

## OSTEOKALSİN (BGP)

### 2. Klinik Önemi

Güldal KIRKALI , Gül GÜNER

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı

#### ÖZET

*Gama-karboksiglutamat içeren osteokalsin (Bone Gla Protein: BGP) kemiğe özgü bir protein olup, osteoblastlar tarafından sentezlenir. Son yıllarda gerçekleştirilen çalışmalar ile, proteinin kimyasal ve fiziksel özellikleri açıklanmış, ancak kemik fiziyojisi ile ilgili etkin rolü henüz aydınlatılamamıştır. İki kısımdan oluşan bu yazının amacı, osteokalsin üzerinde yayınlanmış literatür bilgilerini derlemek ve irdelemektir. Çalışmanın birinci bölümünde osteokalsin'in biyokimyasal özellikleri üzerinde durulmuş olup, bu bölümde klinik önemi ele alınacaktır.*

*Anahtar sözcükler: Osteokalsin, kemik hastalıkları*

#### SUMMARY

*Osteocalcin-Bone Gla protein-is a gamma-carboxyglutamate containing protein specific for bone and synthesized by osteoblasts. Recent studies on osteocalcin have revealed the chemical and physical properties of this protein while its effective role on bone physiology has not been thoroughly elucidated. The objective of this study, which is composed of two sections, is to review and discuss the literature data published on osteocalcin . In section I, the biochemical properties of osteocalcin have been presented, while this second section will deal with its clinical importance.*

*Key words: Osteocalcin, bone diseases*

#### OSTEOKALSİN ÖLÇÜMÜ VE KLİNİK ÖNEMİ

Metabolik kemik hastalıklarının tanısı ve tedavisinde, biyokimyasal testler, kemik mineral homeostazının endokrin yönü ile sınırlanmıştır. Bu testlere örnekler; kalsiyotropik hormonlar: D vitamini ve metabolitleri, paratiroid hormon ve kalsitonindir. Ancak, hastalık hormonal değişiklik oluşturmuyorsa, tanının konulması ve tedaviye yanıtın izlenebilmesi son derece sınırlıdır. Biopsi örnekleri, kemiğin durumu ile ilgili bilgi

vermekte ise de, tekniğin invaziv özellikte olması ve biopsinin tek bir bölgeden alınması, ayrıca, iskeletin diğer kısımları ile ilgili aydınlatıcı özellikte olmaması, yöntemin diğer sınırlandırıcı yönlerini oluşturmaktadır. Kantitatif kemik absorpsiyometrisi ile statik yapısal değişiklikler ayrıntılı olarak belirlenebilmekte, radyoizotopik sintigrafi ile de kemik metabolizmasının nonspesifik ölçümleri yapılabilmekteyse de, bu yöntemlerden hiçbiri, kemik metabolizmasının spesifik değişikliklerine özgü değildir. Serum alkalin fosfat aktivitesi ve idrar hidrokisprolin düzeyi rutin

olarak kemik hastalıklarının tanısında kullanılmaktadır. Ancak, her iki parametre de kemik dışı sistemik bozukluklardan etkilenmektedir (1-3). Normal bir yetişkinde radioimmunoassay çalışmaları sonucunda dolaşımdaki osteokalsin düzeyi 2-15ng/ml olarak belirlenmiştir (4-11). İskelet, büyük bir osteokalsin deposu olmakla beraber, total iskelet osteokalsin'inin ancak %10<sup>-5</sup>-10<sup>-4</sup>ü dolaşımda bulunmaktadır. Serum osteokalsin düzeyi metabolik kemik hastalıklarının iyi bir göstergesidir. Osteokalsin'in radioimmunometrik olarak ölçümü, özgüllük, duyarlılık ve uygulama kolaylığı açısından üstünlükler gösterir. Bu metod ile, kemik ekstraktında, hücre kültürü ve çeşitli fizyolojik sıvılarda 50pg/ml düzeyinde osteokalsin saptanabilmektedir (6,12). <sup>125</sup>I-inserum proteinlerine nonspesifik olarak bağlanması >200µl serum hacminde meydana gelir. Hemoliz ve lipemi, osteokalsin düzeyinde düşmelere neden olur. Serum örneklerinin uzun süre saklanması -70°C veya aşağısı tercih edilmelidir.

Osteokalsin'in bir kemik Gla proteini olması nedeniyle, idrarda saptanan Gla konsantrasyonu, söz konusu protein ile diğer Gla içeren proteinlerin turnover'lerinin bir göstergesidir (13). Yetişkinde, idrar Gla düzeyi 40µmol/g kreatinin (7,14), yenidoğan ve çocuklarda ise 100µmol/g kreatinin düzeyindedir (7,15). İdrar Gla düzeyi, osteoporozda, kemik rezorpsiyonunun artması nedeniyle yükselmektedir (16,17). Skleroderma, dermatomiyozit ve nefrokalsinoz gibi ektopik kalsifikasyonlar ile karakterize hastalıklarda idrar Gla konsantrasyonu değişkenlik gösterir (18,19). İdrar Gla düzeyinin en büyük kaynağını K vitamini bağımlı koagülasyon proteinleri oluşturmaktadır. Bu nedenle, metabolik kemik hastalığının tanısı için, serum osteokalsini, idrar Gla düzeyine oranla daha spesifiktir.

