

ΙΑΤΡΙΚΟ ΤΜΗΜΑ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΚΡΗΤΗΣ
ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟΣ ΤΟΜΕΑΣ
ΚΛΙΝΙΚΗ ΟΡΘΟΠΕΔΙΚΗΣ ΚΑΙ ΤΡΑΥΜΑΤΟΛΟΓΙΑΣ
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ: ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΑΛ. ΧΑΤΖΗΠΑΥΛΟΥ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΕΥΑΓΓΕΛΙΑΣ Φ. ΠΑΠΑΚΙΤΣΟΥ
ΟΡΘΟΠΕΔΙΚΟΥ ΧΕΙΡΟΥΡΓΟΥ

**Η ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ ΝΕΩΤΕΡΩΝ ΔΙΦΩΣΦΟΝΙΚΩΝ (ALENDRONATE) ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ
ΚΑΙ ΠΡΟΛΗΨΗ ΤΗΣ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗΣ**

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2003

Στον Κωνσταντίνο,

Στην Αλίκη

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

A. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κεφάλαιο 1. ΟΡΙΣΜΟΣ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗΣ

Κεφάλαιο 2. ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΟΣΤΩΝ - ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗΣ

2.1. Εισαγωγή

2.2. Κυτταρικά γεγονότα κατά την οστική ανακατασκευή

2.3. Οστεοβλάστες

2.4. Οστεοκλάστες

2.5. Παθοφυσιολογία οστεοπόρωσης

Κεφάλαιο 3. ΕΚΤΙΜΗΣΗ της ΟΣΤΙΚΗΣ ΕΝΑΛΛΑΓΗΣ IN VIVO - ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΣΤΙΚΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ

3.1. Εισαγωγή

3.2. Δείκτες Οστικής Σύνθεσης

3.2.1. Ειδική οστική αλκαλική φωσφατάση

3.2.2. Οστεοκαλσίνη

3.2.3. Καρβοξυτελικό πεπτιδίο κολλαγόνου I

3.3. Δείκτες οστικής απορρόφησης

3.3.1. Διασταυρούμενα πυριδινολινικά πεπτιδία κολλαγόνου I

3.4. Εφαρμογές των βιοχημικών δεικτών οστικής εναλλαγής

3.3.1. Εκτίμηση ισοζυγίου οστικής εναλλαγής

3.3.2. Εκτίμηση ρυθμού οστικής απώλειας

3.3.3. Βιοχημικοί δείκτες οστικής εναλλαγής και συχνότητα καταγμάτων

3.3.4. Επιλογή ασθενών για χορήγηση αντιοστεοκλαστικής αγωγής

3.3.5. Εκτίμηση θεραπευτικού αποτελέσματος αντιοστεοκλαστικής αγωγής

Κεφάλαιο 4. ΟΣΤΙΚΗ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑ

4.1. Εισαγωγή

4.2. Οστική πυκνότητα και οστική αντοχή

4.3. Οστική πυκνότητα και κίνδυνος καταγμάτων

4.4. Μεταβολή οστικής πυκνότητας σχετιζόμενη με την ηλικία

4.5. Μέτρηση οστικής πυκνότητας in vivo: μέθοδος για διαχρονική παρακολούθηση

Κεφάλαιο 5. ΑΛΕΝΔΡΟΝΑΤΗ

- 5.1. Ιδιότητες και δράση
- 5.2. Φαρμακοκινητική
- 5.3. Δράση αλενδρονάτης- προκλινικά δεδομένα
- 5.4. Επίδραση της αλενδρονάτης στην οστεοκλαστική δράση και απόπτωση
- 5.5. Προκλινικός έλεγχος ασφάλειας
- 5.6. Η αλενδρονάτη στη θεραπεία της μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης
 - 5.6.1. Επίδραση αλενδρονάτης στην οστική πυκνότητα
 - 5.6.2. Επίδραση αλενδρονάτης στον οστικό μεταβολισμό
 - 5.6.3. Επίδραση αλενδρονάτης στη συχνότητα καταγμάτων
- 5.7. Αλενδρονάτη και πρόληψη μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης

Κεφάλαιο 6. ΚΥΚΛΙΚΗ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΑΛΕΝΔΡΟΝΑΤΗΣ

B. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κεφάλαιο 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

- 1.1. Εισαγωγή
- 1.2. Άτομα και Μέθοδοι

Κεφάλαιο 2. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ- Η ΣΧΕΣΗ ΣΩΜΑΤΙΚΟΥ ΔΕΙΚΤΗ και ΡΥΘΜΟΥ ΟΣΤΙΚΗΣ ΕΝΑΛΛΑΓΗΣ ΜΕΤΕΜΜΗΝΟΠΑΥΣΙΑΚΩΝ ΓΥΝΑΙΚΩΝ

- 2.1. Περίληψη
- 2.2. Υλικό και μέθοδοι
- 2.3. Αποτελέσματα
- 2.4. Συζήτηση

Κεφάλαιο 3. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ της ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΑΛΕΝΔΡΟΝΑΤΗΣ στη ΜΕΤΕΜΜΗΝΟΠΑΥΣΙΑΚΗ ΟΣΤΙΚΗ ΑΠΩΛΕΙΑ

3.α. ΑΛΕΝΔΡΟΝΑΤΗ στην ΠΡΟΛΗΨΗ ΟΣΤΙΚΗΣ ΑΠΩΛΕΙΑΣ κατά την ΑΜΕΣΗ ΜΕΤΕΜΜΗΝΟΠΑΥΣΙΑΚΗ περίοδο

- 3.α.1. Περίληψη
- 3.α.2. Υλικό και Μέθοδος
- 3.α.3. Αποτελέσματα
- 3.α.4. Συζήτηση

3.β. ΣΥΝΕΧΗΣ και ΔΙΑΚΕΚΟΜΕΝΗ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΑΛΕΝΔΡΟΝΑΤΗΣ στη ΘΕΡΑΠΕΙΑ της ΜΕΤΕΜΜΗΝΟΠΑΥΣΙΑΚΗΣ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗΣ

- 3.β.1. Περίληψη
- 3.β.2. Υλικό και Μέθοδος
- 3.β.3. Αποτελέσματα
- 3.β.4. Συζήτηση

3.γ. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΑΛΕΝΔΡΟΝΑΤΗΣ σε ΜΕΤΕΜΜΗΝΟΠΑΥΣΙΑΚΕΣ ΓΥΝΑΙΚΕΣ ΜΕ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΤΙΚΑ ΚΑΤΑΓΜΑΤΑ ΙΣΧΙΟΥ

- 3.γ.1. Περίληψη
- 3.γ.2. Εισαγωγή
- 3.γ.3. Άτομα και μέθοδοι
- 3.γ.4. Αποτελέσματα
- 3.γ.5. Συζήτηση

Κεφάλαιο 4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Γ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Δ. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

E. SUMMARY

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Στις αρχές του 1996 εγκρίθηκε από τον Εθνικό Οργανισμό Φαρμάκων η χορήγηση της αλενδρονάτης, μιας συνθετικής διφωσφονικής ένωσης, για την θεραπεία της

μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης. Η φαρμακευτική εταιρία που είχε υποβάλει το σχετικό φάκελο, διαθέτει ένα σκεύασμα της δραστικής ουσίας αλενδρονάτη, με τη μορφή καταπινόμενων δισκίων. Τρεις μεγάλες, καλοσχεδιασμένες και υψηλής αξιοπιστίας μελέτες είχαν δείξει ότι η καθημερινή χορήγηση 10 mg αλενδρονάτης επί τρία έτη, ήταν ασφαλής και προκαλούσε αύξηση της οστικής πυκνότητας κατά 7-9% σε σχέση με μάρτυρες, καταστολή του ρυθμού του οστικού μεταβολισμού κατά 40% σε σχέση με τις προεμμηνοπαυσιακές τιμές, και το σπουδαιότερο, μείωση του κινδύνου οστεοπορωτικών καταγμάτων κατά 40-50%.

