

补钙与骨质疏松症防治研究的进展

周建烈

骨质疏松症的发生是一个渐进的过程,其临床表现为疼痛、驼背和骨折等。不管是原发性还是继发性骨质疏松症,均有一个共同的防治原则:延缓骨量丢失或增加骨量,对症处理和预防骨折发生。这就需要补充钙制剂。补钙与骨质疏松症防治研究主要进展包括:(1)青少年期摄入钙对其骨矿化的作用。(2)妊娠、哺乳期钙需要量与骨矿含量的关系。(3)老年人的维生素D和钙摄入。(4)缺钙与异位钙化(Cetopic calcification)。(5)口服钙补充剂。(6)补钙新问题。现综述如下。

一、青少年时期摄入钙对其骨矿化的作用

体内99.9%的钙在骨骼中,青少年骨骼生长迅速,是骨量增加的关键时期。其影响因素包括:遗传因素、营养因素、性别、内分泌、体育锻炼和吸烟等。营养不良、内分泌疾病及慢性疾病均可导致骨量减少,甚至发生骨质疏松。常见疾病因包括神经性厌食、运动相关性无月经、青春期延迟、特纳氏综合征、糖皮质激素过多及囊性纤维变性。引起骨量减少的危险因素有低体重、钙和维生素D摄入不足、钙丢失过多、活动少及性激素下降。青少年期摄入足够的钙,可提高其峰值骨密度,延缓老年期骨量丢失造成的骨折危险性。

1992年Johnston等^[1]对22对青春前期单卵双生子和23对青春前期单卵双生子其中之一补充钙1000mg/天,另一人给予安慰剂,受试者年龄6~14岁,观察3年。结果发现:青春前期组补钙能明显提高骨密度,而青春后期组补钙无明显效果。1993年Lloyd等^[2]对年龄11.9±0.5岁的94名女孩比较补钙效果,每日补充350mg钙的女孩18个月后,其腰椎骨密度

(BMD)有明显升高,但全身骨密度略有升高。1996年Bachrach^[3]对18例青少年(平均年龄16.6岁)神经性厌食患者测量骨密度,其平均腰椎BMD低于健康对照组25%,全身BMD低于对照组20%,而桡骨中段BMD无明显下降,2/3患者骨量明显减少,低于两个标准差,神经性厌食病程与骨量呈负相关。

世界卫生组织(WHO)推荐青少年:11~15岁每日钙摄入量700mg,16~19岁500~600mg。1994年美国国立卫生研究院(NIH)^[4]建议青少年每日摄入钙量1200~1500mg,以促进钙的沉积,提高成年期的峰值骨密度。

二、妊娠、哺乳期钙需要量与骨矿含量的关系

妊娠中期后为了满足胎儿生长和骨骼钙化的需要,母体有约30g钙经胎盘主动转运给胎儿,同时由于血容量增加,母体出现相对性低血钙,造成妊娠期母体特有的钙代谢变化。

1995年Hojo和August^[5]报道,妊娠晚期每天大约有200mg钙沉积于胎儿的骨组织,且此时尿钙排出反而增加,机体只能动员骨骼和肌肉等组织的钙入血,以维持新的钙稳态。1994年Knight等^[6]报道,妊娠期血清钙浓度相当于非妊娠期的87~90%,随着妊娠的进展,胎盘组织可分泌碱性磷酸酶入血,此外缺钙引起成骨细胞增生,增生的成骨细胞也可分泌碱性磷酸酶,这种酶能促进肠道对钙的吸收和尿钙排出减少,维持体内钙平衡。1995年Hojo和August^[5]报道,妊娠母体1,25(OH)₂D浓度增加2~3倍,导致胃肠道对钙吸收率增加,有人报道妊娠期钙吸收率从20%增加到40%,1955年Nordin首先报告妊娠后骨质疏松症,1959年Curtis和Kincaid相继报告了妊娠期暂时性髓