## OSTEOKALSİN VE KEMİK HASTALIKLARI

Kemik turnover'nin yüksek olduğu hastalıklarda, serum osteokalsin düzeyi artar (20-27). Serum osteokalsin düzeyi ile alkalen fosfataz enzim aktivitesi arasında bir ilişkinin varlığı savunulmakta ise de, bu iki parametre arasında, her zaman, bir paralellik bulunmamaktadır (4,25,28-34). Serum osteokalsin düzeyi kemik tutulumu olmayan hastalarda normal iken (27), alkalen fosfataz, kemik dışında da bulunması nedeniyle bu özgüllüğe sahip değildir. Bundan dolayı, serum osteokalsin'i hastalığın kemiğe özgü yönünü aydınlatır. Serum osteokalsin düzeyinin hastalıklarla ilişkili değişimi Şekil'de özetlenmektedir.

**1. Dinamik Ölçümlerle İlişki:** Normal kişilerde ve postmenopozal osteoporoz, tiroid bozuklukları, primer ve sekonder hiperparatiroidizm gibi hastalıklarda, kemik yapımının histomorfometrik ölçümleri ile serum osteokalsini pozitif korelasyon içindedir (35).

**2. Kırıklar:** Serum osteokalsin düzeyi, kemik kırıklarında artış gösterir. Femur başı kırığı olan ve açık redüksiyon yapılması, çivi konulması gereken hastalarda serum osteokalsin'i artmaktadır. Buna karşın, kırık veya dejeneratif kalça eklemleri hastalığı nedeniyle kalça protezi konulan kişilerde serum osteokalsin düzeyinin normal olduğu gözlenmektedir (27). Buna göre, kırık bölgenin çıkarıldığı hastalarda, stabilize kemik parçaları normal olarak onarılan ve çivi konulan hastalara oranla, kemiğin yeniden şekillenmesi, daha az olmaktadır. K vitamini düzeyi, yaşlı osteoporotik ve femur başı kırığı olan hastalarda, aynı yaşta normal kontrol grubunun 1/3'ü kadardır. Serum osteokalsini, K vitamini yetersizliğinde (36-39)

veya warfarin (40-42) ve fenpropromon (43-44) tedavisi sonucunda, daha az karboksile olmaktadır.

**3. Osteoporoz:** Osteoporoz, erken tanı kriterlerinin azlığı ile bilinen metabolik bir kemik hastalığıdır. Dolaşımdaki osteokalsin düzeyi osteoporoz'un önemli bir biyokimyasal belirleyicisidir. Kadında menopoz sonrasında osteoporoz riski artmakta, serum osteokalsin düzeyi yükselmektedir. Buna karşı, lomber spinalis, midradius ve distal radiustaki kemik mineral yoğunluğu, osteokalsin ile ters orantılı olarak azalmaktadır (5,29,30,45). Yüzon postmenopozal normal kadın üzerinde yapılan çalışmada, total vücut nötron aktivasyon analizi ile önemli ölçüde düşük kalsiyum ve fosfor değerleri saptanmış, menopoz döneminin ilk onbeş yılı içinde olan bu kadınlarda osteokalsin düzeyi ise, diğer normal kadınlara göre yüksek olarak belirlenmiştir (46). Bu gözlemler, normal kadında, artmış kemik turnover'inin neden olduğu yaşa bağlı kemik kaybını, kemik rezorpsiyonunun yapımdan daha fazla olduğunu, negatif kalsiyum dengesini ve iskelet kitlesinin giderek azaldığını göstermektedir. Yaşlı normal kadınlarda gözlenen yüksek osteokalsin düzeyleri, histomorfometrik olarak belirlenen kemik oluşum hızı artışı ile ilişkilidir (47).

Postmenopozal osteoporozda osteokalsin düzeyi, değişik çalışmalarda, düşük (48,49), normal (16, 50), yüksek (5,30,46) olarak belirtilmiştir. Bu farklılık, postmenopozal osteoporozda kemik oluşum hızının değişkenliğinden kaynaklanmaktadır (51).

Kemik yapımı ile ilgili dinamik parametrelerden olan serum osteokalsin düzeyi, interlökin I gibi

kemik rezorpsiyonunu stimüle eden faktörlerin yüksek düzeylerinin gözlemlendiği hastalarda artmaktadır (52). Serum osteokalsin düzeyi, osteoporotik kadınlarda tedavi amaçlı kalsitriol ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ) kullanımı ile, kontrol grubuna göre iki kat yükselir (48,53,54). Postmenopozal osteoporozda osteoblastik yanıt bozulmamıştır. Ancak kemik yapımının, yüksek düzeyde kemik rezorpsiyonunu karşılayıcı olarak, ekzojen bir etkenle uyarıma gereksinimi vardır. Kemik kaybını hızlandıran değişik birçok faktör bulunmaktadır. Optimal tedavi, risk faktörlerinin belirlenmesine, kemik kaybının erken tanısına ve bireyselliğe bağlıdır. Bu amaçla yapılan seri osteokalsin ölçümleri tedavinin etkinliği ile ilgili bilgi verebilmektedir. Postmenopozal kadınlara östrojen uygulanması, kemik rezorpsiyonunu azaltarak kemik kaybını önler. Ancak kemik yapımını da azaltabilmektedir. Östrojenin kemik yapımını baskılayıcı etkisi, ooforektominin serum osteokalsin konsantrasyonunu artırması (55-57), buna karşılık östrojen tedavisinin postmenopozal kadında, dolaşımdaki osteokalsin düzeyini azaltması ile desteklenmektedir (33,58). Uygulanan tedaviye progestajen eklenmesi sonucunda kemik yapımı ve osteokalsin düzeyi artmaktadır (59). Gonadotropin salgılatıcı hormon analogu gibi ovülasyonu inhibe eden ve kan östrojen düzeyini indirgeyen bir bileşiğin (örn: büyüme hormonu salgılatıcı hormon) alımı ile osteokalsin düzeyi artmaktadır (60-62).