Το 1998 είχε δημοσιευθεί στο περιοδικό “Οστούν” μέρος της αλληλογραφίας μεταξύ του Διοικητή του Ιδρύματος Κοινωνικών Ασφαλίσεων και της Ελληνικής Εταιρίας Μεταβολισμού Οστών, με σημείο αιχμής εγκύκλιο οδηγιών του ΙΚΑ, που έθετε ως προϋπόθεση για τη χορήγηση μη οιστρογονικής αντιοστεοκλαστικής αγωγής (π.χ. αλενδρονάτη), “αιτιολογημένη βεβαίωση γυναικολόγου ή ενδοκρινολόγου ότι δεν μπορεί να γίνει θεραπεία ορμονικής υποκατάστασης”. Ο ορισμός της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας για την οστεοπενία και την οστεοπόρωση προϋποθέτει τιμές οστικής πυκνότητας 1 και 2,5 σταθερές αποκλίσεις αντιστοίχως κάτω από τη μέση τιμή προεμμηνοπαυσιακών γυναικών. Με βάση αυτόν τον ορισμό, μεγάλες επιδημιολογικές μελέτες (π.χ. Minnesota, Rochester) συμπεραίνουν ότι μετά την ηλικία των 50 ετών, 30% περίπου των λευκών γυναικών πάσχουν από οστεοπόρωση και έχουν ανάγκη τριτοβάθμιας πρόληψης καταγμάτων με φαρμακευτική παρέμβαση, ενώ 50% περίπου έχουν οστεοπενία και αξίζουν δευτεροβάθμια πρόληψη. Η δημοσιονομική απόπειρα μείωσης του κόστους της φαρμακευτικής πρόληψης και θεραπείας της οστεοπόρωσης, ωστόσο δεν περιόρισε την χρήση των διφωσφονικών.

Σκοπός της παρούσης μελέτης ήταν η αξιολόγηση της χρήσης των 10mg αλενδρονάτης καθημερινά για την τριτοβάθμια και δευτεροβάθμια πρόληψη της οστεοπόρωσης στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες της Κρήτης. Επιπλέον, υποστηρίξαμε ότι ένα διακεκομμένο σχήμα χορήγησης 10mg αλενδρονάτης με 2 μήνες καθημερινής πρόσληψης και 2 μήνες διακοπής, είναι αρκετό για την μείωση του ρυθμού οστικής εναλλαγής και την πρόληψη της οστικής απώλειας και της οστεοπόρωσης. Παράλληλα μελετήθηκε ο μετεμμηνοπαυσιακός οστικός μεταβολισμός και ειδικότερα η σχέση του σωματικού βάρους με το ρυθμό οστικής εναλλαγής και την οστική πυκνότητα. Επιπλέον διερευνήθηκε ο ρόλος του σωματικού δείκτη και της χαμηλής οστικής πυκνότητας στα κατάγματα ισχίου στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Τα αποτελέσματα των επιμέρους μελετών έχουν ανακοινωθεί στο Πανελλήνιο Συνέδριο της Ελληνικής Εταιρίας Μεταβολισμού Οστών (EEMO) των ετών 1998, 1999, 2000, 2001, 2002 και βρίσκονται δημοσιευμένα στο περιοδικό Οστούν, που εκδίδεται από την EEMO. Επίσης τμήματα της μελέτης αυτής βρίσκονται δημοσιευμένα στο περιοδικό Calcified Tissue International (1999) 64: 257-258, με τίτλο: “ Bone mineral density, body mass index and hip axis length in postmenopausal Cretan women with cervical and trochanteric fractures” και πρόκειται να δημοσιευθούν στο περιοδικό Maturitas (2003) με τίτλο: “Body mass index and parameters of bone formation in postmenopausal women”.

