

骨转换生化标志物昼夜节律的研究进展

王鸿度 陈庄 扶世杰 张丰正 江花 江洋

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2009)12-0944-06

摘要: 骨转换生化标志物可对骨吸收和骨形成的过程提供快速、灵敏、且无创的监测。然而, 它们的分泌水平呈现出夜晚或清晨高峰而午后或傍晚低谷的昼夜节律, 引起学者们的关注。笔者综述了近 20 年骨转换生化标志物昼夜节律的研究进展。这一节律性波动, 不仅对采样时间和治疗评估有临床意义, 而且体现了骨代谢的一个重要的特性。

关键词: 骨转换生化标志物/血清/尿; 骨吸收; 骨形成; 昼夜节律

DOI: 10.3969/j.issn.1006-7108.2009.12.020

Research progress in circadian rhythms of biochemical markers of bone turnover WANG Hongdu, CHEN Zhuang, FU Shijie, et al. Luzhou Medical College TCM Hospital, Luzhou 646000, China

Abstract: Biochemical markers of bone turnover provide sensitive, rapid and noninvasive monitoring of bone resorption and formation. However, most of them exhibit circadian rhythms with the peak during the night/early morning and the nadir in the late afternoon, which have fascinated attention of many researchers. This paper surveys research progress in circadian rhythms of biochemical markers of bone turnover in recent twenty years. It is concluded that circadian rhythmicity of biochemical markers of bone turnover is not only clinical implications for timing of sample collection and assessment of therapeutic intervention as well an essential feature of bone metabolism.

Key words: Biochemical markers/blood/urine; Bone resorption; Bone formation; Circadian rhythm

骨转换生化标志物 (Biochemical markers of bone turnover) 就是骨组织本身的代谢 (分解与合成) 产物。骨转换标志物分为骨形成标志物和骨吸收标志物, 前者代表成骨细胞活动及骨形成时的代谢产物, 后者代表破骨细胞活动及骨吸收时的代谢产物。由于骨转换标志物代表了全身骨骼的动态状况, 所以已被用作代谢性骨病的诊断、治疗的评价及骨折危险性的有力预测工具。

自上世纪 90 年代, 新一代骨转换生化标志物不断出现。同时, 它们大都呈现夜晚高峰而午后低谷的昼夜节律性 (circadian rhythms), 也被学界所密切关注。笔者仅就这方面近二十年的主要研究进展作一梗概介绍。

1 骨转换生化标志物的昼夜节律

几乎现有的骨转换生化标志物都被发现存在昼夜节律性变化。研究较多的有: 骨吸收生化标志物, 如尿吡啶啉交联物 (pyridinium cross links) 包括吡啶啉 (pyridinoline, PYD) 和脱氧吡啶啉 (deoxypyridinoline, DPD), 尿 I 型胶原交联氨基末端肽 (cross-linked N-telopeptide of type I collagen, NTX), 血清 I 型胶原交联羧基末端肽 (cross-linked carboxyterminal telopeptide of type I collagen, ICTP); 骨形成生化标志物, 如血清骨钙素 (osteocalcin, OC), 血清 I 型前胶原羧基末端肽 (carboxy-terminal procollagen of type I collagen, PICP)^[1-7]等。

1.1 人体研究

Schlemmer 等^[1]对 12 名健康绝经前妇女 (年龄 32 ± 5 岁), 1 天内每隔 3 h 测定尿 PYD/Cr (肌酐) 和 DPD/Cr。

如图 1 所示: 发现二指标有明显的昼夜节律, 峰值在 05:00 ~ 08:00, 谷值在 14:00 ~ 23:00, 24 h 内波

基金项目: 国家中管局科研专项课题资助项目 (06-07JP40)

作者单位: 646000 四川, 泸州医学院中西医结合学院 (王鸿度、扶世杰、张丰正、江花、江洋) 泸州医学院附属医院 (陈庄)