**4. Paget Hastalığı:** Paget hastalığı, kemik matriksi ve mineralini içeren anormal, düzensiz artmış kemik turnoveri ile karakterizedir(63). Çalışmalara ilişkin sonuçlar serum osteokalsin düzeyinin artışı yönündedir. Bununla beraber iki ye-

ni çalışmada, histomorfometri (64), direkt kemik biopsisi veya kemik sintigrafisi (65) ile hastalığın ileri evrede olduğu belirlenmesine karşın, serum osteokalsin düzeyi düşük bulunmuştur. Bu iki çalışma alkalin fosfatın kemik dinamiğinde daha duyarlı bir parametre olduğunu savunmaktadır. Kemik yapımı ve rezorpsiyonu normal ise, idrar Gla düzeyi ile serum osteokalsini arasında bir ilişki bulunmaktadır. Bunun yanısıra, Paget hastalığında idrar Gla düzeyi normaldir (16). Bu beklenmeyen durum; dolaşıma katılmak üzere yeni sentezlenmiş proteinin, genç ve gelişmekte olan kemik tarafından absorbe edildiği veya Gla içeren rezorptif ürünlerin, tekrar şekillenmekte olan kemiğe inkorpore olduğu şeklinde açıklanmaktadır. Bu tamamlanmamış fragmanlar Paget hastalığında gözlenen düzensiz kemik oluşumundan sorumlu olan faktörlerdendir. Osteokalsin, Paget hastalığı tedavisinin izlenmesinde yararlı bir parametredir (66).

**5. Osteojenezis İmperfekta, Osteokondrodizplazi ve Fetal Warfarin Sendromu:** Osteojenezis imperfekta'da (OI), serum osteokalsin düzeyi artmaktadır (28,67). Bu grup hastalıklarda kemik turnover'nin düşük ve yüksek olduğu durumlar gözlenmekte ve osteokalsin değerleri osteoporozda olduğu gibi değişmektedir (68). OI da, intramüsküler kalsitonin injeksiyonu sonucunda serum osteokalsini ve buna paralel iyonize kalsiyum düzeyi de azalmaktadır.

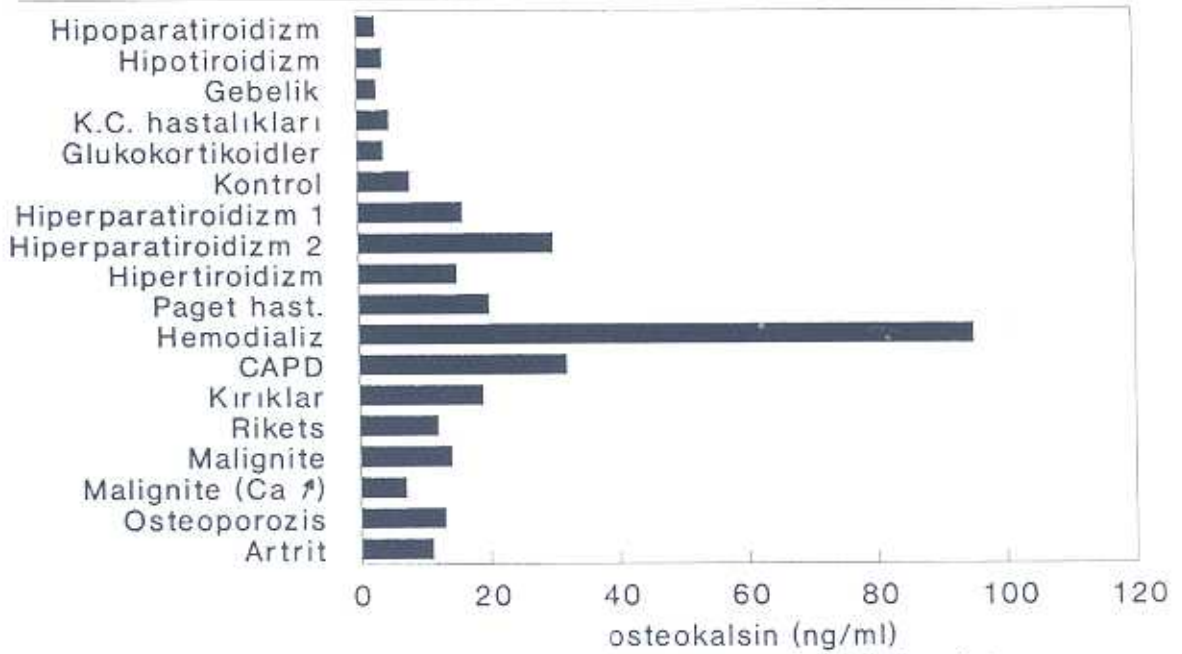
Osteokondrodizplazi, konjenital ve kalıtsal olarak iskelet büyümesi ve şekillenmesinin bozulması ile karakterizedir. Bu hastalıklara seyrek rastlanması nedeniyle ancak birkaç kişide osteokalsin düzeyi saptanabilmiştir.

