

Eliminación urinaria de adenosín monofosfato cíclico e hidroxiprolina en pacientes con insuficiencia renal crónica dializados y no dializados*

A. Del Río Vázquez, H. Rico Lenza, M. T. D'Ocón Asensio,
R. M. Rentero Rodríguez, M. Puente Cueva y A. Charro Salgado **

Resumen

Aunque los mecanismos patogenéticos de la denominada osteodistrofia renal son complejos, parece evidente que la hiperfunción paratiroidea juega un papel importante en la génesis de este trastorno. La determinación de PTH inmunorreactiva en los urémicos ha mostrado notables elevaciones en los niveles séricos de la hormona. La PTH detectada por este procedimiento parece corresponder a diferentes fracciones, no todas con actividad biológica. Por ello, se ha intentado valorar el efecto de la hormona a través de parámetros indirectos, como la determinación de c-AMP en orina (efecto sobre el riñón), y la hidroxiprolinuria (acción sobre el hueso).

Diez pacientes con I.R.C. no dializados mostraron una eliminación urinaria de c-AMP muy inferior a la de 24 controles normales, y una hidroxiprolinuria más elevada (en mg por g de Cr en orina). Doce enfermos urémicos sometidos a hemodiálisis periódica, presentaron una notable disminución del c-AMP urinario, que resultó inferior al de los urémicos no tratados. La hidroxiprolina urinaria en mg/g Cr, resultó también significativamente elevada en este grupo de pacientes.

La utilidad de tales parámetros como indicadores de hiperfunción paratiroidea resulta muy cuestionable, dada la aparente incapacidad del riñón en estadio terminal para responder con síntesis de c-AMP al estímulo de la PTH, y la posibilidad de que el incremento en la HPR urinaria pueda ser debido a la disminución del catabolismo hepático del aminoácido en la uremia.

* Trabajo realizado con ayuda de la Fundación General Mediterránea.

** Hospital Clínico de S. Carlos. Facultad de Medicina. Universidad Complutense. Madrid.

Introducción

En los pacientes con insuficiencia renal crónica (I.R.C.) es frecuente la presencia de un conjunto de alteraciones óseas, tales como osteítis fibrosa, osteomalacia, osteoporosis u osteoesclerosis, o, en los niños, raquitismo y retraso del crecimiento; todas estas anormalidades suelen incluirse genéricamente bajo la denominación de osteodistrofia renal (1). La intensidad y predominio relativo de sus componentes varía considerablemente de unos a otros pacientes, posiblemente en relación con la edad de comienzo y la duración de la enfermedad renal, hábitos dietéticos y tratamientos recibidos (2), existiendo, además, diferencias geográficas en la incidencia relativa de hiperparatiroidismo y osteomalacia en los pacientes en hemodiálisis periódica (3, 4).

Aunque los mecanismos patogenéticos de la enfermedad ósea en los urémicos distan de estar aclarados, y parece evidente que se superponen diversas alteraciones metabólicas, existe la evidencia de que la hiperfunción paratiroidea juega un papel decisivo en la génesis de este proceso, en base a la presencia de datos directos o indirectos de hiperparatiroidismo (3). Los estudios radiográficos del esqueleto del urémico presentan frecuentemente signos de hiperactividad hormonal (5), la cual puede, asimismo, demostrarse mediante técnicas microrradiográficas (6).

Desde hace unos quince años, el desarrollo del radioinmunoanálisis de paratormona (PTH) (7) ha permitido determinar los niveles séricos de la hormona, que se han mostrado elevados en pacientes con reducción de la función renal (8, 9), especialmente en casos con I.R.C. avanzada, incluidos en programa de hemodiálisis (10). Los niveles plasmáticos de paratormona inmunorreactiva (PTH-i) alcanzan las máximas elevaciones en aquellos pacientes que se

dializan con baja concentración de calcio en el dializado (11), reduciéndose al incrementar ésta, siempre que se logren mantener próximos a la normalidad los niveles séricos de fosfato (12).

