.a.. De osteocalcine-concentratie is verlaagd bij hypothyreoïdie, hypoparathyreoïdie en in patiënten behandeld met glucocorticoiden (6,8).

### Carboxy terminaal propeptide type 1 collageen

Bot bestaat voor meer dan 90% uit type 1 collageen, dat uit procollageen gesynthetiseerd wordt (figuur 5). Procollageen heeft aan beide uiteinden extra peptiden die bij inbouw van collageen in bot door specifieke proteases afgesplitst worden. Het deel dat aan de carboxy kant afgesplitst wordt is het carboxyterminale propeptide van type 1 collageen (PICP); dit glycoproteïne bevat een grote hoeveelheid mannose en heeft een molgewicht van 100 kD. PICP is een trimeer dat



**Figuur 5.** Type I collageen dat uit procollageen type I ontstaat na afsplitsing van P1CP en P1NP.

door S-S bruggen in stand gehouden wordt en nadat het bolvormige eiwit is afgesplitst wordt de juiste vezelvorming van het collageen verkregen. De hoeveelheid P1CP dat in de circulatie komt, is direct gerelateerd aan het aantal gevormde collageen molekulen (22-24).

Bij de bepaling van P1CP in serum moet men er op bedacht zijn dat een groot deel van het circulerende P1CP door de endotheelcellen van de lever wordt opgenomen; deze opname wordt door mannose-receptoren gereguleerd. Een ander klein deel wordt via een nog onbekend mechanisme door de nieren verwijderd (23). Dit betekent dat het gemeten P1CP toch lager is dan op grond van het ingebouwde collageen te verwachten valt. Ook bij lever- en nierfunctie stoornissen zal het gemeten P1CP niet de eigenlijke situatie weergeven.

Zoals bijna alle botmarkers heeft ook P1CP een duidelijk dag/nacht ritme (8) en de synthese van P1CP kan door verschillende metabole botziekten veranderen. Bij vrouwen in de leeftijdsgroep van 50-59 jaar is een significant verschil gevonden t.o.v. premenopausale waarden; dit suggereert een verhoogde botturnover direct na de menopauze (25,26). Bij behandeling van postmenopausale vrouwen met hormoon-replacement-therapy (HRT) neemt de P1CP-concentratie af tot premenopausale waarden (27). Bij kinderen en patiënten met de ziekte van Paget is de P1CP-concentratie sterk verhoogd, bij osteogenesis imperfecta en reumatoïde artritis (RA) zijn de concentraties verlaagd (8,25,28). Patiënten met RA die behandeld worden met corticosteroiden laten een daling in P1CP-concentratie zien (17,29). Tenslotte kan P1CP als marker van osteoblast gemedieerde botopbouw gebruikt worden bij het vervolgen en mogelijk zelfs detecteren van botmetastasen (30).

#### *Amino terminaal propeptide type 1 collageen*

Naast het P1CP wordt bij de synthese van type 1 collageen ook een N-terminaal peptide afgesplitst: het procollageen 1 N-terminaal collageen: P1NP (figuur 5). P1NP is geen glycoproteïne maar een gefosfory-

leerd eiwit. Onlangs is er een bepaling voor P1NP beschreven waarbij gebruik gemaakt werd van een synthetisch peptide met de 7-24 peptidensequentie als immunogeen (1,7). De concentratie van P1NP is 100 maal hoger dan van P1CP; dit suggereert een verschil in metabolisme van P1NP en P1CP. Het is ook mogelijk dat het concentratie-verschil deels verklaard wordt doordat de immuno-sequentie op de pro- $\alpha_1(1)$  keten zit en P1NP twee van deze pro- $\alpha_1(1)$  ketens bevat. Daarnaast kan het als één molecuul, een eiwit van 35 kD, of in fragmenten circuleren, omdat het geen S-S bruggen heeft, die de trimeerstructuur in stand houden zoals het P1CP (7).

Uit recent onderzoek is gebleken dat de P1NP-concentratie een goede correlatie vertoont met P1CP (31). Maar voordat P1NP als betrouwbare marker voor de botaanmaak gebruikt kan worden zal er eerst meer onderzoek bij verschillende botziekten gedaan moeten worden (1,31)

### **Botafbraak markers**

#### *Hydroxyproline*

Hydroxyproline (OH-P) wordt voornamelijk in collageen type 1 gevonden, 13% van de collageen-aminozuren bestaat uit OH-P. Bij de afbraak van collageen komt OH-P vrij in de circulatie en wordt niet hergebruikt in de collageen synthese (1,5). Het OH-P circuleert grotendeels als vrij aminozuur in het bloed en wordt door de nieren bijna helemaal verwijderd; daarnaast kan de lever OH-P volledig oxideren. Uiteindelijk wordt ca 10% van OH-P aan kleine peptiden gebonden en door de nieren zonder verder metabolisme uitgescheiden in de urine (2). De aan eiwit gebonden vorm is ook een bijproduct van de afbraak van nieuw gesynthetiseerd (onrijp) collageen. Als deze fractie specifiek bepaald wordt, zou men kunnen aannemen dat het de botaanmaak weergeeft (11). De turnover van collageen in bot is veel hoger dan in andere weefsels en daarom kan OH-P toch als botafbraak marker gebruikt worden (1,2).