骨骨质疏松症。1992年 Sowers 等^[7]和1993年 Fox 等^[8]报道少女怀孕时,由于胎儿和母体的骨骼同时面临成熟和矿化过程。可能会导致母体骨密度降低及增加绝经期骨量丢失的危险。然而,也有人报道由于妊娠后期雌激素水平较高,妊娠体重增加所致的骨负荷增高,母体的骨量可能相对增加。

哺乳期的钙需求量与母乳量和喂养时间有关。乳母每日平均泌乳 750~800ml,每哺乳 1000ml 母体失去钙 300~400mg。哺乳期的催乳素水平较高,雌激素水平较低,从而可能引起骨量丢失。因此,哺乳期母体从骨骼中动员的钙比妊娠期更多。完全哺乳 6 个月,估计大约要消耗母体骨骼中钙的 4~6%。

1994 年 Specker 等^[9]报道在哺乳期母体钙吸收率增加不明显。1993 年 Sowers 等^[10]用双能 X 线骨密度测定仪检查产后 2 周~18 个月的骨密度,实验组 64 人,对照组 20 人,哺乳 18 个月后其髌部及脊柱骨的骨量丢失为 5%,且随哺乳时间延长,骨量丢失更明显。其后随着断奶和月经重建,骨矿物质开始恢复。

1988 年中国营养学会推荐的每日钙供给量:妊娠中期为 1000mg,妊娠后期及哺乳期均为 1500mg。

三、老年人的维生素 D 和摄入钙

老年人的骨质疏松症是生物衰老的特殊表现,由于破骨细胞的吸收增加,成骨细胞功能衰退,导致骨矿成分和骨基质等比例减少,骨质变薄、骨小梁数量减少,骨质疏松性增加和骨折危险性升高。老年人的生理变化包括:(1)老年人性激素分泌减少,老年妇女绝经后雌激素水平下降,导致骨吸收增加。(2)老年人肾功能显著下降,血磷升高,继发甲状旁腺激素(PTH)上升,骨钙进一步下降,老年人甲状腺 C 细胞功能衰退,降钙素(CT)分泌减少,骨形成下降。(3)老年人胃纳差,营养要素,特别是钙摄入减少。(4)老年人户外运动减少,体内维生素 D 合成降低,肠道钙磷吸收下降。负重活动减少。这些

均使骨形成和骨矿化降低,造成骨量丢失增多。

老年人群对维生素 D 的补充远不如对钙补充重视。有人报道,60 岁以上的老年人血中 25(OH)D₃ 的含量比 20 岁青年人下降 30%。1993 年 Komar 等^[11]发现养老院中有 86% 的老人血 25(OH)D 浓度低于 50 nmol/L,41% 的老人 25(OH)D 浓度低于正常值下限 25 nmol/L,16% 的老人血中甲状旁腺激素(PTH)水平较高,骨钙动员增加。年轻妇女血中维生素 D 水平多半与接收日照有关,而上年纪的妇女多半与膳食摄入维生素 D 有关。因此,1989 年 Meuleman^[12]建议:对那些不能充分得到日照的老年人,每日应补充维生素 D 400~600IU。1992 年 Heikinheimo 等^[13]对芬兰老年人每年秋季一次肌注大剂量维生素 D,共四年。结果显示补充组骨折率 2.9% 显著比对照组 6.1% 低。1991 年 Dawson-Hughes 等^[14]对健康的绝经后妇女每天补充维生素 D 400 IU,为期一年,用双能 X 线骨密度仪检测,补充组的骨密度比对照组有明显改善。成人的维生素 D 缺乏还可引起骨软化病。现在人们已逐渐认识到老年人(包括那些表面上没有明显维生素 D 缺乏表现者)应保持充足维生素 D 营养的必要性。