El radioinmunoanálisis de PTH, sin embargo, tropieza con ciertas dificultades técnicas y biológicas, tales como la naturaleza heteróloga del material de ensayo habitualmente utilizado (13), y la heterogenicidad de la PTH circulante en el hombre (14). Estos problemas pueden ser parcialmente resueltos mediante el empleo de antisueros capaces de reconocer diferentes regiones de los distintos péptidos circulantes (14, 15).

Se acepta que la PTH detectada por este procedimiento puede corresponder a tres fracciones de pesos moleculares diferentes: 9.500, 7.000 a 7.500, y 4.500 a 5.000 daltons. La primera y tercera conservan su porción aminoterminal y presentan actividad biológica, lo cual no ocurre con el segundo de los fragmentos (16). Se ha sugerido que parte de la PTH-i circulante en el plasma de pacientes urémicos podría corresponder a esta forma inactiva, cuya vida media plasmática es más prolongada, y que solamente un 10 o 15 % sería hormona biológicamente activa (14). Ello no quiere decir que se dude de la presencia de hiperparatiroidismo en la uremia, el cual guarda relación, sin duda, con una mayor secreción hormonal ante el estímulo hipocalcémico (17), así como probablemente también con una menor degradación de la hormona, que parece tener lugar fisiológicamente a nivel del riñón, al menos en un 50 % (18).

Cabe la posibilidad de valorar el efecto de la PTH a través de parámetros indirectos; así, se sabe que la actividad de esta hormona es mediada por el adenosín monofosfato cíclico (c-AMP), y que su acción sobre la corteza renal se asocia con notables incrementos de la eliminación urinaria de este nucleótido (19, 20). De esta forma, se ha aconsejado la cuantificación del c-AMP urinario como índice de la actividad hormonal en el hiperparatiroidismo (21, 22), y se ha resaltado su utilidad para el diagnóstico diferencial de los estados hipercalcémicos (23).

Por otra parte, la eliminación urinaria del aminoácido hidroxiprolina (HPR) suele considerarse como un índice de la actividad metabólica del colágeno, y especialmente del colágeno óseo (24), y que, en condiciones fisiológicas, su cuantía guarda relación con la magnitud de la masa ósea de cada sujeto (25). Se reconocen elevaciones significativas de la hidroxiprolinuria en aquellas afecciones que cursan con aumento de la reabsorción ósea (26), y muy especialmente en el hiperparatiroidismo (27). Se han señalado cambios en los valores plasmáticos y urinarios de hidroxiprolina en pacientes urémicos (28); ello podría relacionarse, quizás, con un mayor grado de reabsorción ósea a causa de la hiperac-

tividad paratiroidea (29), aunque cabe también la posibilidad de que refleje simplemente una alteración del metabolismo hepático de la HPR (30), o cambios cualitativos en la maduración del colágeno (31), en relación con el estado de insuficiencia renal.

En el presente trabajo se muestran los valores de c-AMP e hidroxiprolina en orina, en pacientes con I.R.C. dializados (12 casos), y no dializados (10 casos), comparándolos con los obtenidos en un grupo control de voluntarios sanos (24 casos), con objeto de establecer su posible utilidad para cuantificar el grado de hiperparatiroidismo secundario presente en la uremia.

Material y métodos

Se determinó la eliminación urinaria de c-AMP y de hidroxiprolina en pacientes urémicos no dializados (A), y dializados (B), así como en un grupo control de voluntarios sanos (C).

A) Pacientes urémicos no dializados

Este grupo estuvo constituido por 10 pacientes de edades comprendidas entre los 27 y 66 años (media de 44 años), de los que 4 eran varones y 6 hembras. El aclaramiento de creatinina de estos enfermos estaba comprendido entre 6 y 20 ml por minuto ($11,6 \pm 5,2$ ml/min). Todos ellos estaban sometidos a dieta hipoproteica (menos de 40 g al día de proteínas), y algunos hiposódica. Ninguno estaba sometido a medicación diurética o hipotensora.

B) Pacientes con I.R.C. sometidos a diálisis

Se trataba de 12 casos (5 varones y 7 mujeres) de edades entre 25 y 58 años (media de 39,5 años), con un aclaramiento de creatinina residual de 2,2 a 9,5 ml por minuto ($5,2 \pm 2,1$ ml por min.). Estos enfermos consumían una dieta normoproteica (60-70 g/día) y moderadamente hiposódica (unos 40 mEq/día de Na). Todos recibían suplementos de Ca y polivitamínicos, así como hidróxido de aluminio en diferente cantidad según los niveles séricos de fósforo.

