

Postmenopozal Hastalarda HRT'nin Kemik Metabolizmasına Etkilerinin Tespitinde İdrarda "NTx" ve Serum IGF-1 Düzeylerinin Saptanmasının Değeri ve Tedaviye Alendronat Eklenmesinin Rolü

THE EFFECT OF HRT WITH / WITHOUT ALENDRONATE ON BONE METABOLISM IN POSTMENOPAUSAL WOMEN AS ASSESSED BY URINARY NTX AND SERUM IGF-1 LEVELS

Cemal POSACI*, Sabahattin ALTUNYURT**, Hüray İŞLEKEL***, Emel ALTEKİN****, Ata ÖNVURAL*****, Banu ÖNVURAL*****

* Doç.Dr., Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD,

** Yrd.Doç.Dr., Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD,

*** Yrd.Doç.Dr., Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD,

**** Uz.Dr., Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD,

***** Prof.Dr., Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum AD,

***** Prof.Dr., Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AD, İZMİR

Özet

Amaç: "İdrar çapraz bağlı N-telopeptid" (NTx) kemik resorbsiyonunun spesifik markeridir. İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1)'in de kemik formasyonunu stimüle ettiği düşünülmektedir. Bu çalışmada altı aylık hormon replasman tedavisi (HRT) ile idrar NTx ve serum IGF-1 düzeylerinde oluşan değişiklikleri ve kemik mineral yoğunluğu <math><100\text{mg}/\text{cm}^3</math> olan olgularda tedaviye alendronat eklenmesinin bu sonuçlara etkisini değerlendirmek amaçlandı.

Materyel ve Metod: Çalışmaya doğal olarak menopoza girmiş toplam 66 hasta dahil edildi. Birinci gruptaki 23 hastaya oral Estrogen+Progesteron (E+P), ikinci gruptaki 22 hastaya ise transdermal E+P tedavisi uygulandı. üçüncü grup ise kemik mineral yoğunluğu 100'ün altında olan ve oral E+P yanı sıra alendronat verilen 21 hastayı kapsıyordu.

Bulgular: Çalışma gruplarında tedavi öncesi ve 6 aylık tedavi sonrası serum IGF-1 düzeyleri arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$). Tedavi sonrası idrar NTx değerleri her 3 grupta da bazale göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0.05$). Ancak NTx düzeyindeki azalmanın gruplar arasında istatistiksel anlamlılık göstermediği belirlendi ($p>0.05$). Alendronat tedavisiyle ilave bir azalma gözlenmedi ($p>0.05$).

Sonuç: Sonuç olarak altı aylık HRT ile görülen idrar NTx düzeyindeki azalma kemik yıkımındaki azalmayı göstermektedir ve bu durum HRT'nin verilmiş yolundan bağımsızdır. IGF-1 ise kemik yapım markeri olarak değerli bulunmamıştır.

Anahtar Kelimeler: Hormon replasman tedavisi, IGF-1, NTx, osteoporoz

T Klin Jinekoloj Obst 2001, 11:97-101

Summary

Objective: Urinary cross-linked N-telopeptid of type 1 collagen (NTx) is a specific marker of bone resorption. Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1) is thought to be a stimulator of bone formation. The aims of this study are to determine the changes on levels of urinary NTx and serum IGF-1 after the six months HRT and the effects of additional alendronate therapy for osteoporotic women.

Materials and Method: 66 postmenopausal women were enrolled into this study. First group consisted of 23 women who were treated with oral Estrogen + Progesterone (E+P), second group consisted of 22 women who were treated with E+P transdermally. Third group consisted of 21 women with bone mineral density value <math><100\text{mg}/\text{cm}^3</math> and treated with oral E+P +alendronate.

Results: Serum basal and post therapy IGF-1 levels were not different in all groups ($p>0.05$). Post treatment urinary NTx were significantly lower than basal levels in all three groups ($p<0.05$). But the decline of NTx were not significantly different among groups ($p>0.05$). There was no additional decrease in the levels of NTx with alendronate therapy ($p>0.05$).