充足的钙摄入是一种抗骨量吸收的因子。但对补钙能在多大程度上延缓绝经后妇女骨量丢失,这主要取决于补钙妇女的年龄(所处的生理阶段)和平时膳食钙摄入量。1990 年 Dawson-Hughes 等^[15]比较两组不同膳食钙摄入的绝经后妇女补钙效果。结果表明,以往膳食钙摄入低于 400 mg/天的 112 例妇女补钙后能显著延缓脊柱、股骨颈和桡骨的骨密度下降,以往膳食钙摄入在 400~650 mg/d 的 124 例妇女补钙后对骨密度下降的延缓均无明显效果。1993 年 Reid 等^[16]对绝经至少 3 年以上且以往膳食钙摄入较高(平均为 750 mg/d)的妇女补充钙剂,每日补钙 1000 mg。结果显示补钙能明显延缓中轴骨和四肢骨的骨量丢失。1992 年 Chapuy 等^[17]报道,对 3 270 名养老院老年妇女随访 18 个月,补充组 1 634 名妇女每天补钙 1200 mg

和维生素 D 800IU, 对照组 1636 名补充安慰剂, 结果补充组髌骨部骨折率下降一半, 其骨密度上升 2.6%, 而对照组却下降 4.6%, 1994 年 Chevalley 等^[16]对 82 例健康妇女和 63 例髌部新近骨折者补钙和研究开始时一次性大剂量维生素 D 补充。结果表明补钙和维生素 D 组能防止骨密度下降和降低脊柱骨折率。

鉴于上述研究, 1994 年美国 NIH^[17]推荐: 65 岁以上男子和妇女每天摄入 1500 mg 钙, 但没有提出维生素 D 的推荐量。这是因为日照皮肤可产生维生素 D, 维生素 D 的供给量还与钙、磷的供给量有关。在钙、磷供给充足的条件下, 成人每日获得 300~400 IU 维生素 D 就可使钙的储留达到最高程度。中国营养学会推荐量为每日摄入维生素 D400 IU。

四、缺钙与异位钙化

人体缺钙会造成骨质疏松症, 已为大家所公认。由于钙参加人体器官组织的所有功能, 缺钙还会引起其他各种疾病。此外, 骨质疏松症流失的钙, 一部分补充钙不足, 参与机体正常代谢, 另一部分会引起机体的异位钙化, 造成各种疾病。例如退行性心脏瓣膜病、高血压、冠心病、老年性痴呆、糖尿病、视力减退, 结肠腺瘤等等。

1 缺钙与结肠腺瘤^[18]

结肠内新生物发生常与饮食习惯有关。动物实验证明胆酸的变化能促进新生物的形成。1984 年 Newmark 等提出: 钙能与肠腔内胆酸结合, 从而抑制其增生和致癌作用。1988 年和 1993 年 Pence 等的动物实验结果表明: 食物中的钙对胆酸引起的肠粘膜损伤和实验性肠内致癌效应有一种保护作用。1991 年 Llor 等和 1997 年 Bautista 等研究表明: 补充钙剂能抑制结肠肿瘤的 ras 基因突变。1995 年 Cats 等和 1996 年 Alberts 等研究观察到: 补钙能降低粪便的细胞毒性, 降低胆酸池中的二次性胆酸比例, 以及降低粪便中胆酸的浓度。

1999 年 Baron 等对 930 例近期有过结肠直肠腺瘤病史的病人作随机双盲试验。补钙组:

每日服用钙尔奇 D600 片剂两片(即每日服 1200mg 钙和 250IU 维生素 D), 对照组: 服安慰剂。结果表明: (1) 补钙组病人腺瘤的复发率较低, 在一年和四年后两次随访之间复发一个腺瘤以上者: 补钙组 127 名低于对照组 159 名。两组腺瘤复发风险比率为 0.81:1, 如按复发腺瘤的数目统计, 其风险比率为 0.76:1。 (2) 钙补充剂中钙的作用不会因年龄、性别、基础食物中摄入的钙、脂肪或纤维量变化而发生改变。Baron 等的结论: (1) 碳酸钙(钙尔奇 D)可能对结直肠的生物具有某种化学抑制作用。 (2) 钙尔奇 D 比其他类型的抗肿瘤药物便宜、毒副作用较少, 且有其他益处(例如降低骨质疏松的发生)。钙尔奇 D 的效益/风险比值很高。