Kemik "turnover" i hızı ile osteokalsin düzeyi arasında genel bir ilişki bulunmaktadır. Örneğin, osteoklastik aktivite eksikliği nedeniyle oluşan osteopetrozis'te, osteokalsin konsantrasyonu düşük gözlenmektedir (22,69). Osteopetrozis' in iki otozomal dominant formunda osteokalsin ve alkalin fosfat düzeyleri normal sınırlarda bulunmaktadır (70). Osteopetrozis'li yetişkin ve çocuklarda kemik rezorpsiyonunun stimülasyonu yüksek dozda kalsitriol verilerek sağlanmakta, kemik "turnover"inin artışının sonucu olarak dolaşımdaki osteokalsin düzeyi de artmaktadır (71, 72).

Gebeliğin erken döneminde kumadin (sodyum warfarin) alımı "kondrodizplazi punctata" adı verilen kemik değişikliklerine neden olmaktadır (73). Bu fetal warfarin embriyopatisi burun köprüsünün, distal falanjlarda hipoplazisinin yanısıra, epifiz ve vertebralarda gözlenen kalsifikasyonlar ile karakterizedir.

Otozomal resesif olarak ender görülen K vitamini koagülopatilerinde (74), vitamin K redüktaz enzimidaki anormallik K vitaminine bağımlı tüm proteinlerde görülmektedir. Bu hastalarda, serum osteokalsininin karboksillenmemiş formu artmaktadır (75).

**6. Romatoid Artrit:** Çalışmaların çoğu, romatoid artritte kemik yapımının azalması ile birlikte serum osteokalsin düzeyinin alçaldığını göstermektedir (76). Bir çalışmada hastalık ile serum osteokalsini arasında bir ilişki gösterilmemekte (77), diğer bir çalışmada ise, osteokalsin düzeyinin yükseldiği savunulmaktadır (78). Bu değişken sonuçlar, osteoporotik kişilerdekine benzer olup, kemik tutulumunun heterojenitesini yansıtmaktadır.



Şekil 1. Kemik ve kemik dışı hastalıklarda serum osteokalsin düzeyleri  
CAPD = Kontinu, ambulator periton dializi.

#### MALİGNİTE

Çalışmaların çoğu, serum osteokalsin düzeyinin kemik metastazı olan hastalarda arttığını, ancak kemiğe yayılımın söz konusu olmadığı durumlarda normal olduğunu göstermektedir. Ayrıca, yeni radyoterapi veya kemoterapi görmüş hastalarda serum osteokalsin düzeyi, kemik metastazı bulunan ancak hiçbir terapi almamış kişilere göre, anlamlı ölçüde düşük bulunmaktadır (27). Ancak bu çalışmalarda, kemik lezyonun tipi (litik veya sklerotik) ve primer tümörün yeri belirtilmemektedir. Halbuki bu ayırım, büyük önem taşımaktadır. Prostat kanserinde, serum osteokalsin düzeyi kemik metastazı olan ve olmayan hastalarda düşük bulunmaktadır (79). Diğer taraftan metastatik meme kanserinde, kemik metastazı bulunan hastalarda, osteokalsin, önemli ölçüde yüksek saptanmaktadır (80). Osteokalsin düzeyindeki bu artış, kemik metastazının başlangıç döneminde belirlenebilmektedir (81).

Serum osteokalsin düzeyi, malign hiperkalsemi bulunan hastalarda düşük olarak gözlenmekte,

bunu destekleyici olarak histomorfometrik ölçümlerde de azalmış kemik yapımı saptanmaktadır (82). Benzer olarak, malign melanomlu hastaların %80'inde serum osteokalsin düzeyi hastalığın derecesi ile ters orantılı olarak, litik özellikte kemik lezyonlarının ve hiperkalseminin bulunduğu olgularda, düşük bulunmaktadır. Kemoterapiyi izleyen dönemde serum osteokalsin düzeyi artmaktadır. Bununla birlikte, bazı hastalarda hastalığın evresi ile paralel yükselen osteokalsin düzeyleri saptanmaktadır (83). Bu farklılıklar, kemik yapımı ile rezorpsiyonu arasındaki bireysel dengesizliklerden kaynaklanmaktadır. Farklı primer tümör bölgesine sahip hiperkalsemielli ellidört hastayı içeren bir çalışmada, osteokalsin düzeyi yükselmekte, ancak hiperkalseminin tedavisi sonucunda normal değerine geri dönmektedir (84).

#### RENAL OSTEODİSTROFİ

Böbrek glomerular fonksiyonu bozulduğunda, dolaşımdaki osteokalsin konsantrasyonu yükselmektedir. Bu durum yetişkinlerde, glomerular filt-

rasyon hızı 20-30ml/dak'nın altına düştüğünde gözlenmektedir(85). Böbrek yetmezliğinin ileri evrelerinde serum osteokalsin düzeyi değişkenlik göstermekle birlikte, genelde yüksektir. Normal değerlerin 2 ile 200 katı arasında değişmekte ve serum kreatinini ile bağlantılı olmaktadır(28,31). Anefrik yetişkinlerde, aşırı büyüme ile beraber yüksek osteokalsin düzeyleri(1.600ng/ml) saptanmaktadır (28,32,34). Böbrek hastalığının son evresinde (end-stage renal disease; ESRD) osteokalsin düzeyi, böbrek klirensinin düşmesi ve kemik turnoverinin artması gibi faktörlerin etkisi ile önemli ölçüde değişkenlik göstermektedir(28,34).

