

Kontrollü ve kontrolsüz NIDDM'lu hastalarda kemik marker'ı olarak osteokalsin düzeylerinin saptanması

Determination of osteocalcin levels as a bone marker in controlled and uncontrolled niddm

Nezaket EREN, Şebnem CİĞERLİ, Nihal YÜCEL, Fatma TURGAY
Berna ASLAN, Bilgehan AKMAN

Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya Lab.

ÖZET

Kemik metabolizmasını yansıtan çok sayıda belirteç'in serum ve (veya) idrardaki konsantrasyonları, kemik metabolizmasını indirekt olarak değerlendirmemizi sağlar. Kemik oluşumunun değerlendirilmesinde kullanılan serum osteokalsin'i, kemik döngüsünün değerli bir belirteci olması nedeniyle diabetik osteoporozun araştırılmasında son yıllarda önem kazanmıştır. Biz bu çalışmamızda 45-80 yaş arası komplikasyonsuz Tip II Diabetes Mellitus (NIDDM)'lu kadın ve erkek hastalarda, serum osteokalsin düzeylerini kontrol gruplarıyla karşılaştırdık. Hasta grubumuzu kontrollü NIDDM'lu (7'si erkek 13'ü kadın) ve kontrolsüz NIDDM'lu (10'u kadın, 10'u erkek) hasta grubu olarak 2 grupta inceledik. Kontrol grubumuz 12'si erkek 18'i kadın toplam 30 kişiden oluşturuldu. Kontrollü (1) ve kontrolsüz (2) diabetik hasta grubu arasında serum ALP, fosfor, kalsiyum, magnezyum ve osteokalsin (OC) açısından anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$). Kontrollü (1) ve kontrolsüz (2) diabetik hasta grupları ile kontrol grubu arasında serum kalsiyum ve osteokalsin değerleri açısından anlamlı bir fark saptanmıştır (sırasıyla $p<0.005$ ve $p<0.05$, $p<0.05$ ve $p<0.001$). Kontrolsüz diabetik hasta grubundaki serum osteokalsin değerleri ile serum ALP, P ve Ca arasında bir korelasyon saptanmazken (r değerleri sırasıyla ; $r=0.38$, $r=0.21$, $r=-0.27$), osteokalsin değerleri ile Mg arasında pozitif bir korelasyon saptandı ($r=0.53$).

Daha önce yapılmış olan çalışmalarda da Tip II Diabetes Mellitus'lu hastalardaki osteokalsin düzeyleri kontrol gruplarına göre daha düşük bulunmuştur. Bu da osteoporoz teşhisinde kullanılan diğer invaziv metotlara göre kemik metabolizmasının değerlendirilmesinde osteokalsinin, teşhiste bize daha yararlı olacağı kısmını vermektedir.

Anahtar Kelimeler: Osteokalsin, DM

SUMMARY

Serum and/or urine concentrations of a number of markers allow us to evaluate indirectly bone metabolism. Recently, serum osteocalcin (OC) used in the assessment of bone formation, is becoming more important in diabetic osteoporosis researches as a valuable marker of bone turnover. In our study, we compared serum OC levels in patients of uncomplicated NIDDM, aging 45 and 80, and control group. We divided our patient group into 2 subgroups: controlled (7 male and 13 female) and uncontrolled (10 male and 10 female). Our control group consisted of 30 individuals, 12 males and 18 females. There were no significant differences between controlled (1) and uncontrolled (2) groups with respect to serum ALP, phosphorus (P), calcium (Ca), magnesium (Mg) and OC ($p>0.05$) values. A significant difference was found between controlled (1) and uncontrolled (2) patient groups and control group's calcium and OC levels ($p<0.005$ and $p<0.05$, $p<0.05$ and $p<0.001$ respectively). While there was not any correlation between serum OC and serum ALP, P and Ca values (r values respectively: $r=0.38$, $r=0.21$, $r=0.27$), a positive correlation was observed between OC and Mg values ($r=0.53$).

In previous studies in Type II Diabetes Mellitus, OC levels in patient groups were found lower than those of control groups. This suggests that in evaluating bone metabolism, serum OC values are more useful than the other invasive methods used in the diagnosis of osteoporosis.