2 缺钙与退行性心脏瓣膜病

缺钙造成骨钙流失, 这些钙部分会沉着于磨损的瓣膜、瓣环、造成其纤维化、硬化和粥样斑块。日本学者对 162 例 65 岁以上老人同时检查腰椎椎体骨密度和心瓣膜瓣环的超声心动图。结果表明: 随着腰椎骨密度下降程度的增加(+→++), 二尖瓣环的钙化发生率也增加(18%→36%)。作者认为, 骨钙丢失的程度与瓣环钙化发生率呈正比, 这是异位钙化的结果。

3 缺钙与高血压^[19]

近十年来, 临床研究表明: 膳食钙能调节人的血压。1984 年 McCarron 等对美国第一次全国健康营养调查(NHANESI)资料分析发现: 在所有分析变量中, 钙摄入量的减少是预测血压升高的最好指标。荷兰、波多黎各等地的研究也得到类似的结论。1985 年 Reed 等对杂食的夏威夷日本男性进行一项大规模前瞻性研究发现, 钙、钾、蛋白质和牛奶(24 小时膳食回顾法)的摄入量与收缩压和舒张压呈负相关。1985 年 McCarron 等和 Singer 等以及 1986 年 Grobbee 等研究表明, 补钙可使血压有短期轻微的下降。

1994 年 Sanchez-Ramos 等比较 63 例未生育过对血管紧张素敏感的怀孕妇女作每日口服 2 g 元素钙的随机双盲试验。结果表明, 对照组孕妇发生高血压、产前子痫或两者兼有的例数

显著高于补钙组。作者认为,补充钙剂可以降低高危非经产妊娠诱发高血压的发病率。1991年 Marcoux 等研究也已经发现,随着膳食钙摄入量的增多,孕期高血压发生的危险减少。

五、口服钙补充剂

1 钙剂的生物利用度^[20]

钙补充剂只有经过肠道吸收,才能被利用,进入细胞内外液,沉积于骨组织。钙的吸收通过主动转运和被动转运两个途径。前者依赖维生素D存在,后者主要通过钙的浓度梯度扩散。钙的生物利用度受很多因素影响,一方面人体本身状况有关,如婴儿的吸收率高于成人,而老年人的吸收率较差;另一方面与摄入钙剂量、体内钙状况和同服的食物成分有关。一般来说,钙摄入量低,机体吸收钙比例高;体内缺钙,钙吸收率高;食物中含草酸多(如菠菜、笋、苋菜、茭白等),钙与草酸形成难溶性草酸钙,就使钙吸收率降低^[21](但此点有利于减少肾结石的发生率)。

有人根据体外试验钙补充剂的溶解度来预测其生物利用度是不科学的。1990年 Heaney 等^[21]测定了妇女对用⁴⁵Ca 标记的各种钙补充剂和生物合成食品的钙吸收率,结果发现钙源范围在 0.1~1.0 mmol/L(通常使用的钙剂范围)时,钙剂在体外的溶解度与钙在体内的吸收率几乎没有关系。有人提出碳酸钙制剂的吸收必须要大量胃酸存在。其实 1985年 Recker^[22]对 11例禁食的胃酸缺乏患者和 9例禁食的正常人用双同位素法比较两种钙剂吸收率。结果正常人柠檬酸钙的钙吸收率为 24.3±4.9%,而碳酸钙为 22.5±10.8%,两者无明显差异。对 7例胃酸缺乏患者进餐时服用碳酸钙,其钙吸收率与正常人相同。1984年 Bo-Linn 等^[23]报道,对口服钙剂的受试者用胃酸抑制剂,碳酸钙的钙净吸收比柠檬酸的多,且碳酸钙含量最高。1987年 Sheikh 等^[24]比较 8例健康男士随机服用含 500 mg 元素钙的 5种钙盐和一种牛奶。结果表明,钙净吸收率,碳酸钙 39±3%最高,乳