Kontinü ambulator peritoneal dializli (CAPD) hastalarda, serum osteokalsin konsantrasyonu hemodializ hastalarınınkinden daha düşüktür(28,31). Peritoneal dializatta önemli düzeyde osteokalsin ve immünoaktif fragmanlara rastlanmaktadır. ESRD'li ve paratiroidektomili hastalarda, serum immünoaktif paratiroid hormon ve  $1,25(OH)_2D_3$  düzeyi azalırken, serum osteokalsin düzeyinde de %70'e varan bir düşüş gözlenmekte ve bu değerler tekrar normale dönmemektedir(87,88).

## TIROİD HASTALIKLARI

Osteokalsin hipertiroidi'de, tiroid hormonunun hipersekresyonuna bağımlı olarak kemik yapımındaki artışın duyarlı bir göstergesidir (89). Hipertiroidi tedavisinin sonunda serum tiroid hor-

monu normale dönmekte, osteokalsin, kalsiyum, alkalen fosfataz, idrar hidroksiprolini gibi kemik ile ilgili parametreler yüksek düzeyde kalmaktadır (89).Kemığın yapısal biriminin şekillenmesi 3-4 aylık bir süre gerektirmektedir. Bu süre hipertiroidizm tedavisinden sonraki serum osteokalsin düzeyinin normale dönme zamanına eşittir. Buna karşılık, tedavi sonrasında alkalen fosfataz daha yüksek kalmaktadır(90). Hipertiroidi de, osteoklastik ve osteoblastik aktivitelerin her ikisi de artmakta ve kemik kitlesinde kayıp olmaktadır. Kemik kitlesinin dual foton absorpsiyometri gibi non invaziv tekniklerle tekrarlayan ölçümleri ve osteokalsin düzeyi belirlenmesi, kemığın yeniden yapılığını aydınlatan ölçümlerdir. Sonuçta osteokalsin hipertiroid osteopatisini gösteren en duyarlı belirleyici olarak görülmektedir (89,90).

## SONUÇ

Osteokalsin, osteoblastlar tarafından sentezlenen K vitaminine bağımlı bir protein olması nedeniyle, kemik metabolizması ile ilişkili hastalıklarda önem taşımaktadır. Bunun dışında, kemik ile direkt ilgili olmayan, ancak hiperparatiroidizm, renal osteodistrofi gibi dolaylı olarak kemik turnoverini etkileyen hastalıkların tanısında da osteokalsin önemli rol oynayan bir parametre özelliğindedir.

---

---

**KAYNAKLAR**

---

---

1. Krane S, Munoz AJ, Harris ED. Urinary polypeptides related to collagen synthesis. *J Clin Invest* 1970; 49: 716-720.
2. Posen S, Cornish C, Kleerekoper M. Alkaline phosphatase and metabolic bone disorders. In: Avioli LV, Krane SM., ed. *Metabolic Bone Disease*. New York: Academic Press, 1977: 141-181.
3. Prockop DJ, Kivirikko K. Relationship of hydroxyproline excretion in urine to collagen metabolism. *Ann Intern Med* 1967; 66: 1243-1266.
4. Catherwood BD, Marcus R, Madvig P, Cheung AK. Determinants of bone gamma-carboxyglutamic acid-containing protein in plasma of healthy aging subjects. *Bone* 1985; 6: 9-13.
5. Delmas PD, Wahner HW, Mann KG, Riggs BL. Assessment of bone turnover in postmenopausal osteoporosis by measurement of serum bone Gla-protein. *J Lab Clin Med* 1983; 102: 470-476.
6. Gundberg CM, Hauschka PV, Lian JB, Gallop PM. Osteocalcin isolation, characterization and detection. In: Moldavé K. ed. *Methods in Enzymol*. New York: Academic Press, 1984; 107: 516- 544.
7. Gundberg CM, Lian JB, Gallop PM. Measurement of gamma-carboxyglutamate and circulating osteocalcin in normal adults and children. *Clin Chim Acta* 1983; 128: 1-8.
8. Gundberg CM, Wilson MS, Gallop PM, Parfitt AM. The determination of osteocalcin in human serum: a comparison of two kits with a well-characterized assay. *Clin Chem* 1985; 31: 1720-1723.
9. Juppner H, Schettler T, Giebel G, Wenner S, Hesch RD. Radioimmunoassay for human osteocalcin using an antibody raised against the synthetic human (h37-49) sequence. *Calcif Tissue Int* 1986; 39: 310-315.
10. Simionescu L, Dumitru C, Zamfir-Grigorescu A, et al. A heterologous radioimmunoassay system for human osteocalcin. Applications in performance sports girls. *Endocrinologie* 1987; 25: 101-106.
11. Taylor AK, Linkhart SG, Mohan S, Baylink DJ. Development of a radioimmunoassay specific for human osteocalcin. *Metabolism* 1988; 37: 872-877.
12. Price PA, Nishimoto SK. Radioimmunoassay for the vitamin K dependent protein of bone and its discovery in plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77: 2234-2238.
13. Shah DV, Tews JK, Harper AE, Suttie JW. Metabolism and transport of gamma - carboxyglutamic acid. *Biochem Biophys Acta* 1978; 539: 209-217.
14. Gundberg CM, Lian JB, Gallop PM. Gamma-carboxyglutamate analysis by selective anion exchange elution and fluorescent detection. *Anal Biochem* 1979; 98: 219-225.