Estos pacientes se dializaban dos veces por semana, durante 9 horas por sesión, en dializador de bobinas de 1 m² de superficie de diálisis. La orina para estudio fue recogida en las 24 horas previas al comienzo de una de las sesiones de tratamiento depurador.

C) Grupo control

Formado por 24 voluntarios sanos (12 varones y 12 hembras) de edades entre 21 y 53 años (media de 36,5 años), normalmente alimentados, y sin ninguna medicación. En todos ellos se des-

cartó la posibilidad de enfermedad ósea o del metabolismo calcio-fósforo mediante anamnesis y determinación analítica automatizada (ca, P, F.A.).

Todos los casos fueron sometidos a un régimen dietético, durante los 3 días previos a la determinación de laboratorio, exento de carne, pescado y gelatina, con objeto de evitar la hidroxiprolina exógena, haciéndose la recogida de la orina durante el tercero de tales días. Se procedió a la cuantificación de creatinina, hidroxiprolina y AMP cíclico en orina de 24 horas.

La determinación de creatinina fue realizada manualmente mediante la técnica habitual del picrato alcalino. La hidroxiprolina urinaria se midió mediante el procedimiento de Prockop y Udenfriend, como hemos detallado en otras publicaciones (25, 32). La cuantificación de c-AMP fue llevada a cabo de la forma previamente descrita (33).

Resultados

En la tabla I se muestran los valores de eliminación urinaria de creatinina (mg/24 h), hidroxiprolina (mg/24 h, y mg/g Cr), y c-AMP ($\mu\text{mol/g Cr}$), correspondientes al grupo control y a los pacientes urémicos dializados y no dializados.

La eliminación urinaria de creatinina en los controles normales fue de 1.292 ± 374 mg al día; los pacientes urémicos eliminaron 1.001 ± 221 mg al día, y los dializados 386 ± 227 mg/día.

La cuantía de hidroxiprolina en orina de 24 horas en los sujetos normales fue de $15,9 \pm 6,5$ miligramos; en los pacientes urémicos no dializados, la eliminación urinaria del aminoácido fue de $18,4 \pm 6,1$, superior a los controles, aunque las diferencias no son estadísticamente significativas. Los pacientes con I.R.C. sometidos a

hemodiálisis eliminaron diariamente $9,1 \pm 3,2$ miligramos de HPR, cantidad significativamente inferior a la de los controles normales ($p < 0,005$), y a la de los urémicos no dializados ($p < 0,001$).

Cuando se expresa la HPR en mg por g de Cr en orina, los valores normales resultaron ser de $12,2 \pm 3,9$ mg, siendo los de los urémicos de $19,0 \pm 6,0$, y en los pacientes dializados de $28,9 \pm 14,5$ mg. Ello significa una mayor eliminación urinaria en los pacientes urémicos que en los controles normales, siendo las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,001$). Por el contrario, las diferencias entre los pacientes dializados y no dializados no son significativas.

En cuanto a los valores de c-AMP en orina, los controles normales presentaron una cifra de $3,80 \pm 1,10$ $\mu\text{mol/g Cr}$. En los pacientes con I.R.C. no dializados, la eliminación del nucleótido fue muy baja ($0,87 \pm 0,43$ $\mu\text{mol/g Cr}$), significativamente inferior al control ($p < 0,001$). Los pacientes dializados eliminaron todavía menores cantidades, bordeando en ocasiones el límite inferior de la sensibilidad del método ($0,29 \pm 0,52$ $\mu\text{mol/g Cr}$); estos valores son significativamente inferiores a los normales ($p < 0,001$), y a los de los pacientes no dializados ($p < 0,002$).

