



Menopoz sonrası erken ve geç dönemde osteoporoz değerlendirilmesi: Kemik mineral yoğunluğu ile kemik döngüsü belirteçleri arasındaki ilişki

Evaluation of osteoporosis in early and late postmenopausal women: correlations between bone mineral density and bone turnover markers

Didem L. Kozacı,¹ Ş. Öner Şavk,² İlhan Özkan,² Emre Çullu,² Bülent Alparslan,² Yakup Yürekli,³ Pınar Okyay⁴

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, ¹Biyokimya Anabilim Dalı, ²Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, ³Nükleer Tıp Anabilim Dalı, ⁴Halk Sağlığı Anabilim Dalı

Amaç: Bu çalışmada menopoz sonrası erken ve geç dönemde kemik mineral yoğunluğu (KMY) ile kemik döngüsünü gösteren biyokimyasal belirteçler arasındaki ilişki araştırıldı.

Olgular ve yöntemler: Çalışmaya, kemik metabolizmasını etkileyen herhangi bir hastalığı olmayan ve kemik döngüsünü etkileyecek tıbbi bir tedavi görmeyen menopoz geçirmiş 64 kadın (ort. yaş 56.5; dağılım 41-75) alındı. Olgular 41-60 yaşları arasında olanlar (n=40) ve 60 yaşından büyük olanlar (n=24) şeklinde iki gruba ayrıldı. Menopozdan sonra geçen süre grup 1'de ortalama 5.3 yıl, grup 2'de 16.7 yıl idi. Tüm olgularda serum östrojen, progesteron, parathormon, osteokalsin ve idrar deoksipridinolin (DPD) düzeyleri ölçüldü. Ayrıca, tip I kollajenin alfa 1 zincirinde serum C-terminal telopeptit (CTx), kalsiyum ve alkalen fosfataz düzeyleri ölçüldü. Kemik mineral yoğunluğu ölçümü dual enerjili X-ray absorpsiyometre (DEXA) ile yapıldı.

Bulgular: Serum osteokalsin düzeyi, serum CTx ve idrar DPD değerleri arasında pozitif korelasyon bulundu. Femur boynu KMY ölçümü yaş ile negatif korelasyon gösterirken, omurga ölçümünde bu korelasyon yoktu. Kemik döngüsü belirteçleri her iki grupta benzer düzeylerdeydi.

Sonuç: Özellikle yıkım ürünleri olmak üzere, KMY belirteçleri ile KMY analizlerinin birlikte değerlendirilmesi, kemik döngüsünün hızı ve menopoz sonrası erken dönemde yıkım hızını göstermesi açısından değerli olabilir.

Anahtar sözcükler: Alkalen fosfataz/kan; biyolojik belirteç/kan/idrar; kemik yoğunluğu/fizyoloji; osteokalsin/kan; osteoporoz, menopoz sonrası/tanı/fizyopatoloji.

Objectives: The aim of this study was to seek correlations between bone mineral density (BMD) and biochemical markers of bone turnover during early and late postmenopausal period.

Materials and methods: The study included 64 postmenopausal women (mean age 56.5 years; range 41 to 75 years) who did not have any disease or receive treatment that might affect bone metabolism and bone turnover, respectively. The participants were divided into two age groups, namely 41 to 60 years of age (n=40), and beyond 60 years of age (n=24). The mean postmenopausal period was 5.3 years in group 1, and 16.7 years in group 2. Serum levels of estrogen, progesterone, parathormone, osteocalcin, and urinary deoxypridinoline (DPD) were measured and serum C-terminal telopeptide of the alpha-1 chain of type I collagen (CTx), calcium, and alkaline phosphatase levels were determined. Analysis of BMD was made by a dual-energy x-ray absorptiometry (DEXA) densitometer.

Results: Positive correlations were found between serum osteocalcin, serum CTx, and urinary DPD. A negative correlation with age existed for BMD of the femoral neck, but not for BMD of the spine. Concentrations of bone turnover markers were similar in both groups.