通讯作者: 张丰正, Email: zhangfengzheng27@yahoo.com.cn

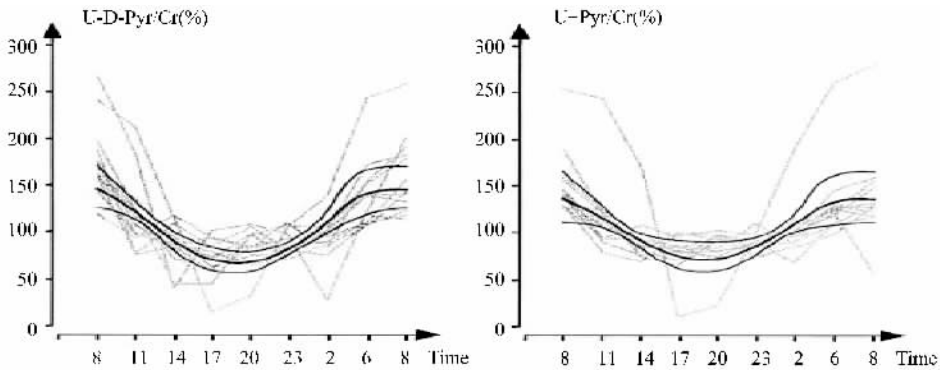


图 1 显示 12 名绝经前女性 24 h 尿 PYD/Cr 和 DPD/Cr 个体平均值的百分数(点线), 估计平均值的余弦曲线及 95% 可信限(实线)。(引自文献^[1])

动约两倍。08:00~11:00 平均下降 25%~35%。

该研究组^[2]又以 9 名健康绝经前妇女为对象, 在 5 天卧床休息的前后, 作两个 27 h 观察。所测 PYD/Cr 和 DPD/Cr 也出现非常显著昼夜节律, 峰值在夜晚而谷值在白昼 ($P < 0.001$)。5 天绝对卧床休息对昼夜节律的模式没有发生影响, 但尿吡啶交联普遍增加 28%。又报道 1 组 12 名健康绝经后早期妇女(年龄 55 ± 2 岁), 12 名健康中年以上绝经后妇女(年龄 73 ± 1 岁), 以及 12 名中年以上患骨质减少但健康的妇女(年龄 73 ± 1 岁)同时进行 27 h 观察。3 组尿吡啶交联表现出非常显著 ($P < 0.001$) 昼夜节律。PYD/Cr ($P < 0.05$)、DPD/Cr ($P < 0.001$) 水平随绝经的时间增加而增加, 但二者昼夜节律变异在各组却很小。

Eastell 等^[3]比较 15 名绝经后正常妇女(年龄 64 ± 7 岁)和 15 名患骨质疏松和脊椎骨折的绝经后妇女(年龄 64 ± 5 岁), 血清骨钙素(OC)浓度夜间增加 5%。正常妇女尿脱氧吡啶林(DPD)排泄物夜间增加 48% ($P < 0.01$), 而骨质疏松的妇女增加 62% ($P < 0.05$), 而且主要在早晨。正常妇女夜间尿钙排泄减少到 20% ($P < 0.001$), 但骨质疏松妇女没有变化。见表 1 提示骨质疏松妇女的指标有异常的变动。

Nielsen 等^[8]对 10 名正常男性志愿者(年龄 23~31 岁)测量血清 OC, 在 03:00 增加达峰值水平 ($P < 0.01$), 上午到达低谷。半夜服用 1 次剂量甲双吡丙酮(30mg/kg)后, 血清 OC 均数较未服药高但峰值出现时间不变, 而上午血清 OC 低谷未出现。又报道女性对象的血清 OC 甚至存在近月节律, 其特征是在黄体期血清 OC 出现最高水平。

Ledger 等^[4]采取在 24 h 静脉滴注钙制剂以抑制

PTH 分泌的措施之前一天和之中, 每 4 h 1 次收集尿样, 对 10 名年青正常女性(年龄 24~35 岁)和 10 名中年以上的妇女(年龄 71~78 岁)测定 NTX; 血清离子钙和 PTH 水平也每 2 h 测定 1 次。两组妇女血清 PTH 水平和尿 NTX 排泄在钙滴入前有明显昼夜节律模式, PTH 在下午出现峰值而尿 NTX 则在夜晚; 钙注入期间, PTH 的峰值消失, 但夜间尿 NTX 排泄峰值仍持续。说明 PTH 不能调节骨吸收的昼夜节律模式。