15. Sann L, Leclercq M, Fouillit M, Chapuis MC, Bruyere A. Gamma-carboxyglutamic acid in urine of newborn infants. *Clin Chim Acta* 1984; 142: 31-37.
16. Gunderg CM, Lian JB, Gallop PM, Steinberg JJ. Urinary gamma-carboxyglutamic acid and serum osteocalcin as bone markers: Studies in osteoporosis and Paget's disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1983; 57: 1221-1225.
17. Nordin DEC. The definition and diagnosis of osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 1987; 40: 57-58.
18. Lian JB, Pachmann LM, Gunderg CM, Partridge M. Gamma-carboxyglutamate excretion and calcinosis in juvenil dermatomyositis. *Arthritis Rheum* 1982; 25: 1094-1100.
19. Lubinsky M, Angle C, Marsh PM, Witkop CJ. Syndrome of amelogenesis imperfecta, nephrocalcinosis, impaired renal concentration, and possible abnormality of calcium metabolism. *Am J Med Genet* 1985; 20: 233-243.
20. Galli M, Nuti R, Franci B, et al. Serum osteocalcin radioimmunoassay in bone diseases. *Ric Clin Lab* 1985; 15:253-257.
21. Hyldstrup L, Clemmensen B, Jensen BA, Transbl L. Non invasive evaluation of bone formation:Measurements of serum alkaline phosphatase, whole body retention of diphosphonate and serum osteocalcin in metabolic bone disorders and thyroid disease. *Scand J Clin Lab Invest* 1988; 48: 611 -619;
22. Kruse D, Kraecht U. Evaluation of serum osteocalcin as an index of altered bone metabolism. *Eur J Pediatr* 1986; 45: 27-33.
23. Ljunghall S, Hallgren R, Rastad J. Serum osteocalcin levels in normal subjects and patients with primary hyperparathyroidism. *Exp Clin Endocrinol* 1985; 86: 218-222.
24. Martinez ME, Herranz L, De Pedro C, Pallardo LF. Osteocalcin levels in patients with hyper- and hypoparathyroidism. *Horm Metab Res* 1986; 18: 212-214.
25. Melick RA, Farrugia W, Quelch KJ. Plasma osteocalcin in man. *Aust N Z J Med* 1985; 15: 410-416.
26. Price PA, Parthemore JB, Deftos LJ. New biochemical marker for bone metabolism: Measurement by radioimmunoassay of bone Gla protein in the plasma of normal subjects and patients with bone disease. *J Clin Invest* 1980; 66: 878-883.
27. Slovik RM, Gunderg CM, Neer RM, Lian JB. Clinical evaluation of bone turnover by serum osteocalcin measurements. *J Clin Endocrinol Metab* 1984; 59: 228-230.
28. Coen G, Mazzaferro S, Bonucci E, et al. Bone gla protein in predialysis chronic renal failure. Effects of 1,25 (OH)<sub>2</sub> D<sub>3</sub> administration in a long-term follow-up. *Kidney Int* 1985; 28: 783-790.
29. Delmas PD, Stenner D, Heinz K, Wahner K, Mann G, Riggs L. Increase in serum bone gamma-carboxyglutamic acid protein with aging in women. Implications for the mechanism of age-related bone loss. *J Clin Invest* 1983; 71: 1316-1321.
30. Epstein S, Poser JW, McClintock R, Johnston CC, Bryce G, Hui S. Differences in serum bone gla protein with age and sex. *Lancet* 1984; 1: 307-310.



31. Epstein S, Traberg H, Raja R, Poser J. Serum and dialysate osteocalcin levels in hemodialysis and peritoneal dialysis patients after renal transplantation. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 60: 1253-1256.
32. Malluche HH, Faugere MC, Fanti P, Price P. Plasma levels of bone Gla protein reflect bone formation in patients on chronic maintenance dialysis. *Kidney Int* 1984; 26: 869-874.
33. Podenphant J, Christiansen C, Catherwood BD, Deftos LJ. Serum bone Gla protein variation during prophylaxis of postmenopausal women with estrogen and calcium. *Calcif Tissue Int* 1984; 36: 536-540.
34. Sebert JL, Ruiz JC, Fournier A, et al. Plasma bone Gla-protein: Assessment of its clinical value as an index of bone formation in hemodialyzed patients. *J Bone Miner Res* 1987; 2: 21-27.
35. Garcia-Carrasco M, Gruson M, De Vernejoul MC, Denne MA, Miravet L. Osteocalcin and bone morphometric parameters in adults without bone disease. *Calcif Tissue Int* 1990; 42: 13-17.
36. Einhorn TA, Gundberg CM. Vitamin K deficiency and altered osteocalcin metabolism does not affect fracture healing (Abstract). *J Bone Miner Res* 1987; 2 suppl: 460 A.
37. Einhorn TA, Gundberg CM, Devlin VJ, Waman J. Fracture healing and osteocalcin metabolism in vitamin K deficiency. *Clin Orthop Relat Res* 1988; 237: 219-225.
38. Price PA. Role of vitamin K-dependent proteins in bone metabolism. *Annu Rev Nutr* 1988; 8: 565-583.
39. Price PA, Williamson MK, Lothringer JW. Origin of the vitamin K-dependent bone protein found in plasma and its clearance by kidney and bone. *J Biol Chem* 1981; 256: 12760-12766.
40. Lian JB. Factors contributing to intracavity calcification. In: Rubin RP, Weis GB, Putney JW., ed. *Calcium in Biological Systems*, New York: Plenum, 1985; 633-644.
41. Menon RK, Gill DS, Thomas M, Kernoff PBA, Dandona P. Impaired carboxylation of osteocalcin in warfarin-treated patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 64: 59-61.
42. Price PA, Williamson MK. Effects of warfarin on bone: Studies on the vitamin K-dependent protein of rat bone. *J Biol Chem* 1981; 256: 12754-12756.
43. Pietschmann P, Woloszczuk W, Panzer S, Kyrle P, Smolen J. Decreased serum osteocalcin levels in phenprocoumon-treated patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 66: 1071-1074.
44. Van Haarlem LJ, Knapen MH, Hamulyak K, Vermeer C. Circulating osteocalcin during oral anticoagulant therapy. *Thromb Haemostasis* 1988; 60: 79-82.
45. Nilas L, Christiansen C. Bone mass and its relationship to age and the menopause. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 65: 697-702.
46. Yasamura S, Aloia JF, Gundberg CM, Yeh J, Vaswani AN, et al. Serum osteocalcin and total body calcium in normal pre- and postmenopausal osteoporotic patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 64: 681-685.
47. Eastell R, Delmas PD, Hodgson SF, Eriksen EF, Mann KG, Riggs BL. Bone formation rate in older normal women: Concurrent assessment with bone histomorphometry, calcium kinetics, and biochemical marker. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67: 741-748.
48. Caniggia A, Nuti R, Galli M, Lore F, Turchetti V, Righi GA. Effect of a long-term treatment with 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> on osteocalcin in postmenopausal osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 1986; 38: 328-332.