Conclusion: Incorporation of bone turnover markers, in particular bone resorption markers into BMD analysis might be more useful in assessing bone turnover and bone loss rates at an earlier stage in postmenopausal osteoporosis.

Key words: Alkaline phosphatase/blood; biological markers/blood/urine; bone density/physiology; osteocalcin/blood; osteoporosis, postmenopausal/diagnosis/physiopathology.

• Geliş tarihi: 09.05.2005 Kabul tarihi: 26.05.2005

• İletişim adresi: Dr. Ş. Öner Şavk, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, 09100, Aydın.
Tel: 0256 - 225 74 01 Faks: 0256 - 214 64 95 e-posta: osavk@hotmail.com

• (Kozacı, Yürekli, Okyay) Yrd. Doç. Dr.; (Şavk, Özkan, Çullu) Doç. Dr.; (Alparslan) Prof. Dr.

Osteoporoz kırıklara ve fonksiyon kaybına yol açabilen, düşük kemik kütlesi ve kemik dokuda yapısal değişikliklerle seyreden kronik ve ilerleyici bir hastalıktır.^[1] Osteoporozun klinik önemi, kemik kırılabilirliğini artırarak morbitide ve bunun getirdiği ekonomik kayıpların oluşmasıdır.^[2] Irk, kalıtım, diyet ve fiziksel aktivite osteoporozun patogeneğinde rol oynar.^[3,4] Hastalığın gelişiminde en önemli faktörler yaş ve hormonal değişikliklerdir. Kadın ve erkek seks hormonları, osteoklastların aktivitesini inhibe ederek ve osteoblastların yeni kemik yapımını uyararak kemik kaybını önler.^[5] Kadınlarda menopoz döneminde over fonksiyonlarının durması ve östrojen yapımının kesilmesi, yaşla bağlantılı olarak kemik kaybını hızlandırır ve osteoporozun şiddetini artırır.^[6,7]

Kemik döngüsünü gösteren biyokimyasal belirteçler kemik kaybı konusunda değerli bilgiler vermesine karşın osteoporoz hastalığına spesifik değildir.^[8,9] Tip I kollajenin alfa 1 zincirinde N ve C terminal (CTx) telopeptitlerine karşı olan antikolar, kemik metabolizmasını gösteren ve yaygın kullanılan belirteçlerdendir.^[10] Kemik döngüsünün hızını ve osteoporozun ilerlemesini gösteren bir başka belirteç de osteokalsindir.^[11] Kemik döngüsünün hızı Paget hastalığı, hipertiroidi, primer hiperparatiroidi, osteomalazi, osteoporoz gibi durumlarda da artar.^[12,13]

Kemik mineral yoğunluğu ölçümü (KMY) azalan kemik kütlesini ve osteoporozun seviyesini saptamada kullanılan girişimsel olmayan bir yöntemdir ve KMY değerleri ile kırık riski ilişkilidir.^[14] Kemik mineral yoğunluğu kemik döngüsündeki değişiklikleri osteoporoz başladıktan ancak bir yıldan sonraki dönemde gösterir.^[15] Oysa, biyokimyasal belirteçler bunu dört-altı haftalık süreç içinde gösterilebilir. Böylece, tedavinin düzenlenmesi ve tedavi sonuçları için geçen süre kısalır.

Bu çalışmada iki soruya yanıt aranmıştır: (i) Menopoz sonrası (erken ve/veya geç) dönemde KMY ile kemik döngüsünü gösteren biyokimyasal belirteçlerden östrojen, progesteron, parathormon, osteokalsin, deoksipridinolin (DPD), kalsiyum, alkalen fozfat (ALP), kreatinin ve C-terminal telopeptit (Ctx) arasında korelasyon var mı? (ii) Menopoz sonrası (erken ve/veya geç) dönemde KMY ile birlikte hangi biyokimyasal belirteç osteoporoz derecesini ortaya koymada yardımcı olur?