表 1 正常和骨质疏松妇女骨转换及钙平衡指标昼夜变化(引自文献^[3])

Variable	Means of raw data				P	
	Group ^a	Day ^b	Night ^b	Δ at night, %	Within groups ^d	O vs. N ^c
Serum						
Osteocalcin, $\mu\text{g/ml}$	N	8.91	9.31	4.5	<0.05	NS
	O	9.70	10.19	5.0	<0.01	
Ca^{2+} , $\mu\text{mol/L}$	N	1.248	1.253	0.4	NS	NS
	O	1.263	1.263	0	NS	
Total Ca, $\mu\text{mol/L}$	N	2.35	2.32	-1.2	<0.01	NS
	O	2.39	2.36	-1.2	<0.05	
Albumin, g/L	N	40.2	37.8	-5.9	<0.01	NS
	O	39.7	37.2	-6.3	<0.001	
PTH-IRMA, ng/L	N	41	42	2.5	NS	NS
	O	39	38	-2.1	NS	
P, mmol/L	N	1.21	1.33	9.3	<0.001	NS
	O	1.31	1.38	5.8	<0.01	
Urine						
Ca, $\mu\text{mol/8 h}$	N	1.47	1.21	-17.9	<0.05	0.09
	O	1.59	1.61	1.1	NS	
FECa	N	0.031	0.025	-20.0	<0.001	0.05
	O	0.036	0.036	-2.3	NS	
FEPHos	N	0.168	0.149	-11.3	0.05	NS
	O	0.145	0.138	-4.4	NS	

Hasager^[5]对 12 名健康绝经前妇女(年龄 32 ± 5 岁)24 h 期间每 3 h 测定 1 次 PICP、ICTP(RIA 法)。

结果 PICP ($P = 0.003$) 和 ICTP ($P = 0.00003$) 都展现有显著意义的昼夜节律, 夜间值比下午高出 20%。表明新 I 型胶原形成和旧的降解的血清标志物都表现出清晰的昼夜节律性, 成骨细胞和破骨细胞在夜间增强其活动性。Pedersen 等^[7]研究健康和骨质减少的经绝后妇女 PICP 昼夜节律。12 名经绝早期妇女(年龄 55 ± 2 岁), 12 名经绝晚期妇女(年龄 73 ± 1 岁) 和 12 名骨质减少但健康经绝晚期妇女(73 ± 1 岁) 血样采集 27 h 内每 3 h 1 次。结果 PICP 昼夜节律在 3 组都呈现。PICP 昼夜节律在骨质减少组与年龄配对的健康组有显著差异($P < 0.008$)。PICP 昼夜节律的振幅, 在骨质减少组高两倍, 最高值出现时间较健康组延后约 3h。血浆 OC 采用新开发的 two-site enzyme-linked 免疫吸附测定, 也显示 3 组都有昼夜节律($P = 0.0001 - 0.05$), 组间则差异无显著性。

有人^[9]对恶性肿瘤伴有骨转移灶患者的骨转换标志物昼夜节律模式进行研究。20 名患有乳腺癌的绝经后妇女病情恶化而且至少 1 处骨转移灶存在, 20 名健康妇女作为对照。患者未接受化疗/内分泌治疗。结果在 08:00 患者有较高水平的骨吸收指数(NTX、CTX 及 DPD)($P < 0.0001$)。患者 tALP 和 bALP 高于对照组($P < 0.001$), 但 OC 不高。两组 CTX 和 DPD 值有清楚的昼夜节律。而 NTX、OC、磷及 PTH 的昼夜节律只在对照组明显。说明肿瘤患者的节律性仍能正常同步, 节律指标不依赖于骨骼的肿瘤负荷、年龄及绝经状态。