Discusión

En los pacientes con I.R.C. existe la evidencia de hiperfunción paratiroidea, en relación con la hipersecreción de PTH (3), y probablemente también a causa de un déficit en la degradación renal de la misma (18, 34). El radioinmunoanálisis de PTH ha permitido comprobar repetidamente la existencia de niveles hormonales notablemente elevados en la uremia (7-12); sin embargo, las dificultades técnicas inherentes a esta determinación (13-15) permiten albergar ciertas dudas sobre si la totalidad del material detectado por este procedimiento corresponde a hormona biológicamente activa (14, 16), haciendo problemática la valoración del hiperparatiroidismo secundario.

Cabe la posibilidad de intentar cuantificar la actividad hormonal a través de algunos de sus efectos: la eliminación urinaria de hidroxiprolina como indicador de la actividad de la PTH sobre el hueso, y la de AMP cíclico, como consecuencia de su acción sobre el riñón.

Se han señalado modificaciones en la cuantía de la hidroxiprolinuria en pacientes con insuficiencia renal, con resultados dispares, habiéndose hallado elevada (27), normal (35) y disminuida (36). En nuestro estudio, los pacientes urémicos no dializados presentaron una hidroxiprolinuria superior a la de los controles normales; aunque las diferencias en valores absolutos no fueron estadísticamente significativas,

TABLA I

	CONTROL	I.R.C.	I.R.C.- Dialisis
N	24	10	12
Cr U. (mg/día)	1.292 (374)	1.001 (221)	386 (227)
HPR. (mg/día)	15,9 (6,5)	18,4 (6,1)	9,1* (3,2)
HPR. (mg/g Cr)	12,2 (3,9)	19,0* (6,0)	28,9* (14,5)
c-AMP ($\mu\text{mol/g Cr}$)	3,80 (1,10)	0,87* (0,43)	0,29* (0,52)

Valores de creatinina (mg al día), hidroxiprolina (mg al día, y mg por g de Cr), y c-AMP ($\mu\text{mol/g Cr}$), en orina, correspondientes a 24 sujetos normales, 10 pacientes urémicos no dializados, y 12 pacientes urémicos dializados.

* Cifras significativamente diferentes del control.

alcanzaron significación al ser expresadas como mg de HPR por g de Cr en orina ($p < 0,001$). Los pacientes sometidos a hemodiálisis presentan una eliminación urinaria de HPR muy baja, posiblemente a causa de la pérdida del aminoácido a través del dializador. Cuando se expresan los valores en mg de HPR por g de Cr en orina, resultan también significativamente más altos que los de los controles ($p < 0,001$).

La mayor parte de la hidroxiprolina urinaria se encuentra en forma de oligo- o polipéptidos, y sólo una pequeña fracción corresponde al aminoácido libre. El incremento de esta fracción de HPR libre en plasma y orina, parece ser la anormalidad más frecuente en la I.R.C. (37). Es aventurado, sin embargo, atribuir este aumento al hiperparatiroidismo de la uremia, y mucho más relacionarlo cuantitativamente con la intensidad del mismo, dado que puede explicarse simplemente por una disminución del catabolismo hepático de la HPR, recientemente demostrado en la uremia, por medio del empleo de hidroxiprolina- C^{14} (38). Se ha señalado recientemente el hallazgo, mediante técnicas cromatográficas, de un pico anormal de péptidos de la HPR en orina de pacientes urémicos, cuya intensidad parece relacionarse con el grado de insuficiencia renal y con la magnitud de las lesiones óseas (39). Es preciso establecer todavía si la presencia de tal fracción polipeptídica puede considerarse un índice útil de la existencia y del curso de la enfermedad ósea en la uremia.

La cantidad de AMP cíclico que aparece en la orina corresponde a dos diferentes fracciones: a) el nucleótido procedente de la filtración glomerular, y b) el originado a nivel del epitelio tubular, que guarda relación con los niveles de PTH circulantes (40). La cuantía de c-AMP en orina se ha utilizado como índice de la actividad de la hormona paratiroidea (19-22), aunque ello puede ser falso en algunas circunstancias. La determinación simultánea del aclaramiento de creatinina y del de c-AMP permite calcular la cantidad del nucleótido filtrada, y conocer así la correspondiente a la secreción tubular («c-AMP nefrogénico»). Este parámetro se relaciona estrechamente con los niveles circulantes de PTH, tanto en condiciones fisiológicas como de hiperfunción hormonal, incluso con reducciones de la función renal (41, 42). La forma más correcta de expresar el c-AMP nefrogénico sería en función del filtrado glomerular, de la siguiente manera:

$$\frac{(UcA \cdot V) - (PcA \cdot Ccr)}{Ccr} \times 100$$

En donde C, P, U y V significan los símbolos convencionales en los aclaramientos, cA significa c-AMP, y Ccr aclaramiento de creatinina. El nucleótido vendría así expresado en nanomoles por