49. Ismail F, Epstein S, Pacifici R, Droke D, Thomas SB, Avioli LV. Serum bone Gla protein (BGP) and other markers of bone mineral metabolism in postmenopausal osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 1986; 39: 230-233.
50. Brown JP, Delmas PD, Malaval L, Eduoard C, Chapuy MC, Meunier PJ. Serum bone Gla-protein: A specific marker for bone formation in postmenopausal osteoporosis. *Lancet* 1984; 1: 1091-1093.
51. Whyte MP, Bergfeld MA, Murphy WA, Avioli LV, Teitelbaum SL. Postmenopausal osteoporosis- a heterogeneous disorder as assessed by histometric analysis of iliac bone from untreated patients. *Am J Med* 1982; 82: 193-202.
52. Pacifici R, Rifas L, Teitelbaum S, et al. Spontaneous release of interleukin 1 from human blood monocytes reflects bone formation in idiopathic osteoporosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 4616-4620
53. Duda RJ, Kumar R, Nelson KI, Zinsmeister AR, Mann KG. 1,25 dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> stimulation test for osteoblast function in normal and osteoporotic postmenopausal women. *J Clin Invest* 1987; 79: 1249-1253.
54. Zerwekh JE, Sakhae K, Pak CY. Short-term 1,25 dihydroxy vitamin D<sub>3</sub> administration raises serum osteocalcin in patients with postmenopausal osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 60: 615-617.
55. Damucci GA, Martin RB, Patterson-Buckendahl P. Ovariectomy and trabecular bone remodeling in the dog. *Calcif Tissue Int* 1987; 40: 194-199.
56. Ismail F, Epstein S, Fallon MD, Thomas SB, Reinhardt TA. Serum bone Gla protein and the vitamin D endocrin system in the oophorectomized. *Endocrinology* 1988; 122: 624-630.
57. Stepan JJ, Presl J, Broulik P, Pacovsky V. Serum osteocalcin levels and bone alkaline phosphatase isoenzyme after oophorectomy and in primary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 1987 ;64: 1079-1082.
58. Stock JL, Coderre JA, Mallette LE. Effects of a short course of estrogen on mineral metabolism in postmenopausal women . *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 61: 595-600.
59. Christiansen C, Riis BJ, Nilas L, Rødero P, Deftos LJ. Uncoupling of bone formation and resorption by combined estrogen and progestagen therapy in postmenopausal osteoporosis. *Lancet* 1985; 1: 800-801.
60. Franchimont P, Urbain-Choffray D, Lambelin P, et al. Effects of repetitive administration of growth hormone-releasing hormone on growth hormone secretion, insulin-like growth factor I, and bone metabolism in postmenopausal women. *Acta Endocrinol* 1989; 120: 121-128
61. Gudmundsson JA, Ljunghall S, Bergquist C, et al. Increased bone turnover during gonadotropin - releasing hormone superagonist - induced ovulation inhibition. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 65: 159-163.
62. Johansen JS, Riis BJ, Hasager C, Moen M, Jacobson J, Christiansen C. The effect of a gonadotropin-releasing hormone agonist analog (Nafarelin) on bone metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67: 701-706.
63. Singer FR, Mills BG. Paget's disease of bone: etiologic, and therapeutic aspects. In: Peck WA., ed. *Bone and Mineral Research* New York: Elsevier, 1984; 2: 394-421.
64. Delmas PD, Demiaux B, Malaval L, Chapuy MC, Meunier PJ. Serum bone Gla protein is not a sensitive marker of bone turnover in Paget's disease of bone. *Calcif Tissue Int* 1986; 38: 60-61.