酸钙 32±4%,醋酸钙 32±4%,牛奶 31±3%,柠檬酸钙 30±3%和葡萄糖酸钙 27±3%,但其差异无统计学意义。

动物实验表明,钙剂吸收率受钙摄入量和体内缺钙程度影响。如每克饲料含钙 5 mg 时,钙吸收率为 50%左右;如每克饲料含 1~2 mg 时,钙吸收率可达 90%或更高,如再加上动物事先限制钙摄入,钙吸收率可达到 95%或更高。因此,决不能将一种钙剂的动物实验得到的钙吸收率与另一种人体试验得到的钙吸收率相提并论。

2 钙摄入量与骨矿含量的关系^[25]

1969年 Carn 等对美国 10个州营养调查发现,钙摄入量最高人群的掌骨皮质面积显著比钙摄入量最低人群大。Stanton 对有关资料分析发现,2500名受试者钙摄入量与掌骨皮质骨宽度呈显著正相关。1979年 Matkovic 等对南斯拉夫居民调查发现,与每天钙摄入量 500 mg 相比,每天钙摄入量为 1100 mg 的居民下肢较长,髌部骨折发生率低 50%,且掌骨皮质骨容积显著增高。1984年 Anderson 和 Tylavsky 报道,钙摄入量与桡骨中部(主要为骨皮质)(骨矿含量呈正相关,而与桡骨远端(皮质骨与松质骨混合)骨矿含量没有相关性。1984年 Kanders 等发现钙摄入量高的年轻女性腰椎 2-4 骨矿含量高于钙摄入量低者。1987年 Dawson-Hughes 等对 76例健康绝经后妇女研究发现,钙摄入不足 405mg/d 妇女的脊椎骨骨量丢失显著大于钙摄入量超过 777mg/d 者($P < 0.026$)。

3 钙尔奇 D-新型高钙和维生素 D 补充剂

钙尔奇 D 为碳酸钙补充剂,含元素钙量最高 40%,且含有维生素 D,促进钙的吸收。钙尔奇 D600 片剂:每片含元素钙 600 毫克、维生素 D125 国际单位,钙尔奇 D300 咀嚼片:每片含元素钙 300 毫克、维生素 D60 国际单位,且橙桔口味,适用于小儿和吞咽困难的人士。碳酸钙补充剂价廉、无副作用,1993年版美国《临床医师手册》(PDR)推荐的口服补钙剂主要是碳酸

钙,1989年美国药典药物情报(USPID)中介绍常用的16种口服钙剂中有10种为碳酸钙片。

生物利用度:1987年Sheikh等^[24]报道:碳酸钙的钙净吸收率为 $39\pm3\%$ 。1990年Sheikh和Fordtrak对8例健康年轻男子比较两种磷酸钙补充剂的生物利用度,他们均在进食开始随机服用含600毫克元素钙的两种钙补充剂。结果表明,钙尔奇D600片剂的净钙吸收率平均为 32% ,明显高于另一种常用的磷酸钙片 19% ($P<0.01$)^[25]。