Als botafbraak marker is de gevoeligheid matig; ook de correlatie met botafbraak, zowel bepaald met calciumkinetiek als met bothistomorfometrie (1,2,5,8), is niet erg goed.

Behalve uit de specifieke afbraak van collageen is OH-P ook afkomstig van collageen eiwit uit voedsel (vlees en gelatine). Daarom moeten patiënten minstens 2 dagen voor het verzamelen van urine hun voedingspatroon aanpassen door geen vlees en gelatine (o.a. in ijs en bananen) te eten (11).

OH-P kan zowel bepaald worden in 24 uren urine als in nuchtere ochtendurine. Het betreft een colorimetrische bepaling. De hydroxyproline uitscheiding wordt doorgaans weergegeven t.o.v. de kreatinine-uitscheiding.

Bij de ziekte van Paget is OH-P duidelijk verhoogd en deze uitscheiding daalt bij behandeling met bisfosfonaten (7,8). Bij osteoporose blijkt dat OH-P in de praktijk niet als marker te gebruiken is omdat veel patiënten met osteoporose een normale tot slechts iets verhoogde uitscheiding hebben (8,32).

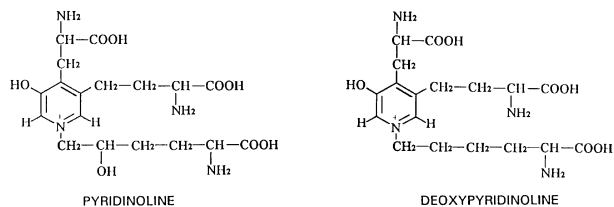
### Pyridinoline en Deoxypyridinoline

De koppeling van collageenvezels wordt gestabiliseerd door de zo genoemde cross-links, pyridinoline (Pyr) en deoxypyridinoline (Dpyr) (figuur 6). Deze koppeling komt eerst tot stand door hydrofobe en elektrostatische krachten en wordt later gestabiliseerd door covalente intra- en intermoleculaire cross-links, Pyr en Dpyr. Het patroon van collageen-cross-linking is weefsel specifiek (11), Pyr en Dpyr komen voornamelijk voor in type 1 collageen van bot, daarnaast komt Pyr in type 2 collageen van kraakbeen voor (6). De volgende weefsels bevatten type 1 collageen: huid, bot, tandbeen en pezen, type 2 collageen komt voor in hyaline kraakbeen en glaslichamen. De cross-link-vorming is tijdsafhankelijk, het wordt alleen in volgroeid collageen gevonden. De cross-links komen vrij bij de collageen-afbraak door osteoclasten, ze worden niet hergebruikt in de synthese en door de nieren worden ze uit de circulatie verwijderd. De cross-links worden in 2 vormen in de urine uitgescheiden: vrij (ca. 40%) en aan peptides gebonden (ca. 60%). Net als bij hydroxyproline kunnen Pyr en Dpyr zowel bepaald worden in 24-uurs urine als in nuchtere ochtend urine en worden t.o.v. de kreatinine-uitscheiding weergegeven.

De bepaling van cross-links heeft veel voordelen t.o.v. OH-P: geen interferentie van voeding, hoge weefsel specificiteit en een goede correlatie met botafbraak bepaald met calciumkinetiek (33) en bothistomorfometrie (34). Pyr en Dpyr zijn gevoelige markers en reageren sneller op veranderingen in botturnover dan hydroxyproline (32). Door het dag/nacht ritme van de botturnover (6) is het van belang dat urines op dezelfde tijdstippen verzameld worden. Een aantal studies hebben aangetoond dat nuchtere ochtend urine de botturnover veranderingen rond de menopauze en bij behandeling met hormonen het beste weergeeft (34-36).

Pyr en Dpyr kunnen m.b.v. verschillende methoden bepaald worden: HPLC en ELISA. De reversed-phase HPLC met fluorimetrische detectie geldt als "gouden standaard" omdat zowel de vrije als de eiwit gebonden fractie gemeten worden (de eiwit gebonden fractie na zure hydrolyse = totale fractie) (2,6,8). Bij de verschillende ELISA's die intussen op de markt zijn is de bepaling gebaseerd op het meten van vrije cross-links (37,38) of de eiwitgebonden fractie (39). Tussen de vrije fractie gemeten met de ELISA en de totale fractie gemeten met de HPLC is de correlatie goed (37,38,40,41). Wil men een goed overzicht krijgen van de vrije en totale cross-links is het raadzaam de HPLC-methode te kiezen. Uit een recente studie is gebleken dat de vrije cross-links een andere informatie kunnen geven dan de eiwitgebonden cross-links. Om hier meer duidelijkheid in te krijgen zal nog nader experimenteel onderzoek nodig zijn (39,42,43).