100 ml de F. G. (43). El c-AMP calculado de esta forma parece correlacionarse con otros parámetros de hiperfunción paratiroidea, aun con reducciones discretas o moderadas de la función renal, pero cuando la filtración glomerular desciende a menos de 20 ml/min. parece perderse esta correlación (43).

Nuestros pacientes urémicos presentan una eliminación muy baja de c-AMP en orina, significativamente inferior a los controles, que todavía es más baja en los pacientes dializados. Ello tiene necesariamente que deberse a la disminución de las dos fracciones del nucleótido (la filtrada y la nefrogénica); la primera, sin duda, en relación con la reducción del filtrado glomerular, y la segunda, posiblemente a causa de la incapacidad del riñón para responder al estímulo de la PTH por la notable merma de la masa renal funcionante.

De esta manera, ni la determinación de HPR en orina (HPR total o libre), ni la de c-AMP, por distintos motivos, permiten la adecuada valoración del estado de hiperparatiroidismo en los pacientes urémicos dializados o no. En estas circunstancias, tales parámetros no parecen aportar nada a la determinación de la PTH por radioinmunoanálisis. De hecho, puede afirmarse que, en el momento presente, no se dispone de ningún procedimiento lo suficientemente sensible para cuantificar el desequilibrio hormonal, responsable, en gran medida, no sólo de la enfermedad ósea de la uremia (44, 45), sino probablemente también de una serie de anomalías metabólicas y otros trastornos que constituyen parte importante del síndrome urémico (46, 47).

Bibliografía

1. Del Río Vázquez, A., y Rico Lenza, H.: Osteodistrofia renal. An. Acad. Med. Quir. Esp. (en prensa).
2. Massry, S. G., y Coburn, J. W.: Renal Osteodystrophy. En: «Clinical disorders of fluid and electrolyte metabolism». Editado por Maxwell, M. H., y Kleeman, C. R., pág. 505. Segunda edición. MacGraw-Hill, Nueva York, 1972.
3. Stambury, S. W., y Lumb, G. A.: Parathyroid function in chronic renal failure: A statistical survey of the plasma biochemistry in azotaemic renal osteodystrophy. Quart. J. Med., 35:1, 1966.
4. Kleeman, C. R., Massry, S. G., Coburn, J. W., y Popovtzer, M. M.: Calcium and phosphorus metabolism and bone disease in uremia. Clin. Orth. Rel. Res., 68:210, 1970.
5. Meema, H. E., Rabinovich, S., Meema, S., Lloyd, G. J., y Oreopoulos, D. G.: Improved radiological diagnosis of azotemic osteodystrophy. Radiology, 102:1, 1972.
6. Jowsey, J., Massry, S. G., Coburn, J. W., y Kleeman, C. R.: Microradiographic studies on bone disease during regular hemodialysis. J. Lab. Clin. Med., 79:204, 1972.
7. Berson, S. A., Yalow, R. S., Aurbach, G. D., y Potts, J. T.: Immunoassay of bovine and human para-