1.2 动物研究

Hotchkiss 等^[10]测定 2 只短尾猴和 7 只猴子一系列指标, 呈现血清钙夜晚升高和尿胶原交联清晨升高的昼夜节律。其结果与人类为对象的研究相近。Black^[11]以 8 匹成年去势雄马和 7 匹未断奶雄马为对象, 测定血清 OC、可的松水平以及尿 PYD 和 DPD 水平的 24h 变化。幼马的所有指标 24h 均值皆高于成年去势雄马($P < 0.003$)。成年去势雄马 OC、PYD 和 DPD 水平 24 h 内有显著变化: OC 峰值在 24:00~09:00, PYD 和 DPD 峰值在 02:00~08:00。幼马各标志物昼夜变化有相同的模式, 但无显著性。表明成年马的骨转换标志物存在昼夜节律, 且与人相似。有研究^[12]6 匹 2 岁纯种母马的 OC 呈现清楚的昼夜节律, 峰值在 09:00。但骨吸收标志物却没有显著性, 可能跟动物年龄尚幼有关。Liesegang^[13]对 10 只 3~4 岁雌性卵巢切除的小猎犬, 测定血清 OC 和 ICTP 以及尿 HYP(羟脯氨酸) PYD、DPD, 发现

DPD、PYD 及 OC 的水平有清楚的昼夜节律。Ladlow^[14]测定狗的 BALP(骨碱性磷酸酶) DPD、NTX、OC 及 ICTP。除 NTX 外, 其余标志物呈现有显著统计学意义的昼夜节律。

大鼠的昼夜节律模式与人类以及上述动物有所不同, 不论骨形成或骨吸收呈现峰值在白昼, 也是大鼠休息区间(rest span)^[15]。据报道大鼠血清 TRAP(抗酒石酸酸性磷酸酶), PYD, OC, Ca(钙), 和 Pi(无机磷)都显示显著的昼夜节律, 峰值在 09:00 到 13:00, 而谷值在 21:00 到 01:00。但血清 ALP(碱性磷酸酶)降钙素也显示昼夜节律, 峰值在 01:00 到 05:00。

2 昼夜节律的成因研究

骨转换生化标志物的昼夜节律性变化, 本质上反应出骨组织内成骨细胞和破骨细胞活动性的生物节律, 而与其体内代谢清除速度无关。但是, 成骨细胞和破骨细胞来源及功能不同, 却存在近似的昼夜节律, 实在耐人寻味。为探寻其形成原因及影响因素, 学者们提出了多种假说, 并一一加以检验。

2.1 骨吸收昼夜变异性

理论上, 骨吸收的夜高峰可能是缺乏食物消耗所引起, 因净钙吸收不足, 刺激甲状旁腺激素分泌, 导致骨吸收增强以满足机体的钙需求。有研究报道在 23:00 服用钙 1000 mg, 连续 14 d 可抑制骨吸收夜高峰^[16]。但有人采用 33 h 禁食试验来验证上述假说。试验为随机化交叉对照设计, 11 名健康女性(年龄 24 ± 5 岁) 33 h 禁食, 1 周后 33 h 规律进食(08:00~08:30, 11:30~12:30 及 18:00~19:00)进行对照。结果: 禁食期和规律进食期, 尿骨交联(U-CI/Cre)呈现显著昼夜节律, 但禁食期晨间下降较不明显。禁食导致血清 iPTH 减少, 而血清骨钙素 OC 无变化。说明食物消耗对骨吸收昼夜节律有很小影响, 而且与 PTH 无关。禁食期 iPTH 降低可能继发于禁食产生骨吸收增强效应。但晚近对神经性厌食(anorexia nervosa, AN)的研究^[17]发现, 发病期 CTX 昼夜节律被抑制而血清 OC 节律竟然未见, 恢复进食后其昼夜节律又始出现, 但 OC 波动幅度无显著性。目前资料对钙的作用的认识仍相互抵牾。

已知体内内源性可的松水平具有昼夜节律特性, 是否骨吸收节律性波动受其驱动或影响? Schlemmer 等^[18]对此进行研究: 对象为 11 名因垂体能减退($n = 7$)或双侧肾上腺切除术($n = 4$)而替代以氢化可的松的患者。为打破已知可的松的昼夜