De cross-links hebben als marker voor botafbraak nog een groot voordeel: ze kunnen zonder meer 25 jaar bij -20 °C bewaard worden (44). De uitscheiding van Pyr en Dpyr is verhoogd bij de ziekte van Paget, maligne hypercalciëmie, hyperthyreoïdie (6), hyperparathyreoïdie en groeihormoondeficiëntie (7). Bij postmenopausale vrouwen met osteoporose is de uit-



**Figuur 6.** Structuurformules van pyridinoline en deoxypyridinoline.

scheiding van de vrije cross-links iets verhoogd (35). De uitscheiding van Pyr en Dpyr lijkt de respons op hormoon-replacement-therapy goed weer te geven (41).

### Carboxy-terminaal crosslinked telopeptide van type 1 collageen

Bij de afbraak van collageen komt het carboxy-terminale crosslinked telopeptide van type 1 collageen (1CTP) vrij. Het bestaat uit 3 "cross-linked" peptiden met een molecuulgewicht van 9 kD (figuur 2). Het is de eiwitgebonden fractie van de pyridinoline cross-links die in urine gemeten wordt (45). Ook het 1CTP wordt niet hergebruikt in de collageensynthese: er is een correlatie gevonden tussen 1CTP en botafbraak bepaald met calciumkinetiek en bothistomorfometrie (45-47). Net zoals P1CP bevat het 1CTP nog een deel collageen, het wordt in serum m.b.v. een radio immunoassay bepaald en de 1CTP-concentratie wordt niet beïnvloed door de voeding (48). Het dag/nacht ritme van 1CTP komt overeen met de pyridinoline cross-links en osteocalcine (24,46). Door de korte halfwaarde tijd van 1CTP is het in staat snelle veranderingen in botafbraak weer te geven (49). Er zijn echter ook nadelen aan deze marker: de nieren verwijderen 1CTP, gezien de grootte van het molecuul, eerder uit de circulatie dan P1CP (45).

In de literatuur wordt ook beschreven dat de herkenning door het antilichaam niet specifiek is. Naast het C-telopeptide fragment herkent het antilichaam ook delen van de helixstructuur van  $\alpha_1$ - en  $\alpha_2$ -ketens van collageen (50). De  $\alpha$ -ketens komen, in tegenstelling tot de telopeptiden, in meerdere typen collageen voor, dus is het mogelijk dat niet alleen afbraakproducten van type 1 collageen bepaald worden, maar ook de  $\alpha$ -ketens van type 2 en type 3 (51). Detecteren van kleine verschillen bij behandeling met hormonen kan met de huidige immunoassay nog niet, de gevoeligheid is nog niet optimaal en de ondergrens van het referentie-gebied ligt in de buurt van de detectie-limiet (52). De concentratie neemt niet toe bij postmenopausale vrouwen, wat andere botafbraakmarkers wel doen (52). Uit eigen onderzoek bij patiënten met RA en uit een studie waarin patiënten met de ziekte van Paget met bisfosfonaten behandeld worden (28,29) (Lems WF, Ann Rheum Dis in press) blijkt dat de huidige methoden om 1CTP te bepalen niet gevoelig genoeg zijn om als enige marker de botafbraak te detecteren. Daarnaast zijn zeker nog andere markers zoals bv. de cross-links nodig (53). Er zijn al resultaten van studies bekend waarbij patiënten met prostaatkanker op aanwezigheid van botmetastasen getest

zijn. Hiervoor wordt de ICTP bepaling gebruikt die het mogelijk maakt om in een vroeg stadium deze metastasen al aan te tonen (54,55). Ook zou ICTP een gevoelige indicator zijn voor de respons op therapie van botmetastasen bij borstkanker (Blumqvist et al nog te publiceren).

#### *Type 1 collageen crosslinked N-telopeptide*

Het type 1 collageen crosslinked N-telopeptide (1NTP) (figuur 2, dan alleen aan amino terminale kant) is een onderdeel van de eiwitgebonden pyridinoline cross-links die in de urine uitgescheiden worden. Het beschikbare antilichaam is gericht tegen een epitoom op het  $\alpha(1)$ -N-telopeptide, dit telopeptide kan zowel de cross-links Pyr als Dpyr bevatten (56). Het antilichaam herkent alleen peptiden die één van de cross-links bevatten, doordat de peptiden dan de juiste conformatie hebben. De nieren verwijderen alle 1NTP uit het bloed en de uitscheiding wordt berekend t.o.v. de kreatinine-uitscheiding (56). Uit een studie met kinderen is naar voren gekomen dat 1NTP een maat kan zijn voor de botgroeisnelheid (57), ook is er een goede correlatie tussen 1NTP en Pyr en Dpyr gevonden (36,58,59). In postmenopausale vrouwen is de dag tot dag variatie in de uitscheiding veel lager dan van de pyridinium cross-links (59).

Voordat er uitspraken gedaan worden over 1NTP als botafbraakmarker is er nog enig onderzoek nodig over de specificiteit t.o.v. de bekende botturnovermarkers, o.a. bij vroeg-menopausale vrouwen om een eventueel verhoogde botafbraak aan te tonen (56).