OLGULAR VE YÖNTEMLER

Çalışmaya menopoz geçirmiş 64 kadın (ort. yaş 56.5; dağılım 41-75) alındı. Bu olguların hiçbirinin öyküsünde kemik metabolizmasını etkileyen herhangi bir hastalık yoktu ve hiçbiri kemik döngüsünü etkileyecek tıbbi bir tedavi görmüyordu. Çalışma öncesinde bilgilendirme yapıldı, çalışmaya katılma konusunda olurları alındıktan sonra, olgular yaşlarına göre iki gruba ayrıldı. Grup 1, 41-60 yaşları arasındaki (n=40), grup 2 ise 60 yaştan büyük olan (n=24) olgulardan oluştu. Altmış yaş sınırı diğer çalışmalarla daha kolay kıyaslanması için tercih edildi.^[16,17]

Tüm idrar ve kan örnekleri aç karnına sabah saat 9.00 ile 10.00 arasında alındı. Örnekler yedi dakika süreyle 1000 g'de santrifuj edildi. Serum ve idrar örneklerinin bir kısmı hemen analiz edildi. Serum östrojen (E; pg/ml), progesteron (PROG; pg/ml), parathormon (PTH; pg/ml), osteokalsin (OC; pg/ml) ve idrar DPD konsantrasyonları IMMULITE ve IMMULITE 2000 (BIO-DPC) otoanalizör sistemleriyle ölçüldü. Referans değer aralıkları literatürde bildirilen değerlere göre belirlendi.^[18] Menopoz sonrası dönemde kadınlarda hormon replasman tedavisi olmaksızın östrojen konsantrasyonu 30 pg/ml'den, progesteron seviyeleri 0.1 ng/ml'den düşüktür. Referans değerler parathormon için 12-72 pg/ml, OC için menopoz öncesinde 0.4-8.2 ng/ml olarak kabul edildi. İdrar DPD değerleri için DPD (nM)/idrar kreatinin (mM) oranı alındı. Menopoz öncesi DPD değer aralığı referans olarak alındı (3-7.4 nM/mM kreatinin). Kan kalsiyum (mg/ml) düzeyi, alkalen fozfat (UL) ve idrar kreatinin değerleri kolorimetrik yöntemle IL-Lab 900 otoanalizör sistemi kullanılarak ölçüldü.

Serum CTx değerleri enzim immünoassay yöntemi kullanılarak ölçüldü (Serum CrossLaps ELISA, Osteometer, Danimarka). CTx miktarı, tip I kollajenin C-terminal telopeptidindeki EKAHD-β-GGR dizilimini tanıyan monoklonal bir antikor kullanılarak saptandı. CTx için menopoz öncesindeki kadınlar için kabul edilen değer aralığı (2.3±1.1 nM) referans alındı.

Kemik mineral yoğunluğu, proksimal femur ve omurga L₁-L₂ seviyelerinden, dual energy X-ray absorptiometri (DEXA) (Hologic, Qdr 4000 densitometer, Bedford, MA, ABD) yöntemiyle ölçüldü.

Gruplar arasındaki değerlendirme Mann-Whitney U-testi ve tek örnekli t-test kullanılarak yapıldı.

di. Değişkenler arasındaki korelasyon Pearson testi ile hesaplandı. Veri analizi SPSS paket programı kullanılarak yapıldı. P değerinin 0.05'ten küçük olması anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Menopozdan sonra geçen süre grup 1'de ortalama 5.3±0.9 yıl, grup 2'de 16.7±1.6 yıldır. Grup 1 ve 2 arasında, hastaların boy ve kiloları açısından anlamlı farklılık yoktu.