GİRİŞ ve AMAÇ

Diabetik osteoporoz, osteoblastların yüzey alanındaki veya fonksiyonundaki azalmaya bağlı olarak, kemik turnover'ındaki yetersizlik sonucunda ortaya çıkmaktadır. Kemik rezorpsiyonu ve oluşumu direkt olarak histomorfometrik çalışma veya kemik biopsisinden yararlanılarak saptanabilir, ancak bu işlemler invazif olup kesinlik ve doğruluğu sınırlı olduğundan

Yazışma Adresi:

Dr. Nezaket EREN
Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Biyokimya ve Klinik Biyokimya Laboratuvarı
Tel: (0212) 231 22 09/10697

rutin çalışmalar için kullanılamaz. Halbuki kemik metabolizmasını yansıtan çok sayıda belirteçin serum ve (veya) idrardaki konsantrasyonları saptanarak, kemik metabolizması dolaylı olarak değerlendirilebilir. Kemik oluşumunun değerlendirilmesinde kullanılan serum (osteokalsin)'i, kemik turnover'ının değerli bir belirteci olması nedeniyle diabetik osteoporozun araştırılmasında son yıllarda önem kazanmıştır.

Kemik oluşumu ile rezorpsiyonu arasındaki dinamik denge sistemik ve lokal regülatörler tarafından kontrol edilir. Kemik homeostasisinin sistemik regülatörleri kalsitropik hormonlar olan Parathormon (PTH) ve Vitamin D'dir. Prostaglandinler ile büyüme faktörleri (IGF - I ve IGF -II) ise kemik homeostasis'inin lokal regülatörleridir. Otokrin ya da parakrin olarak etkili olan bu lokal regülatörler, kemik oluşumunu, osteoblastik proliferasyon ve kemik matriksinin sentezini uyarırlar(1). Östrojen ve progesteron osteoblastik aktiviteyi uyararak kemik oluşumunu uyarır. Östrojen hem IGF-I hem de IGF-II sentezini artırır. Çok sayıda sitokin osteoklastları aktive edici etkisi vardır ve bu yolla kemik rezorpsiyonunu başlatırlar.

Sitokinler içerisinde interlökin- I (IL-1), Tümör nekrotizan faktör (TNF- α) ve β farklılaşmayı uyaran faktörlerden sayılabilir. Kalsitonin de osteoklast üzerindeki spesifik reseptörlere bağlanarak aktivitesini inhibe eder, buna bağlı olarak rezorpsiyon işlemini yavaşlatır (2).

Osteoporoz; kemik oluşumu ve rezorpsiyonu arasındaki dengenin bozulmasına bağlı olarak, kemik kütlelerinde ve normal mineralize olmuş kemik miktarında azalma ile karakterize olan bir bozukluktur (3). Mineralin kollagene oranında değişiklik meydana gelmez. Yaşlanma (senil), postmenapoz, immobilizasyon, Cushing sendromu, multiple myeloma, lösemi, Turner sendromu, kronik karaciğer hastalığı osteoporozu yol açan bozukluklardır. Diabetik osteoporozla ilgili olarak patogeneizde rol oynayan faktörler açık değildir. Bu faktörler arasında mikroangiopati, intrasellüler açıklık, 1,25-(OH)2D vitamini ve PTH gibi kalsitropik hormonların konsantrasyonlarındaki değişimler, insülin ek-

sikliği, büyüme hormonu, insüline benzer büyüme faktörleri ve gonadal hormonların konsantrasyonlarındaki değişimler sayılabilir (4, 5).

Diabetik hastalarda düşük kemik formasyonu büyüme süresince kemik akümülyasyonunu geciktirmektedir. Kötü glisemik kontrolün metabolik etkileri, genç erişkinlerde artmış kemik rezorpsiyonu ve kemik kaybına yol açar. Düşük kemik turnoverı ise yaşla ilgili kemik turnoverını geciktirir. Bu etkiler genç tip I diabetiklerde (IDDM), düşük kemik yoğunluğundan sorumludur. Daha yaşlı tip II diabetli (NIDDM) hastalarda normal veya artmış kemik yoğunluğuna sebep olmaktadır (6). Kemik hastalığının diabetin komplikasyonu olup olmadığı hakkında bir anlaşmazlık vardır (7, 8). Örneğin fraktürleri olan hastalar arasında artan bir diabet prevalansı vardır ama diabetli hastalar arasında, fraktür açısından artmış bir risk yoktur (8, 9).