#### *Tartrate-Resistent Zure Fosfatase*

Tijdens de botafbraak wordt door osteoclasten het enzym zure fosfatase uitgescheiden. Behalve in bot is het enzym ook aanwezig in prostaat, bloedplaatjes, erythrocyten en milt. Van het enzym bestaan een aantal iso-enzymen, bot (isoenzym 5) en prostaat (isoenzym 3) komen het meest in bloed voor. Tussen de twee iso-enzymen kan men m.b.v. tartraat een verschil maken: de activiteit van bot zure fosfatase wordt niet geremd door tartraat en prostaat zure fosfatase wel, de bot zure fosfatase wordt daarom tartraat resistent (TRAP) genoemd.

Een aantal nadelen, die de ontwikkeling van een assay voor TRAP bemoeilijken, zijn de lage specificiteit van TRAP voor osteoclast-activiteit, de instabiliteit van het iso-enzym in ingevroren monsters en de aanwezigheid van remmers in serum (6).

Zure fosfasaten komen in veel lagere concentratie voor in serum dan alkalische fosfasaten. De activiteit is in serum hoger dan in plasma omdat bij het stollingsproces uit plaatjes ook zure fosfatase vrijkomt (60), dus meting van TRAP moet bij voorkeur in plasma gebeuren.

Bij verschillende metabole botziekten correleert TRAP goed met de andere botafbraakmarkers (2,6-8,11). De concentratie is verhoogd bij de ziekte van Paget, primaire hyperparathyreoïdie en (postmenopausale) osteoporose (8,11,32). De gevoeligheid van deze marker moet nog verder onderzocht worden (2,8).

#### *Type 1 collageen C-telopeptide*

Naast bepalen van 1NTP in urine is het ook mogelijk om hierin het C-telopeptide (CTX) van type 1 collageen te bepalen. Op het  $\alpha_1(1)$ -C-telopeptide is een sequentie van 8 aminozuren gelokaliseerd die gebruikt is om een specifieke ELISA op te zetten (51). In tegenstelling tot ICTP wordt hier alleen het telopeptide van type 1 herkend en geen helixstructuur (51). In een recente studie is een goede correlatie met de bekende botmarkers gevonden (61). Deze auteurs claimen zelfs dat bepaling van CTX iets beter is dan de andere botafbraakmarkers: OH-P, Pyr en Dpyr. Ook kan de bepaling van CTX goed gebruikt worden om de snelheid van botverlies te voorspellen (61). In tegenstelling tot 1NTP is van het CTX bekend dat het bij vroeg-menopausale vrouwen een versnelde botafbraak aantoont (61).

#### *Galactosyl Hydroxylysine*

Collageen type 1 kan twee soorten hydroxylysines bevatten: het galactosyl hydroxylysine (GHYL), voornamelijk in bot en het glucosyl-galactosyl-hydroxylysine overwegend in de huid. Deze geglyceerde hydroxylysines bepalen de uiteindelijke structuur van het procollageen; hierdoor ontstaan de verschillen in type collageen (4). Het GHYL komt in botcollageen type 1, 5 tot 7 maal meer voor dan in huidcollageen type 1 (62). Bij metabole ziekten met een hoge botturnover is het glycosyleringspatroon niet veranderd (4) en GHYL wordt in de lever niet verder gemetaboliseerd, waardoor het een eindproduct van de collageen-afbraak is (2,4,6,8). De bepaling van GHYL gebeurt met HPLC en fluorescentie-detectie na derivatisering; GHYL fluoresceert niet zelf, dit in tegenstelling tot de pyridinoline cross-links. GHYL wordt als vrije stof in de urine uitgescheiden waardoor hydrolyse niet nodig is. De concentratie van GHYL correleert goed met die van de pyridinoline cross-links; beide stijgen met de leeftijd. De GHYL-uitscheiding is verhoogd bij: kinderen, ziekte van Paget, osteoporose en postmenopausale vrouwen (62). De komende jaren moet onderzoek van deze marker bij metabole botziekten en osteoporose duidelijk maken of GHYL een geschikte marker is om vroegtijdig botafbraak te meten. Dit is vooral van belang bij de screening van postmenopausale vrouwen met een verhoogde kans op osteoporose (6,8).

#### **Discussie**

Bot is levend materiaal, continu wordt bot afgebroken en weer aangemaakt, ook als de lengtegroei gestopt is. Een botbiopt is een moment opname, desondanks wordt het de "gouden standaard" genoemd. Daarnaast zijn de botmonsters heterogeen van samenstelling door de leeftijd van het botweefsel en z'n minerale componenten (63,64). Om met deze methode een verschil in de hoeveelheid bot aan te tonen moet er na 6 tot 12 maanden weer een biopt genomen worden (65).