- thyroid hormones. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 49:613, 1963.
8. Reiss, E., y Canterbury, J. M.: Genesis of hyperparathyroidism. *Amer. J. Med.*, 50:679, 1971.
 9. Arnaud, C. D.: Hyperparathyroidism in renal failure. *Kidney Int.*, 4:89, 1973.
 10. Johnson, W. J., Hattner, R. S., Hampers, C. L., Bernstein, D. S., Merrill, J. P., y Sherwood, L. M.: Secondary hyperparathyroidism in chronic renal failure. *J.A.M.A.*, 215:478, 1971.
 11. Johnson, W. J., Goldsmith, R. S., y Arnaud, C. D.: Prevention and treatment of progressive secondary hyperparathyroidism in advanced renal failure. *Med. Clin. N. Amer.*, 56:961, 1972.
 12. Goldsmith, R. S., y Johnson, W. J.: Role of phosphate depletion and high dialysate calcium in controlling dialytic renal osteodystrophy. *Kidney Int.*, 4:154, 1973.
 13. Potts, J. T. Jr., Murray, T. M., Peacock, M., Niall, H. D., Tregear, G. W., Keutmann, H. T., Powell, D., y Deftos, L. J.: Parathyroid hormone: Sequence, synthesis, immunoassay studies. *Amer. J. Med.*, 50:639, 1971.
 14. Silverman, R., y Yalow, R. S.: Heterogeneity of parathyroid hormone: Clinical and physiological implications. *J. Clin. Invest.*, 52:1958, 1973.
 15. Arnaud, C. D., Goldsmith, R. S., Bordier, P. J., Sizemore, G. W., Larsen, J. A., y Gilkinson, J.: Influence of immunoheterogeneity of circulating parathyroid hormone on results of radioimmunoassays of serum in man. *Amer. J. Med.*, 56:785, 1974.
 16. Canterbury, J. M., Levy, G. S., y Reiss, E.: Activation of renal cortical adenylate cyclase by circulating immunoreactive parathyroid hormone fragments. *J. Clin. Invest.*, 52:524, 1973.
 17. Parfitt, A. M.: Relation between parathyroid cell mass and plasma calcium concentration in normal and uremic subjects. *Arch. Intern. Med.*, 124:269, 1969.
 18. Avioli, L. V., y Teitelbaum, S. L.: The renal Osteodystrophys. En: «The Kidney», editado por Brenner, B. M., y Rector, F. C. Jr.; pág. 1542; Saunders Co., Filadelfia, 1976.
 19. Waminsky, N. I., Broadus, A. E., Hardman, J. G., Jones, D. J. Jr., Ball, J. H., Sutherland, E. W., y Liddle, G. W.: Effects of parathyroid hormone on plasma and urinary adenosine 3'-5'-monophosphate in man. *J. Clin. Invest.*, 49:2387, 1970.
 20. Scurry, M. T., y Pauk, G. L.: Renal tubular localization of parathyroid hormone induced urinary cyclic adenosine-3'-5'-monophosphate. *Acta Endocrinol.*, 77:282, 1974.
 21. Neelon, F. A., Drezner, M., Birch, B. M., y Lebovitz, H. E.: Urinary cyclic adenosine monophosphate as an aid in the diagnosis of hyperparathyroidism. *Lancet*, 1:631, 1973.
 22. Mallette, L. E., Bilezikian, J. P., Heath, D. A., y Aurbach, G. D.: Primary hyperparathyroidism: Clinical and biochemical features. *Medicine (Balt.)*, 53:127, 1974.
 23. Pak, C. Y. C., Kaplan, R., Bone, H., Townsend, J., y Waters, O.: A simple test for the diagnosis of absorptive, resorptive and renal hypercalciurias. *New Eng. J. Med.*, 292:497, 1975.
 24. Dull, A. T., y Hanneman, P. H.: Urinary hydroxyproline as an index of collagen turnover. *New Eng. J. Med.*, 286:132, 1963.
 25. Rico, H., Del Río, A., Lozano, C., y Espinós, D.: Correlación entre excreción urinaria de hidroxiprolina y masa ósea en controles normales. *Med. Clin. (Barcelona)*, 69:540, 1977.
 26. Prockop, D. J., y Kivirikko, K. I.: Relationship of hydroxyproline excretion in urine to collagen metabolism. *Biochemistry and clinical applications. Ann. Intern. Med.*, 66:1243, 1967.