GEREÇ ve YÖNTEM

Hasta grubumuzu kontrollü NIDDM'lu ve kontrolsüz NIDDM'lu olarak 2 grupta inceledik. Kontrollü NIDDM'lu hasta grubunun (grup 1) yaşları 45-80 arasında olup, 7'si erkek 13'ü kadın (postmenopozal dönemdeki) olmak üzere 20 kişi idi. Bu hastaların 8 tanesi OAD ilaç, 6 tanesi insülin, 1 tanesi OAD+insülin kombinasyonu şeklinde ilaç kullanırken, 5 tanesi ise herhangi bir ilaç kullanmıyordu.

Kontrolsüz diabetik hasta grubumuzun (grup 2) yaşları 45-70 arası olup 10'u kadın (postmenopozal dönemdeki), 10'u erkek olmak üzere toplam 20 kişi idi. 13 tanesi OAD ilaç, 4 tanesi insülin kullanırken, 3 tanesi ise herhangi bir ilaç kullanmıyordu. Kontrol grubumuz (grup 3) 12'si erkek 18'i kadın (postmenopozal dönemdeki) toplam 30 sağlıklı bireyden oluştu. Hasta grubumuzun büyük çoğunluğu en az bir yıldan beri insülin ve/veya oral antidiabetik ilaç kullanıyordu. Bunun dışında kemik metabolizmasına etkili olacak ilaç kullanımı olan hastalar gruba dahil edilmedi.

Hastaların rutin kan örnekleri 8-10 saatlik açlık sonrası sabah saat 8.00-9.00 saatleri ara-

Tablo 1: Kontrollü ve kontrolsüz NIDDM'lu hasta grubu ile kontrol grubu çalışma sonuçları

	Kontrollü Diabetik Hasta Grubu min-mak (ort ± SD)	Kontrolsüz Diabetik Hasta Grubu min-mak (ort ± SD)	Kontrol Grubu min-mak (ort ± SD)
GLUKOZ (mg/dl)	98-203 (144 ± 27.71)	178-424 (259.20 ± 70.96)	80-125 (96.23 ± 8.44)
HbA1C (%)	4.10-6.40 (5.15 ± 0.90)	8.20-14.90 (9.65 ± 1.60)	3.10-5.10 (4.10 ± 1.50)
ALP (U/L)	89-336 (193.10 ± 62.52)	130-309 (203.60 ± 43.31)	135-348 (217.90 ± 57.35)
P(mg/dl)	2.704.40 (3.63 ± 0.48)	3-5 (3.63 ± 0.46)	3.05-4.72 (3.75 ± 0.44)
Ca(mg/dl)	8.50-10.00 (9.32 ± 0.38)	8.60-10.00 (1.70 ± 2.20)	8.23-10.20 (9.75 ± 0.43)
Mg(mg/dl)	1.40-2.10 (1.91 ± 0.19)	1.70-2.20 (1.90 ± 0.14)	1.70-2.40 (1.97-0.16)
OC(mg/dl)	3.10 ± 13.00 (5.92 ± 2.75)	2-13.10 (5.13 ± 2.67)	3.80-20.90 (9.41 ± 4.50)

sında alındı. Osteokalsin serum düzeyleri sirkadyen ritim gösterdiğinden kan örnekleri yine aynı saatler arasında toplandı (10, 11). HbA1C için EDTA'lı plazma örnekleri kullanıldı. Osteokalsin düzeyleri kemilüminesans yöntem ile (Diagnostik product cooperation-DPC) çalışılmıştır.

Kitin referans aralıkları 3,1-13,7 ng/ml dir. HbA1C için kitin referans değeri % 6.0 dır.

İstatiksel olarak değerlendirmede SPSS istatistik programından faydalanıldı. Korelasyon için tek yönlü varyans analizi yapıldı. Kıyaslamalarda Pearson korelasyon katsayısı kullanıldı.

BULGULAR

Tüm grupların serum glukoz, üre, kreatinin, ürik asit, HbA1C, ALP, P, Ca, Mg ve OC düzeylerinin saptamış olduğumuz minimum-maksimum değerleri ve ortalama ± SD değerleri Tablo 1'de özetlenmiştir.

Kontrollü (1) ve kontrolsüz (2) diabetik hasta grubu arasında serum ALP, P, Ca, Mg ve OC açısından anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$) (Tablo 2).