De klinisch-chemische markers zijn niet afhankelijk van de leeftijd van bot en de veranderingen in botmetabolisme zijn sneller te detecteren. Iedere meta-

bole botziekte heeft een ander effect op de osteoblast- of osteoclast-activiteit en de koppeling hiertussen. Bij het identificeren van een botziekte is het daarom aan te raden meerdere markers te bepalen die de verschillende aspecten van de osteoblast of osteoclast activiteit aantonen (26,66).

Uit verschillende studies is naar voren gekomen dat het bepalen van een enkele botmarker niet voldoende is om inzicht te krijgen in het botmetabolisme. Een combinatie van verschillende markers voor botaanmaak of -afbraak kan dit wel (12).

Iedere botmarker weerspiegelt een ander deel van het botmetabolisme, zo bestaat er tussen P1CP en osteocalcine een matige correlatie die verklaard wordt doordat P1CP de collageen-inbouw weergeeft en osteocalcine de osteoblast-activiteit (25).

Om een indruk van de botbalans op een bepaald tijdstip te krijgen is het gelijktijdig bepalen van osteocalcine en deoxypyridinoline een goede mogelijkheid (65). Deze balans tussen osteoblast- en osteoclast-functie zou wel eens belangrijker kunnen zijn voor het vaststellen van een ziekte dan voor het meten van de activiteit van de cellen afzonderlijk (65,67).

In de nabije toekomst zal de bepaling van de botmarkers een belangrijke rol kunnen spelen bij screening van vrouwen rond de menopauze of zij tot de risico-groep voor osteoporose behoren. Hier kan een combinatie van bepaling van botmassa, m.b.v. botdichtheidsmeting, en botafbraakmarker, bv. Dpyr, uitkomst bieden (5). Naast aantonen van botziekten is het mogelijk om met bv. P1CP of bot-AP en Pyr- of Dpyr-bepaling in een vroeg stadium botmetastasen op te sporen (68,69).

Gezien de bovenstaande resultaten zal verder onderzoek moeten uitwijzen welke combinatie van botmarkers de beste is om bij een bepaalde botziekte de meeste informatie te bieden (65).

Bepaling van botmarkers is niet alleen zinvol bij patiënten met metabole botziekten maar ook bij patiënten die behandeld worden met medicijnen die effect hebben op het botmetabolisme zoals corticosteroiden. Bij het bepalen van een aantal botmarkers moet men er wel rekening mee houden dat een aantal markers beïnvloed kunnen worden door een verstoorde nieren/of leverfunctie. Zo is het bekend dat bij patiënten met leverziekten de synthese van type 1 collageen veranderd is en daardoor kan het bepalen van collageen type 1 afhankelijke markers een verkeerd beeld geven van het botmetabolisme. Dit geldt voor P1CP, ICTP, 1NTP, CTX en de pyridinoline cross-links (70), in dit geval kan dan gekozen worden voor de botmarkers: bot-AP, osteocalcine (aanmaak) en TRAP (afbraak).

Uit het overzicht komt naar voren dat de ideale marker voor botaanmaak of -afbraak nog niet bestaat. Een combinatie van deze markers geeft inzicht in het botmetabolisme, maar er moet nog veel onderzoek gedaan worden naar het gedrag van de botmarkers.

#### Literatuur

1. Ebeling PR, Peterson JM, Riggs BL. Utility of type I procollagen propeptide assays for assessing abnormalities in metabolic bone diseases. *J Bone Miner Res* 1992; 7: 1243-1250.

2. Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover for the clinical investigation of osteoporosis. *Osteoporosis Int* 1993; 3 suppl 1: S81-S86.
3. Delmas PD. What do we know about biochemical bone markers? *Bailliere's Clinical Obstetrics and Gynaecology* 1991; 5: 817-830.
4. Bettica P, Baylink DJ, Moro L. Galactosyl hydroxylysine and deoxypyridinoline: A methodological comparison. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1993; 31: 459-465.
5. Price CP, Thompson PW. The role of biochemical tests in the screening and monitoring of osteoporosis. *Ann Clin Biochem* 1995; 32: 244-260.
6. Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover I: Theoretical considerations and clinical use in osteoporosis. *Am J Med* 1993; 95 (suppl 5A): 11S-16S.
7. Daele PLA van, Birkenhaeger JC, Pols HAP. Biochemical markers of bone turnover: an update. *Neth J Med* 1994; 44: 65-72.
8. Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover for the clinical assessment of metabolic bone disease. *Endocrinol Med Rheum N A* 1990; 19: 1-18.
9. Farley JR, Hall SL, Ilacas D, Orcutt C, Miller BE, Hill CS, Baylink DJ. Quantification of skeletal alkaline phosphatase in osteoporotic serum by wheat germ agglutinin precipitation, heat inactivation, and a two-site immunoradiometric assay. *Clin Chem* 1994; 40: 1749-1756.
10. Rosalki SB, Foo AY, Burlina A, Prellwitz W, Stieber P, Neumeir D, Klein G, et al. Multicenter evaluation of isocalp test kit for measurement of bone alkaline phosphatase activity in serum and plasma. *Clin Chem* 1993; 39: 648-652.
11. Thome JF, Seibel MJ, Silverberg SJ, Robins SP, Bilezikian JP. Biochemical markers of bone metabolism. *Z Rheumatol* 1991; 50: 133-141.
12. Deftos LJ. Bone protein and peptide assays in the diagnosis and management of skeletal disease. *Clin Chem* 1991; 37: 1143-1148.
13. Gomez B, Ardakani S, Ju J, Jenkins D, Cerelli MJ, Daniloff YG, Kung VT. Monoclonal antibody assay for measuring bone-specific alkaline phosphatase activity in serum. *Clin Chem* 1995; 41: 1560-1566.
14. Sinha PK, Bianchi-Bosisio A, Meyer-Sabellek W, Righetti PG. Resolution of alkaline phosphatase isoenzymes in serum by isoelectric focusing in immobilized pH gradients. *Clin Chem* 1986; 32: 1264-1268.
15. Braga V, Dorizzi R, Brocco G, Rossini M, Zamberlan N, Gatti D, Asami S. Clinical utility of a wheat-germ precipitation assay for determination of bone alkaline phosphatase concentrations in patients with different metabolic bone diseases. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1995; 33: 433-439.
16. Sorensen S. Wheat-germ agglutinin method for measuring bone and liver isoenzymes of alkaline phosphatase assessed in postmenopausal osteoporosis. *Clin Chem* 1988; 34: 1636-1640.
17. Lems WF, Jacobs JWJ, Brink HR van, Rijn HJM van, Bijlsma JWJ. Transient decrease in osteocalcin and markers of type I collagen turnover during high-dose corticosteroid pulse therapy in rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol* 1993; 32: 787-789.
18. Masters PW, Jones RG, Purves DA, Cooper EH, Cooney JM. Commercial assays for serum osteocalcin give clinically discordant results. *Clin Chem* 1994; 40: 358-363.
19. Robins SP. Biochemical markers for assessing skeletal growth. *Eur J Clin Nutr* 1994; 48 (suppl. 1): S199-S209.
20. Delmas PD, Stenner D, Wahner HW, Mann KG. Increase in serum bone gamma-carboxyglutamic acid protein with aging in women. *J Clin Invest* 1983; 71: 1316-1321.
21. Mercuri N, Petraglia F, Genazzani AD, Amato F, Shherzi MR, Maietta Latessa A, De Leo V, et al. Hormonal treatments modulate pulsatile plasma growth hormone, gonadotrophin and osteocalcin levels in postmenopausal women. *Maturitas* 1993; 17: 51-62.