 27. Johnston, N. G., Lee, C. A., y Lloyd, H. M.: Urinary hydroxyproline and the bone in primary and secondary hyperparathyroidism. *Metabolism*, 15:1084, 1966.
 28. Bishop, M. C., y Smith, R.: Non-protein bound hydroxyproline in plasma in renal bone disease. *Clin. Chim. Acta*, 33:403, 1971.
 29. Nichols, G. Jr., Flanagan, B., Van der Sluys Veer, J., Johnson, J. W., Hampers, C. L., y Merrill, J. P.: Metabolic studies of bone in uremia before and after treatment. *Metabolism*, 21:317, 1972.
 30. Avioli, L. V., Sharp, C., y Birge, S. J.: Catabolism of free hydroxyproline in chronic uremia. *Amer. J. Physiol.*, 217:536, 1969.
 31. Russel, J. E., y Avioli, L. V.: Effect of progressive end-stage renal insufficiency on bone mineral-collagen maturation. *Kidney Int.*, suppl. 2:97, 1975.
 32. Rico, H., Lozano, C., Del Río, A., y Espinós, D.: Estudio de la eliminación urinaria de hidroxiprolina en personas normales. *Biométrica*, 2:17, 1977.
 33. Puente, M., Charro, A., y López del Campo, G.: Determinaciones plasmáticas de c-AMP y sus aplicaciones a la clínica humana. *Biométrica*, en prensa.
 34. Singer, F. R., Serge, G. V., Habener, J. F., y Potts, J. T.: Peripheral metabolism of parathyroid hormone. *Clin. Res.*, 21:255, 1973.
 35. Lee, C. A., y Lloyd, H. M.: Urinary hydroxyproline in diseases involving bone and calcium metabolism. *Med. J. Austral.*, 1:992, 1964.
 36. Laitinen, O., Nikkila, E. A., y Kivirikko, K. I.: Hydroxyproline in the serum and urine. *Acta Méd. Scand.*, 179:275, 1966.
 37. Hart, W., Duursma, S. A., Visser, V. J., y Nijio, L. K. F.: The hydroxyproline content of plasma of patients with impaired renal function. *Clin. Nephrol.*, 4:104, 1975.
 38. Hart, W., Van den Hamer, C. J. A., y Van der Sluys Veer, J.: The use of hydroxy-DL-proline-2-C¹⁴ in the investigation of hydroxyproline metabolism in normal subjects and in patients with renal insufficiency. *Clin. Nephrol.*, 6:379, 1976.
 39. Dubovsky, J., y Meyer, R. D.: Abnormal hydroxyproline polypeptides in the urine of patients with chronic uremia. *Nephron*, 17:20, 1976.
 40. Broadus, A. E., Kaminsky, N. I., Hardman, J. G., Sutherland, E. W., y Liddle, G. W.: Kinetic parameters and renal clearances of plasma adenosine 3',5'-monophosphate and guanosine 3',5'-monophosphate in man. *J. Clin. Invest.*, 49:2222, 1970.
 41. Babka, J. C., Bower, R. H., y Sode, J.: Nephrogenous cyclic AMP levels in primary hyperparathyroidism. *Arch. Intern. Med.*, 136:1140, 1976.
 42. Llach, F., Massry, S. G., Singer, F. R., Kurokawa, K., Kaye, J. H., y Coburn, J. W.: Skeletal resistance to endogenous parathyroid hormone in patients with early renal failure. A possible cause for secondary hyperparathyroidism. *J. Clin. Endocrin. Metab.*, 41:339, 1975.
 43. Broadus, A. E., Mahaffey, J. E., Bartter, F. C., y Neer, R. M.: Nephrogenous cyclic adenosine monophosphate as a parathyroid function test. *J. Clin. Invest.*, 60:771, 1977.
 44. Del Río Vázquez, A.: La osteodistrofia renal y la masa ósea en los pacientes sometidos a hemodiálisis periódica. *Gal. Clin.*, 49:421, 1977.
 45. Del Río, A., Rico, H., Carrera, F., Torrente, J., D'Ocón, M. T., y Espinós, D.: Metacarpal cortical thickness in uremic patients on regular hemodialysis. *Nephron*, en prensa.
 46. Massry, S. G.: Is parathyroid hormone a uremic toxin? *Nephron*, 19:125, 1977.
 47. Del Río, A., Rico, H., Carrera, F., y Espinós, D.: Transcendencia del hiperparatiroidismo secundario en la uremia crónica. *Arch. Fac. Med. (Madrid)*, en prensa.