Menopoz sonrası kadınlarda ölçülen hormon ve biyokimyasal belirteçlerin düzeyleri Tablo I'de gösterildi. Serum östrojen düzeyleri grup 1'de 38.1±6.2 pg/ml, grup 2'de 26±2.6 pg/ml idi. Serum progesteron düzeyleri ise grup 1'de 1.3±0.5 ng/ml, grup 2'de 0.2±0.1 ng/ml bulundu. Parathormon düzeyleri, menopoz öncesi kadınların referans değeri olan 12-72 pg/ml ile karşılaştırıldığında her iki grupta artmış bulundu (grup 1'de 79.3±7.0 pg/ml, grup 2'de 81.0±7.2 pg/ml).

Alkalen fosfataz düzeyleri grup 1'de 81.1±4.2 U/l, grup 2'de 91±7.8 U/l ölçüldü. Bu değerler 50 yaşından genç kadınlar için belirlenen ALP referans değerinin (40-111 U/l) üst sınırına yakındır.^[19] İki grup arasında ALP değeri açısından anlamlı farklılık yoktu (Tablo I).

Osteokalsin ve CTx değerleri grup 1'de menopoz öncesi referans değerleriyle karşılaştırıldığın-

da anlamlı olarak yüksekti (p<0.001, Tablo I). Grup 2'de ise, menopoz öncesi referans değerleri ile karşılaştırıldığında CTx değeri anlamlı olarak yüksek iken (p<0.02), OC değeri için fark anlamlı değildi. İdrar DPD düzeyleri her iki grup için de anlamlı sonuç vermedi. Menopoz öncesi referans değerleriyle karşılaştırıldığında, DPD değeri iki grupta da hafif bir yükselme gösterse de, bu fark anlamlı değildi (Tablo I). Kemik döngüsünü gösteren biyokimyasal belirteç değerleri açısından iki grup arasında anlamlı farklılık izlenmedi (Tablo I).

Femur boynundan yapılan KMY ölçümleri ile yaş arasında negatif bir korelasyon görüldü (r=-0.358, p<0.05, Tablo II). Menopoz yaşı ile omurga (r=-0.357, p<0.01) ve femurdan (r=-0.249, p<0.05) yapılan KMY ölçümleri arasında da negatif korelasyon vardı. Omurga ve femur boynundan yapılan KMY ölçümleri arasında pozitif korelasyon saptandı (r=0.301, p<0.01). Serum ALP değerleri, femur boynundan yapılan KMY ölçümleri ile negatif (r=-0.238; p<0.05), yaş ile pozitif korelasyon (r=0.263, p<0.05) gösterdi. Kemik mineral yoğunluğu ölçümü ile diğer spesifik kemik turnover belirteçleri arasında herhangi bir korelasyon saptanmadı. Serum OC düzeyi ile serum CTx (r=0.665, p<0.01) ve idrar DPD (r=0.379, p<0.01) düzeyleri arasında pozitif korelasyon izlendi. Ayrıca, kemik rezorbsiyon belirteçleri olan serum CTx ve idrar

TABLO I

Menopoz sonrası kadınlarda kemik döngüsü biyokimyasal belirteçleri ve kemik mineral yoğunluğu ölçümleri

| | Grup I (41-60 yaş) | Grup II (60 yaş ve üstü) | Referans aralığı |
|-------------------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------------------|
| Olgu sayısı | 40 | 24 | |
| Yaş | 51.5±0.6 | 64.8±1.0 | |
| Boy (cm) | 158.5±0.9 | 158.4±1.8 | |
| Kilo (kg) | 69.9±2.8 | 74.1±3.9 | |
| Menopoz sonrası süre (yıl) | 5.3±0.9 | 16.7±1.6 | |
| Östrojen (pg/ml) | 38.1±6.2 | 26.0±2.6 | <30 (Menopoz sonrası) |
| Progesteron (ng/ml) | 1.3±0.5 | 0.2±0.1 | <0.1 (Menopoz sonrası) |
| Parathormon (pg/ml) | 79.3±7.0 | 81.0±7.2 | 12-72 (Menopoz sonrası) |
| Alkalen fosfataz (U/L) | 81.1± 4.2 | 91±7.8 | 28-78 (≤50 yaş) 40-111 (>50 yaş) |
| Kalsiyum (mg/dl) | 9.0±0.1 | 9.2±0.1 | 8.4-10.2 |
| Osteokalsin (ng/ml) | 11.6±0.8 ^[a] | 10.3±1.2 | 0.4-8.2 (Menopoz öncesi) |
| Deoksiipridinolin/kreatinin (nM/mM) | 8.7±1.3 | 9.4±1.1 | 3-7.4 (Menopoz öncesi) |
| C terminal (nM) | 3.3±0.3 ^[a] | 3.2±0.4 ^[b] | 2.3±1.1 (Menopoz öncesi) |
| Omurga (g/cm ²) | 0.9±0.1 | 0.8±0.0 ^[c] | |
| Femur boynu (g/cm ²) | 0.7±0.2 | 0.6±0.0 ^[d] | |