Conclusions: The decline of NTx after HRT for six months showed the decrease of bone resorption and this is not related with the route of administration. IGF-1 is not considered as a suitable marker of bone formation.

Key Words: Hormone replacement therapy, IGF-1, NTx, osteoporosis

T Klin J Gynecol Obst 2001, 11:97-101

Geliş Tarihi: 03.05.2000

Yazışma Adresi: Dr.Sabahattin ALTUNYURT
Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi
Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD
35340, İnciraltı, İZMİR

Tablo 1. Kemik formasyon ve yıkım markerleri

Kemik Formasyon Markerleri	Kemik Yıkım Markerleri
Serum osteokalsin	Üriner hidroksiprolin
Serum total alkalen fosfataz	Üriner Galaktozil hidroksilizin
Serum kemiğe spesifik alkalen fosfataz	Üriner total pyridinolin
Serum prokollagen tip 1 carboksiterminal propeptid	Üriner total deoksi pyridinolin
Serum prokollagen tip 1 amino-terminal propeptid	Üriner serbest pyridinolin
	Üriner serbest deoksi pyridinolin
	Üriner kollagen tip 1 cross-linked N-telopeptid (NTx)
	Üriner kollagen tip 1 cross-linked C-telopeptid (CTx)
	Serum carboksiterminal telopeptid of tip 1 collagen (ICTP)
	Serum Tartrat rezistan asit fosfataz

Kemik kaybı perimenopozal devrede başlar ve menopoza girişle birlikte bu kayıpta bir artış gözlenir (1). Menopozda görülen bu kemik kitlesi kaybı estrogen eksikliği ile direkt ilişkilidir ve hormon replasman tedavisi (HRT) ile bu kayıp önlenir. Menopoza giriş ile birlikte hem kemik turnover frekansında bir artma hem de yapım-yıkım arasındaki dengede yıkım lehinde bir artma söz konusudur (1).

Kemik turnoverinin değişik markerleri Tablo 1'de gösterilmiştir. "Urinary cross-linked N-telopeptid of type 1 collagen" (NTx) kemik resorpsiyonunun spesifik markeridir (2-4). Menopoza giriş ile birlikte üriner NTx'de bir artma meydana gelir ve HRT ile bu artış azaltılabilir (5-7). İnsülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) ise çeşitli dokularda hücre büyümesini stimüle eden bir büyüme faktörüdür (8). IGF-1'in invitro olarak osteoblastik proliferasyonu sağladığı gösterilmiştir (9). Perimenopozal kadında serum IGF-1 menopozdan sonra azalır ve bu azalma kemik turnover markerlerinde bir artma ile beraberdir (10). IGF-1'in kemik formasyonunu stimüle ettiği düşünülmektedir (11). Ancak tüm bu verilere rağmen IGF-1'in kemik yapım markeri olabileceğini gösteren prospektif çalışma yoktur.

Bifosfonatların kemik üzerindeki en büyük etkileri iskelete ait veya iskelet dışı kalsifikasyonu inhibe etmek ve osteoklastlar yoluyla oluşan kemik rezorpsiyonunu inhibe etmektir (anti-rezorptif etki) (12). Kemikteki hidroksiapatit kristallerine bağlanan bifosfonatlar bu sayede osteoklastik aktiviteyi azaltırlar (13).

Biz bu prospektif çalışmada 6 aylık HRT sonunda idrar NTx ve serum IGF-1 düzeylerindeki değişiklikleri araştırdık ve HRT'ye alendronat eklenmesinin bu sonuçları nasıl etkilediğini bulmaya çalıştık.

Materyel ve Metod

Çalışmaya Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Menopoz Polikliniği'ne Ocak 1998 - Aralık 1998 tarihleri arasında başvuran doğal olarak menopoza girmiş toplam 66 hasta dahil edildi. Sistemik hastalığı olan, daha önce HRT almış olan hastalar çalışmaya alınmadı.