22. Melkko J, Niemi S, Risteli L, Risteli J. Radioimmunoassay of the carboxyterminal propeptide of human type I procollagen. *Clin Chem* 1990; 36: 1328-1332.
23. Risteli L. The carboxyterminal propeptide of procollagen type I (PICP) in serum and biological fluids. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 1990; 202: 143-146.
24. Hassager C, Risteli J, Risteli L, Jensen SB, Christiansen C. Diurnal variation in serum markers of type I collagen synthesis and degradation in healthy premenopausal women. *J Bone Miner Res* 1992; 7: 1307-1311.
25. Kroeger H, Risteli J, Risteli L, Penttila I, Alhava E. Serum osteocalcin and carboxyterminal propeptide of type I procollagen in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 1993; 52: 338-342.
26. Li F, Iqbal J, Wassif W, Kaddam IM, Moniz C. Carboxy-terminal propeptide of type I procollagen in osteomalacia. *Calcif Tissue Int* 1994; 55: 90-93.
27. Erdtsieck RJ, Pols HAP, Kuijk C van, Birkenhäger-Fenkel DH, Zeelenberg J, Kooy PPM, Mulder P, et al. Course of bone mass during and after hormonal replacement therapy with and without addition of nandrolone decanoate. *J Bone Miner Res* 1994; 9: 277-283.
28. Lems WF, Brink HR van, Gerrits MI, Rijn HJM van, Bijlsma JWJ. Effect of hormone replacement therapy on markers of bone metabolism in RA. *Ann Rheum Dis* 1993; 52: 835-838.
29. Lems WF, Gerrits MI, Jacobs JWJ, Vugt RM van, Rijn HJM van, Bijlsma JWJ. Effect of high-dose corticosteroid pulse therapy on bone metabolism in rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol* 1995; 34(suppl 1): 128(abstract)
30. Piovesan A, Berruti A, Osella G, Raucci CA, Torta M, Dogliotti L, Angeli A. Serum levels of carboxyterminal propeptide of type I procollagen in cancer patients with osteoblastic and osteolytic bone metastases. *Int J Biol Markers* 1994; 9: 243-246.
31. Tahtela R, Sorva R, Karonen SL. The aminoterminal propeptide of type I procollagen. *Scand J Clin Lab Invest* 1995; 55 (suppl 223): 880(abstract)
32. Seibel MJ, Raue F. Biochemische Marker des Knochenstoffwechsels und ihre Bedeutung bei der Osteoporose-Diagnostik. *Biochemical Markers of Bone Metabolism - Significance for Evaluation of Osteoporosis. Klin Lab* 1993; 39: 341-345.
33. Eastell R, Hampton L, Colwell A, Green JR, Assiri AMA, Hesp R, Russell RGG, et al. Urinary collagen crosslinks are highly correlated with radioisotopic measurements of bone resorption. In: Christiansen C, Overgaard K., eds. *Osteoporosis 1990 Copenhagen, Copenhagen: Osteopress, 1990: 469-470.*
34. Delmas PD, Schlemmer A, Gineyts E, Riis BJ, Christiansen C. Urinary excretion of pyridinoline crosslinks correlates with bone turnover measured on iliac crest biopsy in patients with vertebral osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1991; 6: 639-644.
35. Uebelhart D, Schlemmer A, Johansen JS, Gineyts E, Christiansen C, Delmas PD. Effect of menopause and hormone replacement therapy on the urinary excretion of pyridinium cross-links. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 72: 367-373.
36. Gertz BJ, Shao P, Hanson DA, Quan H, Harris ST, Genant HK, Chesnut CH, et al. Monitoring bone resorption in early postmenopausal women by an immunoassay for cross-linked collagen peptides in urine. *J Bone Miner Res* 1994; 9: 135-142.
37. Seyedin SM, Kung VT, Daniloff YN, Hesley RP, Gomez B, Nielsen LA, Rosen HN, et al. Immunoassay for urinary pyridinoline: The new marker of bone resorption. *J Bone Miner Res* 1993; 8: 635-641.
38. Robins SP, Woitge H, Hesley R, Ju J, Seyedin SM, Seibel MJ. Direct, enzyme-linked immunoassay for urinary deoxypyridinoline as a specific marker for measuring bone resorption. *J Bone Miner Res* 1994; 9: 1643-1649.
39. 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: 641-649.
40. Delmas PD, Gineyts E, Bertholin A, Garnero P, Marchand F. Immunoassay of pyridinoline crosslink excretion in normal adults and in Paget's disease. *J Bone Miner Res* 1993; 8: 643-648.
41. Fledelius C, Riis BJ, Overgaard K, Christiansen C. The diagnostic validity of urinary free pyridinolines to identify women at risk of osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 1994; 54: 381-384.
42. Engler H, Riesen WF. Are results obtained for free pyridinoline (PYD) and Desoxypyridinoline (DPD) comparable to those of total PYD, DPD? *Scand J Clin Lab Invest* 1995; 55 (suppl 223): 878(abstract)
43. 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.
44. Gerrits MI, Thijssen JHH, Rijn HJM van. Determination of pyridinoline and deoxypyridinoline in urine, with special attention to retaining their stability. *Clin Chem* 1995; 41: 571-574.
45. Eriksen EF, Charles P, Melsen F, Mosekilde L, Risteli L, Risteli J. Serum markers of type I collagen formation and degradation in metabolic bone disease: Correlation with bone histomorphometry. *J Bone Miner Res* 1993; 8: 127-132.
46. Risteli J, Elomaa I, Niemi S, Novamo A, Risteli L. Radioimmunoassay for the pyridinium cross-linked carboxy-terminal telopeptide of type I collagen: A new serum marker of bone collagen degradation. *Clin Chem* 1993; 39: 635-640.
47. Charles P, Mosekilde L, Risteli L, Risteli J, Eriksen EF. Assessment of bone remodeling using biochemical indicators of type I collagen synthesis and degradation: relation to calcium kinetics. *Bone Miner* 1994; 24: 81-94.
48. Elomaa I, Virkkunen P, Risteli L, Risteli J. Serum concentration of the cross-linked carboxyterminal telopeptide of type I collagen (ICTP) is a useful prognostic indicator in multiple myeloma. *Br J Cancer* 1992; 66: 337-341.
49. Sairanen S, Tahtela R, Laitinen K, Karonen SL, Valimaki MJ. Nocturnal rise in markers of bone resorption is not abolished by bedtime calcium or calcitonin. *Calcif Tissue Int* 1994; 55: 349-352.
50. Risteli J. European Patent EP 0 505 210; 1992.
51. Bonde M, Qvist P, Fledelius C, Riis BJ, Christiansen C. Immunoassay for quantifying type I collagen degradation products in urine evaluated. *Clin Chem* 1994; 40: 2022-2025.
52. Hassager C, Jensen LT, Podenphant J, Thomsen K, Christiansen C. The carboxy-terminal pyridinoline cross-linked telopeptide of type I collagen in serum as a marker of bone resorption: The effect of nandrolone decanoate and hormone replacement therapy. *Calcif Tissue Int* 1994; 54: 30-33.
53. Filipponi P, Pedetti M, Beghe F, Giovagnini B, Miam M, Cristallini S. Effects of two different bisphosphonates on Paget's disease of bone: ICTP assessed. *Bone* 1994; 15: 261-267.
54. Francini G, Gonnelli S, Petrioli R, Bruni S, Marsili S, Aquino A, Comporeale A. Procollagen type I carboxy-terminal propeptide as a marker of osteoblastic bone metastases. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention* 1993; 2: 125-129.
55. Kylmala T, Tammela T, Risteli L, Risteli J, Taube T, Elomaa I. Evaluation of the effect of oral clodronate on skeletal metastases with type I collagen metabolites. A controlled trial of the Finnish prostate cancer group. *Eur J Cancer* 1993; 29A: 821-825.