[a] p<0.001 ve [b] p<0.02 – referans aralık üst değeri ile karşılaştırma; [c] p<0.02 ve [d] p<0.01 – iki grubun karşılaştırılması.

DPD değerleri arasında da pozitif korelasyon vardı (r=0.498; p<0.01, Tablo II).

TARTIŞMA

Çalışmamızda yaş ve femur boynu KMY değeri arasında negatif bir korelasyon saptandı. Ayrıca, femur boynu ve lomber KMY ölçümleri ile menopoz yaşı arasında negatif bir korelasyon vardı. Garcia-Perez ve ark.nın^[18] yaptığı benzer bir çalışmada da, yaş ile femur boynunda azalan KMY arasındaki korelasyon çalışmamızla uyum gösterirken, lomber bölgedeki sonuçlar uyumlu bulunmadı. İki çalışma arasındaki bulguların farklılığı çalışmalara alınan kişilerin yaşları ve menopoz sonrası geçen sürelerle bağlı olabilir.^[18] Femur boynundan yapılan ölçümler yaşla ilişkili olabilir ve menopoz öncesi oluşan olaylardan da etkilenir. Omurga KMY'sinin ise daha çok menopoz süresi ve menopoz dönemindeki olaylardan etkilendiği düşünülmektedir.

Kemik kütlelerini ve zamanla kemik yoğunluğundaki azalmayı gösteren en iyi belirtecin dansitometre olduğu bildirilmiştir.^[15] Ne var ki, KMY'nin kemik kaybında anlamlı azalmayı göstermesi için zaman içinde ardışık ölçümler gerekir. Halbuki, biyokimyasal belirteçler kemik metabolizmasındaki değişiklikleri daha erken ortaya koyar. Biyokimyasal kemik döngüsüyle ilgili birçok belirtece ait değerlerin menopozdan sonra, kemik döngüsü hızının artmasına bağlı olarak arttığı gösterilmiştir.^[9,20,21] Bu belirteçler yüksek osteoporotik kırık riskiyle de korelasyon göstermektedir. Yine de, idrarda bakılan DPD gibi testlerin bazı sakıncaları vardır. Bunlar, alınan sıvı, çıkarılan idrar miktarı veya çeşitli ilaçlardan ve renal klirens oranı ve

diğer patolojilerden etkilenebilir. Bu nedenle, hasta serumunda CTx miktarının ölçülmesinin kemik döngüsü hakkında daha sağlıklı sonuç vereceğini düşünüyoruz. Menopoz sonrası dönemde kadınlarda, artan kemik hızıyla birlikte kemik kaybının da arttığı bildirilmiştir.^[9,20,21] Çalışmamızda, serum CTx ve OC konsantrasyonları erken menopoz grubunda daha yüksek bulundu; ancak, gruplar arasında anlamlı fark yoktu. Deoksiipridinolin düzeyleri grup 2'de hafif yüksek olmasına karşın, bu fark anlamlı değildi. Bununla birlikte, iki rezorbsiyon belirteci (CTx ve OC) arasında güçlü bir ilişki bulundu. Ayrıca, kemik oluşumu belirteçleri ve OC arasında da korelasyon izlendi (Tablo II). Bu bulgular, tek bir rezorbsiyon belirteci ölçümünün kemik döngüsünün son durumunu göstermede yeterli olabileceğini desteklemektedir.^[11]