节律,他们服用氢化可的松药片被分为相等 4 份。另外 24 名健康绝经后妇女为对照。试验 24 h 内,每 3 h 采集 1 次血样和尿样。丧失可的松昼夜节律的患者,尿吡啶啉交联和 PICP 有正常的昼夜节律,但 OC 却失去正常节律。这表明骨吸收标志物与血清可的松水平的昼夜节律无关,而骨形成标志物 OC 似乎受其影响。

对于年龄、月经状态及体力活动,甚至太空微重力状态下等诸多影响因素的研究,也表明与骨吸收的昼夜变异无关^[2]。有研究^[19]健康人 14 d 卧床后,骨吸收标志物昼夜节律不受影响。Caillot-Augusseau 等^[20]对两名分别太空飞行 21 d 和 180 d 的欧洲宇航员,飞行前后骨转换标志物的变化进行分析。发现骨形成标志物 I 型前胶原末端肽和骨碱性磷酸酶在飞行第 8 天减少,羧基化不全 OC(Undercarboxylated osteocalcin)的百分比增高较早。骨吸收标志物如尿和血清 CTX 在第 8 天增高,PYD、PDP 及 NTX 也增高但少于 CTX。被用作评估骨吸收昼夜节律的尿 CTX 和 PDP 值,显示节律没有改变,见图 2。另外,前面已经提及,持续钙注入致甲状旁腺激素抑制,也并不影响尿 NTX 昼夜节律模式。

2.2 骨形成昼夜变异性

与骨吸收不同,骨形成昼夜变异可能依赖于血清可的松水平的昼夜节律变动。Nielsen 等^[8]采用双盲、安慰剂对照、交叉试验,对 10 名正常男性志愿者(年龄 23~31 岁)通过半夜服用 1 次剂量甲双吡丙酮(30 mg/kg)后,测量血清 OC 和可的松节律的反

应。安慰剂组血清可的松始终在晨 7:30 前达到峰值。夜 24:00 服用甲双吡丙酮后,其峰值明显延迟而且形状平扁($P < 0.01$)。在以上两种情况下,血清 OC 在 3:00 增加达峰值水平($P < 0.01$)。但是,当血清 OC 时间序列同步个体可的松水平低谷时,发现安慰剂血清 OC 在可的松最低值大约 4h 后明显减少($P < 0.01$)。反之,在服用甲双吡丙酮时则没有变化($P > 0.50$)。进一步对比,服用甲双吡丙酮的血清 OC 均数似乎高于安慰剂。提示内源性可的松是 OC 节律的调节者,特别是介导 OC 晨间降低。

有证据表明^[6],骨形成标志物 OC 昼夜节律性在季节变化中相当稳定,与睡眠无明显关系。在吸烟和不吸烟者对比,中度剂量的酒精在几小时内减少血清 OC 但昼夜节律不变。另外,还不是很清楚是否 PTH、1,25-(OH)₂D₃、性激素或生长激素能够调节 OC 昼夜节律。

2.3 大鼠骨转换生化标志物节律性波动的成因

大鼠骨代谢标志物的昼夜节律的产生和同步的机理,大多数研究认为光暗(LD)周期和/或喂养时间是这些节律重要的同步者。为评价不同照明条件对骨生化标志物每日波动的影响,Ostrowska 等^[21]取 48 只成年雄性 Wistar 大鼠,分对照组(光:暗 12:12 h,照明从 7:00 到 19:00)、昼短组(光:暗 0.5:23.5 h,照明 7:00 到 7:30)及昼长组(光:暗 23.5:0.5 h,照明 19:30 到 19:00),按不同照明条件生活 4 周后,24 h 每隔 3 h 收集样品 1 次。结果发现照明条件对大