Çalışma üç hasta grubunda yapıldı. Gruplar

menopoz polikliniğine başvuran tüm hastalara yapılan rutin menopoz değerlendirmeleri (hematolojik ve biyokimyasal testler, kemik mineral yoğunluğu (BMD) ölçümleri, mammografi) sonrasında belirlendi.

1. gruptaki 23 hastaya günde bir kez oral Estrogen + Progesteron (E+P) (Kliogest® - Novo Nordisk).

2. gruptaki 22 hastaya ise haftada iki kez transdermal E+P (Estracombi®-Novartis) tedavisi uygulandı.

Bu iki grup BMD değeri 100 mg/cm³'ün üzerinde olan hastalardan, hastanın tercih ettiği tedavi yöntemine göre (oral ya da transdermal) rastgele olarak oluşturuldu.

3. grup ise BMD değeri osteoporoz için sınır kabul edilen 100mg/cm³'ün altında olan 21 hastayı kapsıyordu. Bu grupta da oral E+P (Kliogest® - Novo Nordisk) tedavisine osteoporozu tedavi etmek amacıyla alendronat (Fosamax®, Merck Sharp & Dohme) eklendi. Çalışmaya alınan tüm gruplara oral kalsiyum 1gr/gün dozunda verildi. Gruplardaki hastaların demografik özellikleri Tablo 2'de verilmiştir.

Tüm hastalardan tedavi öncesinde ve 6 aylık HRT'ni takiben sabah aç olarak antekübital venden 5 ml kan örneği alındı. Örnekler hemen 3000rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra serumları ayrılarak -20°C'de maksimum 3 ay olmak üzere muhafaza edildi. Belirgin olarak hemolizli kanlar çalışmada kullanılmadı. Serum IGF-1 ölçümünde "enzyme linked immunosorbent assay" (ELISA) metodu kullanıldı (IBL, Hamburg). Sonuçlar µg/L olarak belirlendi.

Çalışmaya katılan tüm hastalardan çalışma öncesi ve altı aylık HRT sonrasında sabah ikinci idrarlarından örnekler alındı. İdrar örneklerine herhangi bir koruyucu ilave edilmeksizin -70°C'de çalışılncaya kadar saklandı. NTx ölçümleri için Osteomark® kiti (ELISA)(Ostex, Seattle WA) kullanıldı. Sonuçlar nM BCE (Bone Collagen Equiva-lent). L-1.mM kreatinin. L-1 olarak belirtildi.

Gruplarda ölçülen ortalama idrar NTx ve ortalama serum IGF-1 düzeyleri birbiriyle karşılaştırıldı.

İstatistiksel işlemler için Mann-Whitney U testi kullanıldı. İşlemler SPSS For Windows 6.01 bilgisayar pro-

Tablo 2. Çalışma gruplarının demografik özellikleri

n	1. grup 23	2. grup 22	3. grup 21	p
Tedavi	Oral E+P	TTS E+P	Oral E+P +Alendronat	
Yaş (yıl)	44.7±5.8	45.2±7.4	43.1±6.4	0.21
Menopoz süresi (ay)	38.5±12.4	28.1±16.1	31.1±15.4	0.12
BMD (mg/cm ³)	>100	>100	<100	

Tablo 3. Gruplardaki tedavi öncesi ve tedavi sonrası ortalama IGF-1 ve NTx değerlerinin karşılaştırılması

		Tedavi Öncesi	Tedavi sonrası	P
Grup 1 n=23	IGF-1(µg/L)	94.8±52.9	106.1±27.6	0.128
	NTx	98.4±62.3	68.2±29.1	0.006
Grup 2 n=22	IGF-1(µg/L)	88.3±43.5	92.4±36.7	0.445
	NTx	77.3±42.3	56.8±26.2	0.011
Grup 3 n=21	IGF-1(µg/L)	112.9±49.9	111.8±46.4	0.476
	NTx	100.8±38.7	69.9±17.9	0.003

gramı ile yapıldı.