Çalışmamızda, kemik döngüsünü gösteren biyokimyasal belirteçler ile KMY sonuçları arasında korelasyon olmadığı izlendi (Tablo II). Kemik mineral yoğunluğu sonuçları menopoz yaşıyla ilişkilirken, biyokimyasal değerlerle ilişkili değildi (Tablo II). Grup 1'de menopoz sonrası süre 5.3±0.9 yıl idi. Menopoz sonrası erken dönemde artan kemik turnover nedeniyle, CTx ve OC değerleri menopoz öncesi referans değerleriyle kıyaslandığında grup 1'de anlamlı derecede yüksek bulundu (Tablo I). Gerçekten de, kemik kaybı oranı menopoz sonrası erken dönemde, daha sonraki yıllara göre en yüksek düzeydedir.^[22] Osteoporozu erken evrelerde belirlemek için kullanılan tekniklere herhangi bir komplikasyon gelişmeden önce başvurulmalıdır. Osteoporozda tedavi ve/veya koruma stratejileri yüksek riskli kişileri kapsamalıdır. Yeni geliştirilen yöntemlerle, dört-altı hafta gibi kısa bir

TABLO II

Menopoz sonrası kadınlarda hasta karakteristikleri, biyokimyasal belirteçler ve KMY ölçümleri arasında bulunan korelasyonlar

| | PROG | CTx | DPD | ALP | KMY femur boynu | Menopoz yaşı | Yaş |
|------------------------|---------|---------|---------|---------|-----------------|--------------|---------|
| Östrojen | 0.328** | — | — | — | — | — | -0.286* |
| Progesteron (PROG) | — | — | — | — | 0.341** | — | -0.264* |
| Osteokalsin | — | 0.665** | 0.379** | — | — | — | — |
| C terminal (CTx) | — | — | 0.498** | 0.318** | — | — | — |
| Kalsiyum | — | — | — | — | -0.358** | — | — |
| Alkalen fosfataz (ALP) | — | — | — | — | -0.238* | 0.358** | 0.263* |
| KMY omurga | — | — | — | — | 0.301** | -0.357** | — |
| KMY femur boynu | — | — | — | — | — | -0.249* | -0.358* |
| Menopoz yaşı | — | — | — | — | — | — | 0.740* |

*: Korelasyon katsayısı (r) *0.05 ve **0.01 değerlerinde anlamlı. DPD: Deoksiipridinolin; KMY: Kemik mineral yoğunluğu.

süre içinde antirezorbtif tedavinin etkinliğini değerlendirmek mümkün olacak ve tedavi sırasında oluşabilecek yan etkiler önlenebilecektir.

Sonuç olarak, osteoporoz derecesinin değerlendirilmesinde ve kemik yoğunluğunu koruyucu tedavinin etkinliğinin izlenmesinde, KMY ile biyokimyasal kemik döngüsü belirteçlerinin birlikte kullanılması uygun olacaktır. Kemik oluşumu ve rezorbsiyonuna ait belirteçler arasında sıkı bir ilişki bulunduğundan, kemik döngüsündeki değişikliği saptamada kemik döngüsü belirteçlerinden, özellikle de rezorbsiyon belirteçlerinden biri kullanılabilir. Böyle bir yaklaşım ulusal sağlık giderlerini de azaltacaktır.