临床应用:钙尔奇D作为钙补充剂已广泛应用于临床,收到良好预防和治疗效果。1994年Aloia等^[26]对70例停经1.2到2.4年的老年妇女随机给予600毫克元素钙(钙尔奇D片)或安慰剂,服用时间 2.9 ± 1.1 年。结果,安慰剂组的股骨颈骨密度下降平均 $2.0\%/年$,明显大于钙尔奇D组的 $0.8\%/年$ ($P=0.3$)。安慰剂组总的体钙含量下降平均 $2.0\%/年$ 明显大于钙尔奇D组的 $0.5\%/年$ ($P=0.06$)。作者认为,补充钙制剂能明显推迟股骨颈的骨量丢失和改进刚进入绝经期妇女的钙平均。作者推荐,口服补钙是有助于绝经早期妇女防止骨量丢失的好方法。1996年孙微云等对24例第一胎孕妇自妊娠28周开始,每日服一粒钙尔奇D600片剂(含元素钙600毫克,维生素D₃125国际单位);对照组:11例,未服任何钙剂和维生素D₃,结果:(1)钙尔奇D组的产前血清钙、磷、骨钙素(BGP)明显高于服钙片前的28周水平($P<0.001$);钙尔奇D组产前的 $25(\text{OH})\text{D}_3$ 明显高于服钙片前的28周水平($P<0.05$)。而对照组的上述指标产前与孕28周之间无明显变化。(2)钙尔奇D组产前尿羟脯氨酸与肌酐比值(HOP/Cr)、尿钙与肌酐比值(Ca/Cr)无明显变化,尿中I型胶原交联C末端肽与肌酐比值(Cross/aps/Cr)两组在产前均明显高于孕28周($P<0.001$),但产后42天,钙尔奇D组明显低于对照组($P<0.001$)。(3)两组血清碱性磷酸酶(AKP)产前均明显高于孕28周时的水平($P<0.001$)。作者结论。孕期服用碳酸钙

加维生素D₃有明显促进骨形成、抑制骨吸收的作用和提高血清钙、磷的作用。1996年董洁英等对19例年龄 69.3 ± 7.2 岁男性老年人和12例年龄 64.8 ± 9.0 岁女性老年人服用钙尔奇D600片剂,每日一片,连服6个月,服药老年人均均为原发性骨质疏松症及骨量减少患者。结果:(1)腰背痛改善占 90.3% (其中明显改善和消失占 74.2%),腿抽筋改善 93.6% (其中明显改善占 77.5%)。(2)骨代谢生化指标,补钙后血清ALP和BGP都明显高于补钙前($P<0.001$);补钙后血清 $25(\text{OH})\text{D}$ 明显高于补钙前($P<0.001$);补钙后尿NTX/Cr与补钙前无明显变化,而补钙后尿HOP/Cr明显低于补钙前($P<0.001$)。(3)骨矿含量(BMC):男性补钙后明显高于补钙前($P<0.05$);女性补钙前后无明显改变。作者结论:服用钙尔奇D片能促进骨形成,抑制骨吸收,对男性老年人能明显改善骨矿含量,对女性老年人能维持骨矿含量,对骨质疏松症有一定的治疗作用。

总而言之,钙是人体的最重要的元素之一,它参与一切生命活动过程。为了预防和治疗骨质疏松症,青少年、妊娠哺乳妇女和老年人均应考虑额外补充钙制剂。选择钙制剂,应考虑其含钙量,是否含维生素D,生物利用度,临床应用情况和完全性等问题。

钙是人体内最重要的元素之一,它参与一切生命活动过程。为了预防和治疗骨质疏松症,青少年、妊娠哺乳妇女和老年人均应考虑额外补充钙制剂。选择钙制剂,应考虑其含钙量、是否含维生素D、生物利用度、安全性等等问题。

参 考 文 献

- 1 Johnsson CC, Yr, Miller JZ, Slemenda CW, et al. Calcium supplementation and increases in bone mineral density in children. *N Engl J Med*. 1992;327:82-7.
- 2 Lloyd T, Andon MB, Rollings N, et al. Calcium supplementation and bone mineral density in adolescent girls. *JAMA* 1993;270:841-4.
- 3 Bachrach LK. Osteopenia in childhood and adolescence. In Maccus R, et al, eds. *Osteoporosis* San Diego, California: Academic Press, Inc 1996, 785-800.