Sonuçlar

Çalışma gruplarında tedavi öncesi ve tedavi sonrasında hesaplanan ortalama serum IGF-1 düzeyleri ile ortalama idrar NTx değerleri Tablo 3'de gösterilmiştir.

Çalışma gruplarının hiç birinde tedavi öncesinde ve 6 aylık tedavinin ardından hesaplanan serum IGF-1 düzeylerinde anlamlı bir farklılık oluşmadı (p>0.05).

İdrar NTx değerlerinin ise her 3 grupta da tedavi sonrasında başlangıç değerlerine göre anlamlı olarak azaldığı bulundu (p<0.05). NTx düzeyindeki azalma oral E+P alan gruplarda benzer düzeyde görünürken (Grup 1 ve 3) transdermal E+P alan gruptaki azalma daha az oldu.

Bu sonuçlardan sonra her 3 grupta da gözlenen NTx düzeyindeki azalmanın gruplar arasında farklılık gösterip göstermediğinin belirlenmesi amacıyla her hasta için NTx düzeyindeki azalma yüzdesi hesaplandı ve grupların ortalama NTx azalma yüzdeleri bulundu (Tablo 4). Bu yüzdelere karşılaştırıldığında oral ve transdermal HRT verilen grupların NTx'te oluşturdıkları azalmanın anlamlı olarak fark göstermediği belirlendi (p>0.05).

Ayrıca oral HRT verilen iki gruptan ek olarak Alendronat alan grup ile almayan grup arasında da NTx azalma oranlarının farklı olmadığı görüldü (p>0.05).

Tartışma

Kemik metabolizmasının çeşitli biokimyasal markerleri mevcuttur (Tablo 1). Menopozda kemik yıkımı artmakta, buna bağlı olarak da önce kemik yıkım markerlerinde bir artma meydana gelmektedir (5,6,14-16). Bunu takiben kemik yapım markerlerinde de artış görülmektedir

(3). Yani menopozda artmış bir kemik turnover'i söz konusudur. Kemik metabolizmasının bu biyokimyasal markerlerinden NTx HRT'nin anti-resorptif etkisini monitörize etmek için kullanılanlardan biridir (17).

IGF-1 in ise BMD ile ilişkili olduğu bilinmektedir (10,11). Ancak serum IGF-1 düzeylerinin kemik yapım markeri olarak kullanıldığını gösteren çalışma yoktur.

Bizim çalışmamızda 6 aylık tedavi sonunda hiçbir grupta serum IGF-1 düzeylerinde anlamlı bir değişikliğe rastlamadık. Buna karşın her üç grupta da idrar NTx düzeylerinde beklendiği üzere anlamlı bir azalma ortaya çıktı. Hakikaten NTx kemik resorpsiyon markerlerinden biri olup, menopozda HRT alanlarda idrar düzeylerinin azalması bizim çalışmamızın yanında başka birçok çalışmada da görülmüştür (5-7,17,18).

Hem oral hem de transdermal grupta idrar NTx düzeyleri azalma oranları arasında fark olmaması her iki HRT rejiminin kemik yıkımını azaltmada benzer düzeyde etkili olduğunu düşündürmektedir. Brincat ve arkadaşları (16) oral konjuge estrogen+Norgestrel ile 6 aylık tedavi sonunda kontrol grubuna kıyasla HRT alan grupta Procollagen I C-end terminal peptid (PCICP) de %11.3 ve Pyridinium crosslink de %27.2 oranında bir azalma bildirdiler. Bu veriler de HRT ile kemik yıkımının azaldığını desteklemektedir.