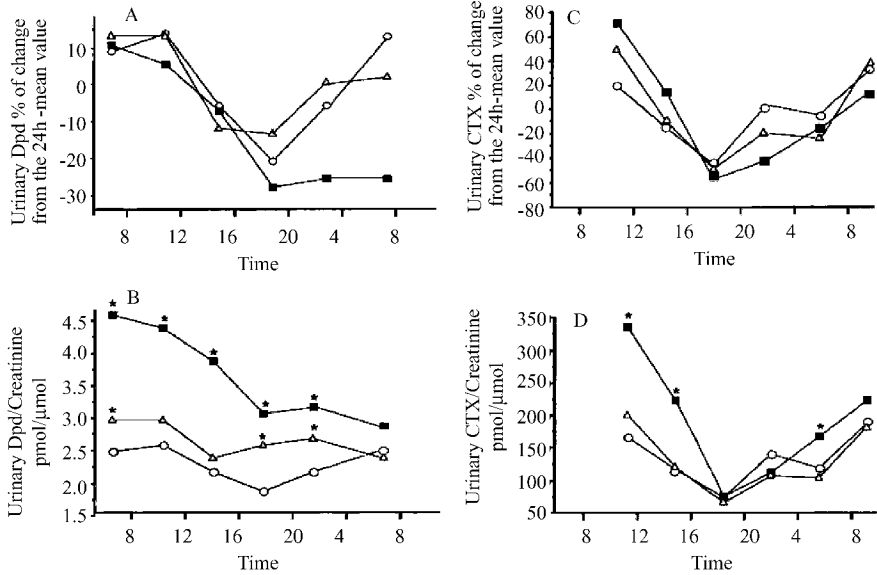


图 2 宇航员太空飞行尿 Dpd (A 和 B) and CTX (C 和 D) 昼夜节律

■ : 飞行时 ; ○ : 飞行前 ; △ : 飞行后 (引自文献^[20])

鼠骨生化标志物昼夜节律有重要影响。昼短组对那些标志物的水平有诱导效果,而昼长组却显示抑制效果。此外,发现在测量值的幅度及日节律时相上有较大变化。ALP、PICP、ICTP、HYP 及 Ca 的日振动也有明显异常,依赖于白昼的时间而且显示与内源性褪黑激素(melatonin, MEL)浓度呈负相关。

照明条件能够影响骨代谢标志物昼夜节律波动,其机理是一些内源性因素,包括全身性和局部性激素,发挥了重要作用^[22]。Ostrowska 等^[22]发现大鼠 ALP、PICP 等节律性波动和 MEL 以及 PTH 分泌的波动有关。而骨吸收标志物 ICTP、HYR(尿排泄羟脯氨酸)和 Ca 的波动,与 MEL 呈负相关,与生长激素(GH)和胰岛素样生长因子-1(IGF-1)呈正相关。

3 结语

随着上世纪九十年代新一代骨转换标志物不断涌现,它们几乎都具有的昼夜节律性波动变化的特点,引起研究者们的关注。据现有各种证据(包括太空微重力状态下),可以证明人类和多种动物(如猴、马、犬及鼠)的多种现存的骨转换生化标志物,呈现出昼夜节律性。

多数研究者同意这样一个概念,骨转换生化标志物的昼夜节律性变化,本质上反应出骨组织内成骨细胞和破骨细胞活动性的生物节律,而与其体内代谢清除速度无关。如血清 OC 存在可再现的昼夜节律变化,是成骨细胞活动生物节律性存在的指示,其生理特性是成骨细胞活动夜间增强至峰值,早晨减弱,男女皆同。但是,骨吸收标志物昼夜节律的形成和同步机理,仍不清楚,骨形成标志物多数集中在受内源性可的松昼夜节律调节上。尚未见到从成骨细胞和破骨细胞功能相耦联,共同在夜间增强其活动性的角度进行研究。