(下转第39页)

群(如孕妇)有一定的危险性,也不能了解骨代谢的动态表现,一次骨密度检查不能预示继续骨丢失率。加之骨密度仪对早期骨量减少缺乏足够的灵敏度,所以采用准确和安全的方法对妊娠性骨量减少进行评估和监测以达到早期发现并给予预防和治疗的目的是很有意义的。血或尿中灵敏特异的生化指标可以反映当前骨转换状态,提供关于骨形成或骨吸收的信息,并可估计骨丢失的快慢,对高危人群进行监测方便可行。所以反映骨吸收水平的生化指标越来越受到关注。与骨吸收有关的生化指标主要有血清或血浆抗酒石酸盐酸性磷酸酶(TRAP)、I型胶原交联羧基末端肽(CTX)、I型胶原交联氨基末端肽(NTX)、尿羟赖氨酸糖甙(HOLG)、羟脯氨酸(HPr)、脱氧吡啶酚(DPD)、吡啶酚(PYD)和钙(Ca)等。以往常用尿Ca和尿HPr评价骨吸收水平,因为它们特异性和敏感性低,应用受到限制。近几年来DPD、PYD、CTX和NTX正日益受到重视。特别是尿中游离的DPD被认为是反映骨胶原降解和骨吸收的最灵敏和特异的生化指标之一^[3,4]。DPD绝大部分存在于骨骼中,是I型胶原分子之间构成胶原纤维的交联物,起稳定胶原链的作用^[5]。当赖氨酰氧化酶作用于成熟的胶原时,DPD即成为降解产物释放到血液循环中,不经肝脏进一步降解而直接排泄到尿中。DPD在血液和尿中以游离和肽结合形式存在。尿中游离形式占40%,结合形式占60%^[6,7]。尿DPD不仅具有组织特异性,还不受饮食影响,是反映骨吸收的特异的生化指标^[8]。尿中DPD的含量通常以尿肌

酐来校正,所以受肌酐水平影响。

尿DPD排泄率可在骨量明显丢失之前就能鉴别孕妇的骨吸收率,从而筛查出骨吸收活跃的病例,以采取预防性的抗骨吸收治疗措施。在治疗中可长期用DPD监测,并提供疗效肯定与否的客观依据。尿DPD对于妊娠期和哺乳期妇女的抗骨吸收治疗措施的监测尚有待进一步探讨。

参 考 文 献

- 1 Zaninotto M, Bernardi D, Ujka F, et al. A proposal for standardizing urine collections for bone resorption markers measurement. *J Clin Lab Anal*, 1998, 12: 145-149.
- 2 Yamaga A, Taga M, Minaguchi H, et al. Changes in urinary excretions of C-telopeptide and cross-linked N-telopeptide of type I collagen during pregnancy and puerperium. *Endocr J*, 1997, 33: 733-738.
- 3 Demers LM. New biochemical markers for bone disease: is it a breakthrough? *Clin Chem*, 1992, 38: 2169-2170.
- 4 Editorial. Pyridinium crosslinks as markers of bone resorption. *Lancet*, 1992, 340: 278-279.
- 5 Gerrits MI, Thijssen JHH, Rijn HJM. Determination of pyridinoline and deoxypyridinoline in urine, with special attention to retaining their stability. *Clin Chem*, 1995, 41: 571-574.
- 6 Niwa T, Shobara K, Hamada T, et al. Serum pyridinolines as specific markers of bone resorption in hemodialyzed patients. *Clin Chim Acta*, 1995, 235: 33-40.
- 7 Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover I: theoretical considerations and clinical use in osteoporosis. *Am J Med*, 1993, 95: 5A-11S.
- 8 Uenelhart D, Gineyts E, Chapuy M. Urinary excretion of pyridinium crosslinks: a new marker of bone resorption in metabolic bone disease. *Bone Miner*, 1990, 8: 87-96.