Kontrollü (1) diabetik hasta grubu ile kontrol (3) grubu arasında ise yine serum ALP, P, Mg düzeyleri açısından anlamlı bir fark saptanmazken ($p>0.05$), her iki grup arasında serum Ca ve OC değerleri açısından anlamlı bir fark saptanmıştır (p değerleri sırasıyla, $p<0.001$ ve $p<0.04$) (Tablo 2). Kontrolsüz (2) diabetik hasta grubu ile kontrol (3) grubu arasında da yine serum ALP, P, Mg düzeyleri açısından anlamlı bir fark saptanmazken ($p>0.05$), her iki grup arasında serum Ca ve OC düzeyleri açısından anlamlı bir fark saptanmıştır (p düzeyleri sırasıyla, $p<0.007$ ve $p<0.000$) (Tablo 2). Diabetik hasta grubunda, OAD ve/veya insülin kullanan hastaların serum OC düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0.05$).

Tablo 2: Kontrollü (1) ve kontrolsüz (2) diabetik hasta grubu ve kontrol grubu arasındaki korelasyon analizi sonuçları (p değerleri)

	ALP (U/L)	P (ml/dl)	Ca (mg/dl)	Mg (mg/dl)	OC (mg/dl)
Kontrollü (1) ve kontrolsüz (2) diabetik hasta grubu	P:0.821	P:1.0	P:0.846	P:0.981	0.768
Kontrollü (1) diabetik hasta grubu ve kontrol (3) grubu	P:0.274	P:0.601	P:0.001	P:0.456	0.04
Kontrolsüz (2) diabetik hasta grubu ve kontrol (3) grubu	P:0.645	P:0.601	P:0.007	P:0.344	0.000

Tablo 3: Kontrollü, Kontrolsüz diabetik hasta grubu ve Kontrol grubundaki serum OC ile Serum ALP, P, Ca ve Mg arasındaki korelasyon

	ALP (U/L)	P (ml/dl)	Ca (mg/dl)	Mg (mg/dl)
Kontrollü Diabetik Hasta Grubu OC (ng/mL)	r= 0.27	r=- 0.07	r= 0.37	r=- 0.10
Kontrolsüz Diabetik Hasta Grubu OC (ng/mL)	r= 0.38	r= 0.21	r=- 0.27	r= 0.53
Kontrol Grubu OC (ng/mL)	r= 0.27	r=- 0.11	r= 0.15	r= 0.15

Pearson korelasyon analizi ile her 3 grubun serum OC değerlerini kendi grupları içerisindeki diğer parametreler ile karşılaştırdığımızda yalnızca grup 2'nin OC değerleri ile Mg arasında orta derecede bir korelasyon saptandı (r=0.53) (Tablo 3).

TARTIŞMA

Düşük kemik yoğunluğu, DM'un sözü edilen en sık komplikasyonudur (12). Özellikle zayıf metabolik kontrolü olan IDDM'lu hastalarda görülen bir komplikasyon olduğu çoğu çalışmalarda gösterilmiştir. Bununla beraber NIDDM'lu hastalarda birbiriyle çelişen bulgular rapor edilmektedir. Bazı yazarlar kemik dansitesinde yükselme (13, 14), bazıları azalma (15) olduğunu bildirirken diğer bazıları da değişme olmadığını saptamışlardır (16).

Okazaki R. ve arkadaşları kontrolsüz DM'lu hastalarda kısa bir süre için kemik döngüsünün azaldığını göstermişlerdir. Böylece glisemik kontrolün NIDDM'lu hastaları kemik kaybından koruyabileceğini düşünmüşlerdir. Serum OC düzeylerini tedavi öncesi düşük, tedavi sonrası ise yüksek olarak bulmuşlar ancak, OC ile

diğer kemik döngüsünün belirteçleri arasında korelasyon saptamamışlardır. Tedavi sonrası serum Ca düzeyi değişmiş, serum inorganik P düzeyi artmış olarak bulunmuştur (17).

Bizim sonuçlarımıza göre kontrollü ve kontrolsüz diabetik hastalarda serum Ca ve inorganik P arasında bir korelasyon saptanmadı.

Nagasaka S. ve arkadaşları da kontrollü DM'lu hastalarda serum Ca düzeylerinin değişmediğini ancak serum P düzeylerinin arttığını saptamışlardır. Yine tedavi sonrası serum OC düzeylerinin arttığını tespit etmişlerdir (18).

Pedrazzoni M. ve arkadaşları da diabetik olgularda serum OC düzeylerini düşük olarak bulmakla birlikte, bunun tedavi tipiyle (diet, OAD veya insülin) ilişkili olduğunu tespit ettiler. Yine yaş, vücut ağırlığı, cinsiyet, serum açlık glisemisi, HbA1C, Ca ve P düzeylerinin OC düzeylerini etkilemediğini de saptamışlardır (19, 20).