56. Hanson DA, Weis MAE, Bollen A, Maslan SL, Singer FR, Eyre DR. A specific immunoassay for monitoring human bone resorption: Quantitation of type I collagen cross-linked N-telopeptides in urine. *J Bone Miner Res* 1992; 7: 1251-1258.
57. Bollen A, Eyre DR. Bone resorption rates in children monitored by the urinary assay of collagen type I cross-linked peptides. *Bone* 1994; 15: 31-34.
58. Rosen HN, Dresner-Pollak R, Moses AC, Rosenblatt M, Zeind AJ, Clemens JD, Greenspan SL. Specificity of urinary excretion of cross-linked N-telopeptides of type I collagen as a marker of bone turnover. *Calcif Tissue Int* 1994; 54: 26-29.
59. Bell NH, Hollis BW, Shary JR, Eyre DR, Eastell R, Colwell A, Russell GG. Diclofenac sodium inhibits bone resorption in postmenopausal women. *Am J Med* 1994; 96: 349-353.
60. Lau KW, Onishi T, Wergedal JE, Singer FR, Baylink DJ. Characterization and assay of tartrate-resistant acid phosphatase activity in serum: Potential use to assess bone resorption. *Clin Chem* 1987; 33: 458-462.
61. Bonde M, Qvist P, Fledelius C, Juel B, Riis J, 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: 864-868.
62. Bettica P, Moro L, Robins SP, Taylor AK, Talbot J, Singer FR, Baylink DJ. Bone-resorption markers galactosyl hydroxylysine, pyridinium crosslinks, and hydroxyproline compared. *Clin Chem* 1992; 38: 2313-2318.
63. Reid DM. Methods of measurement of bone turnover and clinical evaluation of osteoporosis: relevance to asthma and corticosteroid therapy. *Resp Med* 1993; 87 (suppl. A): 9-14.
64. Grynepas M. Age and disease-related changes in the mineral of bone. *Calcif Tissue Int* 1993; 53 (suppl1): S57-S64.
65. Demers LM. Recent advances in biochemical markers of bone turnover [editorial]. *Clin Chem* 1994; 40: 1994-1995.
66. Hassager C, Jensen LT, Johansen JS, Riis BJ, Melko J, Podenphant J, Risteli L, et al. The carboxy-terminal propeptide of type I procollagen in serum as a marker of bone formation: The effect of nandrolone decanoate and female sex hormones. *Metabolism* 1991; 40: 205-208.
67. Price CP, Kirwan A, Vader C. Tartrate-resistant acid phosphatase as a marker of bone resorption [editorial]. *Clin Chem* 1995; 41: 641-643.
68. Jones RG, Cooper EH, Bury RF, Purves D, Whelan P. Prostate specific antigen (PSA), bone alkaline phosphatase (BAP) and deoxy-pyridinium crosslinks (PYD) as indicators of bone metastases in prostate cancer. *Clin Chem* 1995; 41: S227(Abstract)
69. Withold W, Khakzad H, Georgescu G, Heins M, Vosberg H, Mueller-Vaerther HW, Reinauer H. Simultaneous assessment of bone collagen synthesis and degradation for detection of bone metastases. *Clin Chem* 1995; 41: S227(Abstract)
70. Hayasaka A, Iida S, Ohto M. Serum concentrations of the pyridinoline cross-linked carboxy-terminal telopeptide of type I collagen in chronic liver disease. *Clin Chim Acta* 1995; 238: 85-90.

---

### Summary

*Bone metabolism: an overview of biochemical markers. Gerrits MI, Lems WF, Bijlsma JWJ, Thijssen JHH and Rijn HJM van. Ned Tijdschr Klin Chem 1996; 21: 184-192.*

Because the number of elderly people in the Netherlands increases, the amount of patients with osteoporosis also increases and therefore the interest in bone diseases and bone metabolism grows. Bone formation as well as bone resorption can be determined using biochemical markers in urine and blood. Well known bone formation markers to be determined in blood are total alkaline phosphatase and osteocalcin. Recently developed markers are C-terminal procollagen type 1 (P1CP), N-terminal procollagen type 1 (P1NP) and bone specific alkaline phosphatase (BAP).

A well-known urine marker for bone resorption is hydroxyproline. Other markers in urine are: Pyridinoline (Pyr), Deoxy-pyridinoline (Dpyr), N-telopeptide (1NTP), C-telopeptide (CTX) and Galactosyl hydroxylysine (GHYL). In serum it is possible to measure C-terminal crosslinked telopeptide of type I collagen (1CTP) and Tartrate resistant acid phosphatase (TRAP).

The present article supplies insight into the above mentioned markers and their relation to one another.

*Keywords: bone metabolism; bone formation markers; bone resorption markers; collagen*