KAYNAKLAR

1. Torgerson D, Gosden T, Reid D. The economics of osteoporosis prevention. *Trends Endocrinol Metab* 1997;8:236-9.
2. Johnell O. The socioeconomic burden of fractures: today and in the 21st century. *Am J Med* 1997;103(2A): 20S-25S.
3. Frost HM. The role of changes in mechanical usage set points in the pathogenesis of osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1992;7:253-61.
4. Weaver CM, Teegarden D, Lyle RM, McCabe GP, McCabe LD, Proulx W, et al. Impact of exercise on bone health and contraindication of oral contraceptive use in young women. *Med Sci Sports Exerc* 2001;33: 873-80.
5. Sarrel PM. Androgen deficiency: menopause and estrogen-related factors. *Fertil Steril* 2002;77 Suppl 4:S63-7.
6. Hadjidakis DJ, Kokkinakis EP, Sfakianakis ME, Raptis SA. Bone density patterns after normal and premature menopause. *Maturitas* 2003;44:279-86.
7. Sirola J, Kroger H, Honkanen R, Jurvelin JS, Sandini L, Tuppurainen MT, et al. Factors affecting bone loss around menopause in women without HRT: a prospective study. *Maturitas* 2003;45:159-67.
8. Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover. *J Bone Miner Res* 1993;8 Suppl 2:S549-55.
9. Delmas P. Biochemical markers for the assessment of bone turnover. In: Riggs BL, Melton LJ 3rd, editors. *Osteoporosis: etiology, diagnosis and management*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1995. p. 319-33.
10. Kawana K, Takahashi M, Hoshino H, Kushida K. Comparison of serum and urinary C-terminal telopeptide of type I collagen in aging, menopause and osteoporosis. *Clin Chim Acta* 2002;316:109-15.
11. Ross PD, Knowlton W. Rapid bone loss is associated with increased levels of biochemical markers. *J Bone Miner Res* 1998;13:297-302.
12. Demiaux B, Arlot ME, Chapuy MC, Meunier PJ, Delmas PD. Serum osteocalcin is increased in patients with osteomalacia: correlations with biochemical and histomorphometric findings. *J Clin Endocrinol Metab* 1992;74:1146-51.
13. Merle B, Delmas PD. Normal carboxylation of circulating osteocalcin (bone Gla-protein) in Paget's disease of bone. *Bone Miner* 1990;11:237-45.
14. Ahlberg HG, Johnell O, Nilsson BE, Jeppsson S, Rannevik G, Karlsson MK. Bone loss in relation to menopause: a prospective study during 16 years. *Bone* 2001;28:327-31.
15. Arnaud CD. Osteoporosis: using 'bone markers' for diagnosis and monitoring. *Geriatrics* 1996;51:24-30.
16. Karasik D, Cupples LA, Hannan MT, Kiel DP. Age, gender, and body mass effects on quantitative trait loci for bone mineral density: the Framingham Study. *Bone* 2003;33:308-16.
17. Westfall G, Littlefield R, Heaton A, Martin S. Methodology for identifying patients at high risk for osteoporotic fracture. *Clin Ther* 2001;23:1570-88.
18. Garcia-Perez MA, Moreno-Mercer J, Tarin JJ, Cano A. Relationship between PTH, sex steroid and bone turnover marker measurements and bone density in recently postmenopausal women. *Maturitas* 2003; 45:67-74.
19. Moss DW, Hederson RA. Liver, cardia and skeletal enzymes. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. *Tietz textbook of clinical chemistry*. 3rd ed. Philadelphia: W. B. Saunders; 1999. p. 651-83.
20. Garnero P, Sornay-Rendu E, Chapuy MC, Delmas PD. Increased bone turnover in late postmenopausal women is a major determinant of osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1996;11:337-49.
21. Takahashi M, Hoshino H, Kushida K. Measurements of urinary nonisomerized form of type I collagen degradation products (alpha-CTX) in aging, menopause, and osteoporosis with fractures. *Clin Chim Acta* 1999; 279:69-76.
22. Gambacciani M, Ciaponi M, Cappagli B, Monteleone P, Benussi C, Bevilacqua G, et al. Postmenopausal femur bone loss: effects of a low dose hormone replacement therapy. *Maturitas* 2003;45:175-83.