Bu son veriler bizim çalışmamızda elde ettiğimiz bulgularla uyumludur. Biz serum OC düzeyleri ile diabetin tedavi tipi arasında anlamlı bir korelasyon bulamadık.

Inukai T. ve arkadaşları diabetik hastalarda HbA1C düzeyleri ile OC arasında bir korelasyon saptamadılar. Yine vit-D düzeyleri ile OC arasında da korelasyon bulamamışlardır. Ancak diabetik hastalardaki OC düzeylerinde saptanan azalmanın, kemiğin yeniden şekillenmesini yansıttığının mümkün olduğunu savunmuşlardır. Bu bizim bulgularımızı desteklemektedir. Biz de OC düzeyleri ile HbA1C arasında bir korelasyon tespit edemedik. Oysa Sayinalp S. ve arkadaşları serum OC düzeyleri ile HbA1C arasında negatif korelasyon saptamışlardır ($p=0.01$) (21).

Bouillon R. ve arkadaşları, ayrıca Akın ve arkadaşları diabetik hastalarda osteoblastik fonksiyonun anlamlı olarak azaldığını tespit etmişlerdir. En iyi osteoblastik belirteç olan OC'nin yaşlanmayla beraber diabetin bütün tiplerinde azaldığını saptamışlardır (22, 23).

Mineral metabolizmasıyla ilgili olarak çalışmamızda serum Ca düzeyleri ile OC düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon saptamadık. Bu bulgumuz yapılan çalışmalarla uygunluk göstermektedir (24, 18, 19).

M. Pedrazzoni G. ve arkadaşları da diabetik hastalarda serum OC düzeyleri ile serum Ca düzeyleri arasında korelasyon saptamamışlardır (19).

Nagasaka ve arkadaşları da kontrollü NIDDM'lu hastalarda serum Ca düzeylerinin değişmediğini buna karşın serum P düzeylerinin arttığını saptamışlar (18).

Levy ve arkadaşları NIDDM'lu kadın ve erkek hastalar ile kontrollerin serum fosfor düzeyleri arasında bir fark tespit etmemişlerdir (25).

Pedrazzoni ve arkadaşları ise serum P düzeylerinin kontrollere göre NIDDM'lu erkek hastalarda istatistiksel açıdan anlamlı bir azalma gösterdiğini tespit etmişlerdir (19).

Biz çalışmamızda, serum P düzeylerini, bütün gruplarda normal sınırlar içinde tespit ettik. Ayrıca OC ile serum P düzeyleri arasında korelasyon saptamadık.

Bütün bu verilerin ışığı altında biz çalışmamızda kontrollü ve kontrolsüz NIDDM'lu hasta gruplarını, kontrol grubuyla karşılaştırdığımızda, diabetik hasta grubunda serum OC düzeylerinde anlamlı bir azalma tespit ettik. Böylece serum OC düzeylerinin belirlenmesinin, diabetik osteoporoz tanısında yararlı olabileceğini düşündük. Yine gelecekte, OC çalışmasının; diğer kemik turnover markerlarına göre oldukça spesifik ve non-inzaziv olması avantajlarıyla güncel hale gelmesi mümkün olabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Dods, R.F. Diabetes Mellitus. In: Kaplan L.A., Pesce, A.J., editors. Clinical Chemistry 3rd. ed. St. Louis, Missouri: Mosby; 1996, p.613-41.
2. Baumgress R., Fehenberg D., Price P.A.: The cross-reactivities of cathepsin generated bone GLA protein-fragments in different immunoassays. J. Bone Miner Res 1995 10:S539 (Abstract).
3. Cecil. Essentials of medicine W.B. Saunders Company. 1993. p.513-514, p.530-550.
4. Verhaeghe J., Visser W.J., Einhorn T.A., Bouillon R.: Osteoporosis and Diabetes : lessons from the Diabetic BB Rat. Horm. Res. 1990;34:245-248.
5. Dennison EM, Syddall HE, Aihie Sayer A, Craighead S, Phillips DI, Cooper C: Type 2 diabetes mellitus is associated with increased axial bone density in men and women from the Hertfordshire Cohort Study: evidence for an indirect effect of insulin resistance? Diabetologia. 47(11):1963-8. Epub 2004 Nov.
6. Jesse C., Krakauer, Malachi J. McKenna; et al: Bone loss and Bone turnover in Diabetes: Diabetes 1995; 44:775-781.
7. Bouillon R. Diabetic bone disease Calcif Tissue Int 1991; 49:155-160.
8. Heath H., Melton C.J., Chu C.P. Diabetes mellitus and risk of skeletal fracture: N Engl J. Med 1980;303:567-570.
9. Melchior T.M., Sorensen O.H., Thomsborg G; et al: Bone tissue alterations in Diabetes. Front diabetes; 1990; 10:40-53.
10. Gundberg C.M., Markowitz M.E., Mizruchi M., Rosen J.F. Osteocalcin in human serum: a circadian rhythm. J Clin Endocrinol Metab. 1985;60:736-739.
11. Tarallo P., Henny J., Fournier B. Plasma osteocalcin biological variations and reference limits. Scand J. Clin Lab. Invest 1990;50:649-655.
12. Paulus L.A., Van Daele, Ronald P., Stolk. Bone Density in Non-Insulin-Dependent Mellitus. Ann Intern med. 1995; 122:409-414.
13. Barrett-Concor E., Halbrook T.L.: Sex differences in osteoporosis in older adults with non-insulin-dependent diabetes mellitus. JAMA 1992;268:3333-7.
14. Bauer D.C., Browner W.S., Cauley J.A., Orwoll E.S., Scott J.C. Black D.M. Factors associated with appendicu-