Cerrahi olarak menopoza girmiş olan kadınlarda premenopozal kadınlara göre idrar NTx düzeyleri anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur (5). Yani ani östrojen azalması sonucunda kemik yıkımında belirgin bir artış meydana gelmiştir. Aynı çalışmada transdermal estrogen verilen cerrahi menopoza girmiş kadınlarda 3. ay sonunda idrar NTx düzeylerinde tedavi öncesi düzeye göre anlamlı bir azalma ortaya çıkarken bu seviyeler premenopozal kadın-

Tablo 4. Çalışma gruplarında hesaplanan NTx azalma oranlarının karşılaştırılması

	1.grup	2.grup	3.grup	p
NTx azalma oranı (%)	19.4±34.8	15.67±37.99	-	0.802
(min-max)	(-50 ile 74.7)	(-86 ile 74.4)	18.61±42.6	0.715
		-	(-72 ile 70.5)	

lardan oluşan kontrol grubuna göre hala anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. 9 aylık HRT sonrası NTx düzeyleri de tedavi öncesi değerlere göre ve kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük saptanırken 3 ve 9 aylık tedavi düzeyleri arasında fark bulunmamıştır (5). Bizim çalışmamızda kontrol grubu olmadığı için böyle bir kıyaslama yapma imkanımız olmadı. Ancak Peris ve arkadaşlarının (5) 3 aylık HRT'nin NTx düzeylerinde anlamlı azalma yaptığını bildiren sonuçları bizim çalışmamızda da desteklendi.

Bizim sonuçlarımıza göre tedaviye alendronat eklenmesinin idrar NTx düzeyinde ek bir azalma meydana getirmediği göze çarpmaktadır. Alendronat önce kemik yıkımını azaltır, bir süre sonra da indirekt olarak kemik yapımını artırır (3). Yani alendronat kullanımında kemik yıkımının azalması kemik yapımının artmasından daha önce olmaktadır. Postmenopozda premenopozda göre kemik turnover artar (3). Postmenopozal osteoporotik kadında alendronat tedavisi ile artmış kemik turnoverinin normale döndüğü ifade edilmiştir (3). Alendronat'a erken cevabın 3. ayda olduğu ve bunun biokimyasal markerlerle doğrulanabileceği belirtilmiştir (3,19). Ayrıca 3. aydaki bu biokimyasal marker düzeyleri ile 24. ay sonundaki BMD değeri arasında anlamlı ilişki olduğu öne sürülmektedir (3). Kyd ve arkadaşları (19) 30 postmenopozal kadında 1 yıl süre ile alendronat kullanmışlar ve 3. ayda idrar NTx düzeylerinde %50'lik bir azalma bulmuşlardır. Yine aynı araştırmacılar (19) alendronat alan bu olgularda 1 yıl sonunda BMD'de lomber vertebralarda %4.6 ve femur boyunda %3.5 artışı tespit etmişlerdir. Bu bulgulara göre 3. aydaki idrar NTx azalmasına bakılarak 1-2 yıl sonraki BMD artışı tahmin edilebilir gibi görünmektedir (3,19). Bizim çalışmamızda HRT'ye ilaveten verilen alendronatın NTx düzeylerinde ek bir azalma yapmamıştır. Bu durumu alendronatın HRT'ne ilave edilmesinin gereksizliği şeklinde yorumlamak haksızlık olur kanısındayız. Çünkü 6 aylık süre alendronatın kemik metabolizması üzerindeki etkileri için yeterli bir süre olmayabilir. Garnero ve arkadaşlarının (3) verilerine rağmen bu konuda daha fazla çalışma yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Rosen ve arkadaşları (7) HRT alan erken postmenopozal kadınlarda 6. aydaki NTx ve osteokalsin değişikliklerinin 1. yıldaki BMD artışını en iyi gösterdiğini bildirdiler. Yine aynı araştırmacılar 1 yıl sonunda BMD artışı gösteren olgularda bazal NTx düzeyini yüksek olarak buldular (7). Bunun nedeni açık değildir. Bu belki

de HRT ile önce kemik turnover değişikliklerinin olduğunu, BMD artımının sonradan oluştuğunu düşündürmektedir. Bu nedenle HRT monitorizasyonunda biokimyasal markerlerin önemi artmaktadır.

Sonuç olarak hem oral hem de transdermal HRT alanlarda 6 aylık tedavi sonunda idrar NTx de anlamlı bir azalma olmaktadır. Ancak oral HRT tedavisine alendronat eklendiğinde idrar NTx indeki azalma diğer gruplardan farklı değildir. Serum IGF-1 düzeylerinde 6 ay sonunda hiçbir grupta anlamlı bir değişiklik olmamıştır.