65. Wilkinson MR, Wagstaffe C, Delbridge L, Wiseman J, Posen S. Serum osteocalcin concentrations in Paget's disease of bone. *Arch Intern Med* 1986; 146: 268-271.
66. Fleisch H. Bisphosphonates: Mechanism of action and clinical application. In: Peck WA, Princeton NJ., ed. *Bone and Mineral Research*, Excerpta Med, 1983; 1: 319-356.
67. Castells S, Yasumura S, Fusi MA, Colbert C, Bachtell RS, Smith S. Plasma osteocalcin levels in osteogenesis imperfecta. *J Pediatr* 1986; 109: 88-91.
68. Silience DO, Senn A, Danks GM. Genetic heterogeneity in osteogenesis imperfecta. *J Med Genet* 1979; 26: 101-116.
69. Cole DEC, Carpenter TO, Gundberg CM. Serum osteocalcin levels in children with metabolic bone disease. *J Pediatr* 1985; 106: 770-776.
70. Bollerslev J, Nielsen HK, Larsen HF, Mosekilde L. Biochemical evidence of disturbed bone metabolism and calcium homeostasis in two types of autosomal dominant osteopetrosis. *Acta Med Scand* 1988; 77: 741-746.
71. Delmas PD, Chapuy MC, Viala JJ, Meunier PJ. Improvement of adult congenital osteopetrosis with high doses of calcitriol (abstract). *J Bone Miner Res* 1987; supp 2: 93 A.
72. Key L, Cames D, Cole S, et al. Treatment of congenital osteopetrosis with high-dose calcitriol. *N Engl J Med* 1984; 310: 409-415.
73. Hunter AGW, Rimo DL, Koch UM, et al. Chondrodysplasia punctata in an infant with duplication 16 p due to 7: 16 translocation. *Am J Med Genet* 1985; 21: 581-589.
74. Johnson CA, Chung KS, McGrath KM, Bean PE, Roberts HR. Characterization of a variant prothrombin in a patient congenitally deficient in factor II, VII, IX and X. *Br J Haematol* 1980;44: 461-469.
75. Lian JB, Gundberg CM. Osteocalcin: biochemical considerations and clinical applications. *Clin Orthop Relat Res* 1988; 226: 267-291.
76. Als OS, Riis BJ, Gotfredsen A, Christiansen C, Deftos LJ. Biochemical markers of bone turnover in rheumatoid arthritis. *Acta Med Scand* 1986; 219:209.
77. Ekenstam EA, Ljunghall S, Hallgren R. Serum osteocalcin in rheumatoid arthritis and other inflammatory arthritides: Relation between inflammatory activity and the effect of glucocorticoids and remission inducing drugs. *Ann Rheum Dis* 1986;45:484.
78. Gevers G, Devos P, DeRoo M, Dequeker J. Increased levels of osteocalcin in rheumatoid arthritis. *Br J Rheumatol* 1986;25:260.
79. Lewenhaupt A, Ekman P, Eneroth P, Kalner A. On reference value for tumor markers in prostatic carcinoma. *Scand J Urol Nephrol Suppl* 1988;110: 119-123.
80. Schatz C, Vonlieven H, Mulders M, Rowold J, et al. The tumor markers CEA, TPA, and CA 19-9 and ferritin and osteocalcin in follow-up studies in breast cancer. *Wien Klin Wochenschr* 1985; 97: 873-879.
81. Coleman RE, Whitaker KB, Moss DW, Mashiter G, Fogelman I, Rubens RD. Biochemical prediction of response of bone metastases to treatment. *Br J Cancer* 1988; 58: 205-210.
82. De la Piedra C, Toural V, Rapado A. Osteocalcin and urinary hydroxproline/creatinine ratio in the differential diagnosis of primary hyperparathyroidism and hypercalcemia of malignancy. *Scand J Clin Lab Invest* 1987; 47: 587-592.
83. Bataille R, Delmas P, Sany J. Serum BGP in multiple myeloma. *Cancer* 1987;59: 329-334.
84. Body JJ, Cleeren A, Pot M, Borkowski A. Serum osteocalcin in tumor-associated hypercalcemia. *J Bone Miner Res* 1986;1:523-527.

85. Johansen JS, Giwercman A, Hartwell D, et al. Serum bone Gla Protein as a marker of bone growth in children and adolescents: correlations with age, height, serum insulin-like growth factor I, and serum testosterone. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67: 273-278.
86. Gundberg CM, Hanning RM, Liu A, Zlotkin AH, Balfew JW, Cole DE. Clearance of osteocalcin by peritoneal dialysis in children with end-stage renal disease. *Pediatr Res* 1987; 21:296-300.
87. Fanti P, Smith A, Price PA, Reitz RE, Malluche HH. Effects of parathyroidectomy on circulating levels of 1,25 dihydroxyvitamin D and bone Gla protein in dialysed patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1986;62: 869-873.
88. Boiskin I, Epstein S, Ismail F, Thomas SB, Raja R. Bone Gla protein and bone mineral metabolism following successful renal transplantation (Abstract). *J Bone Miner Res* 1987; 2 suppl: 486 A.
89. Garrel DR, Delmas PD, Malaval L, Rourmiaare J. Serum bone Gla protein: A marker of bone turnover in hyperthyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 62: 1052-1055.
90. Lukert BP, Higgins JC, Stoskopf MM. Serum osteocalcin is increased in patients with hiperthyroidism and decreased in patients receiving glucocorticoids. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 62: 1056-1058.