- ler bone mass in older women. The study of osteoporotic fractures Research Group. *Ann Intern. Med.* 1993; 118:657-65.
15. Isaia g., Bodrato L., Carlevatto V., Mussetta M., Salomara G., Molinatti G.M., Osteoporosis in type II Diabetes. *Acta Diabetol Lat.* 1987;24:305-10.
 16. Giacca A., Bodrato L., Carlevatto V., Mussetta M., Salomara G., Molinatti G.M.: Bone mineral density in diabetes mellitus. *Bone.* 1988;9:29-36.
 17. Okazaki r., Totsuka Y., Homano K., Ajima M., Miura m., Hirota Y., Hata k., Fukumoto S., Matsumoto T.: Metabolic improvement of poorly controlled noninsulin-dependent diabetes mellitus decreases bone turnover. *J. Clin. Endocrinol Metab* 1997; 82(9):2915-20.
 18. Nagasaka S., Murakomi T., Uchikawa T., Ishikawa S.E., Saito T. Effect of glycemic control on calcium and phosphorus handling and parathyroid hormone level in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Endocr J.* 1995; 42(3):377-83.
 19. Pedrazzoni M., Ciotti C., Pioli G., Girasole g., Davoli L., Plummeri E., Passeri M. Osteocalcin levels in diabetic subjects. *Calcif. Tissue Int* 1989; 45:331-336.
 20. Horiuchi T, Kazama H, Araki A, Inoue J, Hosoi T, Onouchi T, Mizui Ito H, Orimo H ;Impaired gamma carboxylation of osteocalcin in elderly women with type II diabetes mellitus: relationship between increase undercarboxylated osteocalcin levels and low bone mineral density. *J Bone Miner Metab.* 2004;22(3):236-40.
 21. Sayinalp S., Gedik O., Koray Z.: Increasing serum osteocalcin after glysemic control in diabetic men. *Calcif Tissue Int (USA)* 1995; 57:422-425.
 22. Bouillon R., Bex M., Van-Herck E., Laureys j., Doods L., Lesaffre E., Ravussin E., Influence of age, sex, and insulin on osteoblast function: osteoblast dysfunction in diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1995; 80(4):1994-202.
 23. Akin O, Gol K, Akturk M, Erkaya S. Evaluation of bone turnover in postmenopausal patients with tip 2 diabetes mellitus using biochemical markers and bone mineral density measurements. *Gynecol Endocrinol.* 2003 Feb;17(1):19-29
 24. P.Pietschmann G., Scherthaner and W.Wolozczick Serum osteocalcin levels in diabetes mellitus: analysis of the type of diabetes and microvasküler complications. *Diabetologia.* 1988; 31:892-895.
 25. Levy J., Stern Z., Gutman Y., Naparstek Y., Gauin J.R., Avioli L.V.: Plasma calcium and phosphate levels in adult non-insulin-dependent diabetic population. *Calcif Tissue Int* 1986; 39:316-318.