KAYNAKLAR

1. Kanis J. Maintenance of bone mass. In Textbook of Osteoporosis. Blackwell Science, London. 1996: 1-29.
2. Hanson DA, Weis MA, Bollen AM, 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(11):1251-8.
3. Garnero P, Shih WJ, Gineys 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(6):1693-700.
4. Gertz BJ, Shao P, Hanson DA 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(2):135-42.
5. Peris P, Alvarez L, Monegal A et al. Biochemical markers of bone turnover after surgical menopause and hormone replacement therapy. *Bone* 1999; 25(3):349-53.
6. Taga M, Uemura T, Minaguchi H. The effect of hormone replacement therapy in postmenopausal women on urinary C-telopeptide and N-telopeptide of type I collagen, new markers of bone resorption. *J Endocrinol Invest* 1998; 21(3):154-9.
7. Rosen CJ, Chesnut CH 3rd, Mallinak NJ. The predictive value of biochemical markers of bone turnover for bone mineral density in early postmenopausal women treated with hormone replacement or calcium supplementation. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82(6):1904-10.
8. Ho KK, O'Sullivan AJ, Weissberger AJ, Kelly JJ. Sex steroid regulation of growth hormone secretion and action. *Horm Res* 1996; 45(1-2):67-73.
9. Iranmanesh A, Lizarralde G, Veldhuis JD. Age and relative adiposity are specific negative determinants of the frequency and amplitude of growth hormone (GH) secretory bursts and the half-life of endogenous GH in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 73(5):1081-8.
10. Nasu M, Sugimoto T, Chihara M, Hiraumi M, Kurimoto F, Chihara K. Effect of natural menopause on serum levels of IGF-I and IGF-binding proteins: relationship with bone mineral density and lipid metabolism in perimenopausal women. *Eur J Endocrinol* 1997; 136(6):608-16.

11. Langlois JA, Rosen CJ, Visser M et al. Association between insulin-like growth factor I and bone mineral density in older women and men: the Framingham Heart Study. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83(12):4257-62.
12. Selby P. Alendronate treatment for osteoporosis: A review of the clinical evidence. *Osteoporosis Int* 1996; 6:419-26.
13. Kanis J. Treatment of generalized osteoporosis with inhibitors of bone resorption. In *Textbook of Osteoporosis*. Blackwell Science, London. 1996: 308-67.
14. Taga M, Shirashu K, Minaguchi H. Changes in urinary excretion of type-I collagen cross-linked C-telopeptide and N-telopeptide in perimenopausal women. *Horm Res* 1998; 49(2):86-90.
15. Masahashi T, Negoro Y, Kuroki T, Asai M, Naguchi M, Nakanishi M. Biochemical markers of bone turnover during hormone replacement therapy. *Int J Gynaecol Obstet* 1999; 64(2):163-6.
16. Brincat M, Galea R, Baron YM, Xuereb A. Changes in bone collagen markers and in bone density in hormone treated and untreated postmenopausal women. *Maturitas* 1997; 27(2):171-7.
17. Chesnut CH 3rd, Bell NH, Clark GS et al. Hormone replacement therapy in postmenopausal women: urinary N-telopeptide of type I collagen monitors therapeutic effect and predicts response of bone mineral density. *Am J Med* 1997; 102(1):29-37.
18. Marcus R, Holloway L, Wells B et al. The relationship of biochemical markers of bone turnover to bone density changes in postmenopausal women: result from the postmenopausal estrogen-progestin interventions (PEPI) trial. *J Bone Miner Res* 1999; 14(9):1583-95.
19. Kyd PA, De Vooght K, Kerckhoff F, Thomas E, Fairney A. Clinical usefulness of biochemical resorption markers in osteoporosis. *Ann Clin Biochem* 1999; 36 (Pt 4):483-91.