【参考文献】

- [1] Schlemmer A, Hassager C, Jensen SB, et al. Marked diurnal variation in urinary excretion of pyridinium cross-links in premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*, 1992; 476-480.
- [2] Schlemmer A, Hassager C, Pedersen BJ, et al. Posture, age, menopause, and osteopenia do not influence the circadian variation in the urinary excretion of pyridinium crosslinks. *J Bone Miner Res*, 1994; 9: 1883-1888.
- [3] Eastell R, Calvo MS, Burritt MF, et al. Abnormalities in circadian patterns of bone resorption and renal calcium conservation in type I osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab*, 1992; 487-494.
- [4] Ledger GA, Burritt MF, Kao PC, et al. Role of parathyroid hormone in mediating nocturnal and age-related increases in bone resorption. *J Clin Endocrinol Metab*, 1995; 80: 3304-3310.
- [5] Hassager C, Risteli J, Risteli L, et al. Diurnal variation in serum markers of type I collagen synthesis and degradation in healthy premenopausal women. *J Bone Miner Res*, 1992; 1307-1311.
- [6] Nielsen HK. Circadian and circatrigintan changes in osteoblastic activity assessed by serum osteocalcin. Physiological and methodological aspects. *Dan Med Bull*, 1994; 216-227.
- [7] Pedersen BJ, Schlemmer A, Rosenquist C, et al. Circadian rhythm in type I collagen formation in postmenopausal women with and without osteopenia. *Osteoporos Int*, 1995; 5: 472-477.
- [8] Nielsen HK, Brixen K, Kassem M, et al. Inhibition of the morning cortisol peak abolishes the expected morning decrease in serum osteocalcin in normal males: evidence of a controlling effect of serum cortisol on the circadian rhythm in serum osteocalcin. *J Clin Endocrinol Metab*, 1992; 74: 1410-1414.
- [9] Generali D, Berruti A, Tampellini M, et al. The circadian rhythm of biochemical markers of bone resorption is normally synchronized in breast cancer patients with bone lytic metastases independently of tumor load. *Bone*, 2007; 182-188.
- [10] Hotchkiss CE, Jerome CP. Evaluation of a nonhuman primate model to study circadian rhythms of calcium metabolism. *Am J Physiol*, 1998; R494-R501.
- [11] Black A, Schoknecht PA, Ralston SL, et al. Diurnal variation and age differences in the biochemical markers of bone turnover in horses. *J Anim Sci*, 1999; 75-83.
- [12] Jackson BF, Blumsohn A, Goodship AE, et al. Circadian variation in biochemical markers of bone cell activity and insulin-like growth factor-I in two-year-old horses. *J Anim Sci*, 2003; 2804-2810.
- [13] Liesegang A, Reutter R, Sassi ML, et al. Diurnal variation in concentrations of various markers of bone metabolism in dogs. *Am J Vet Res*, 1999; 949-953.
- [14] Ladlow JF, Hoffmann WE, Breur GJ, et al. Biological variability in serum and urinary indices of bone formation and resorption in dogs. *Calcif Tissue Int*, 2002; 186-193.
- [15] Shao P, Ohtsuka-Isoya M, Shinoda H. Circadian rhythms in serum bone markers and their relation to the effect of etidronate in rats. *Chronobiol Int*, 2003; 325-336.
- [16] Blumsohn A, Herrington K, Hannon RA, et al. The effect of calcium supplementation on the circadian rhythm of bone resorption. *J Clin Endocrinol Metab*, 1994; 79: 730-735.
- [17] Caillot-Augusseau A, Lafage-Proust MH, Margaillan P, et al. Weight gain reverses bone turnover and restores circadian variation of bone resorption in anorexic patients. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2000; 113-121.
- [18] Schlemmer A, Hassager C, Alexandersen P, et al. Circadian variation in bone resorption is not related to serum cortisol. *Bone*, 1997; 83-88.
- [19] Kim CS, Maekawa Y, Fujita M, et al. Immobilization on the day 14th does not disrupts the basic diurnal rhythm of bone resorption. *J Gravit Physiol*, 2000; 125-126.

[20] Caillot-Augusseau A , Vico L , Heer M , et al. Space flight is associated with rapid decreases of undercarboxylated osteocalcin and increases of markers of bone resorption without changes in their circadian variation : observations in two cosmonauts. Clin Chem , 2000 :1136-1143.

[21] Ostrowska Z , Kos-Kudla B , Marek B , et al. Influence of lighting conditions on daily rhythm of bone metabolism in rats and possible

involvement of melatonin and other hormones in this process. Endocr Regul 2003 :163-174.

[22] Ostrowska Z , Kos-Kudla B , Marek B , et al. The relationship between the daily profile of chosen biochemical markers of bone metabolism and melatonin and other hormone secretion in rats under physiological conditions. Neuro Endocrinol Lett 2002 417-425.

(收稿日期 : 2009-06-05)