Σήμερα, η αλενδρονάτη αποτελεί τον αντιοστεοκλαστικό παράγοντα με την πληρέστερη τεκμηρίωση της επίδρασης της αγωγής στη μείωση της επίπτωσης καταγμάτων. Πολυκεντρικές

μεγάλες, διπλές τυφλές, placebo-ελεγχόμενες, τυχαιοποιημένες προοπτικές μελέτες και μετα-αναλύσεις των μελετών αυτών συνδέουν τη χορήγηση αλενδρονάτης με τη μείωση των οστεοπορωτικών καταγμάτων ως πρωτεύοντα στόχο, όταν η ιατρική κοινότητα στρέφεται προς την EVIDENCE-BASED MEDICINE, κοπιάζοντας ν' αξιολογήσει τις πραγματικές διαστάσεις μιας μαζικής θεραπευτικής παρέμβασης. Το τμήμα της παρούσας μελέτης που πραγματεύεται την διακεκομμένη χορήγηση αλενδρονάτης είναι εξαιρετικά επίκαιρο και ενδιαφέρον γιατί οι ιδιότητες των διφωσφονικών επιτρέπουν πιο επιτηδευμένη χρήση και εξατομίκευση.

Η εργασία αυτή ολοκληρώθηκε στο Πανεπιστήμιο Κρήτης με την επίβλεψη του αν. καθ. κ. Στεργιόπουλου. Οι αν.καθ. κ. Α.Μαργιωρή, και αν.καθ. κ. Ο.Ζώρας, μέλη της τριμελούς επιτροπής, στήριξαν την εργασία σε όλα τα στάδια με προθυμία και ακούραστη καθοδηγητική διάθεση. Τους ευχαριστώ όλους θερμά. Ευχαριστώ ιδιαίτερα τον ομότιμο καθ.κ. Δρετάκη, ο οποίος με την προσωπική του παρουσία και το επιστημονικό του έργο, ενέπνευσε το ειδικό ενδιαφέρον για το θέμα της οστεοπόρωσης και τη μελέτη αυτή. Επίσης, ευχαριστώ για το ενδιαφέρον και την ευγενική τους συμπαράσταση τον καθ. κ. Σμπυράκη, τον καθ. κ. Α.Χατζηπαύλου, τον επ.καθ.κ. Π.Κατώνη, τον επ.καθ.κ. Γ.Κοντάκη. Τέλος, οφείλω να ευχαριστήσω όλους τους ιατρούς της Πανεπιστημιακής Ορθοπαιδικής κλινικής για τη συνεργασία τους.

Ευχαριστώ πολύ όσους κατέθεσαν προσωπική εργασία και χρόνο για την ολοκλήρωση αυτής της μελέτης. Οι βιοχημικοί προσδιορισμοί έγιναν στο εργαστήριο κλινικής Χημείας-Βιοχημείας του ΠΕΠΑΓΝΗ με την επιμέλεια της βιολόγου κ. Μ.Μηλιάκη, ενώ οι μετρήσεις οστικής πυκνότητας έγιναν από την τεχνολόγο ακτινολογικού κ. Α.Καλογεράκη. Η στατιστική επεξεργασία και ανάλυση των παρατηρήσεων έγινε δυνατή με τη βοήθεια του διδάκτορα Φυσικής Παν/μίου Αθηνών κ.Κ.Κλεάνθους. Στη συγγραφή και την παρουσίαση των αποτελεσμάτων στάθηκε ανεκτίμητη η βοήθεια και η συμπαράσταση του συζύγου μου διδάκτορα Ορθοπαιδικής κ.Κ.Δρετάκη, τον οποίο και ευχαριστώ μόλις τελευταίο.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗΣ

Η *Οστεοπόρωση* χαρακτηρίζεται από χαμηλή οστική μάζα και διαταραχή της μικροαρχιτεκτονικής του οστίτη ιστού, με αποτέλεσμα μειωμένη μηχανική αντοχή των οστών και αυξημένο κίνδυνο καταγμάτων [1]. Το *κάταγμα* είναι το τελικό γεγονός το οποίο και προσδίδει το επιδημιολογικό ενδιαφέρον στην οστεοπόρωση και προκύπτει από διαταραχή της ισορροπίας μεταξύ φόρτισης του οστού και μηχανικής του αντοχής.

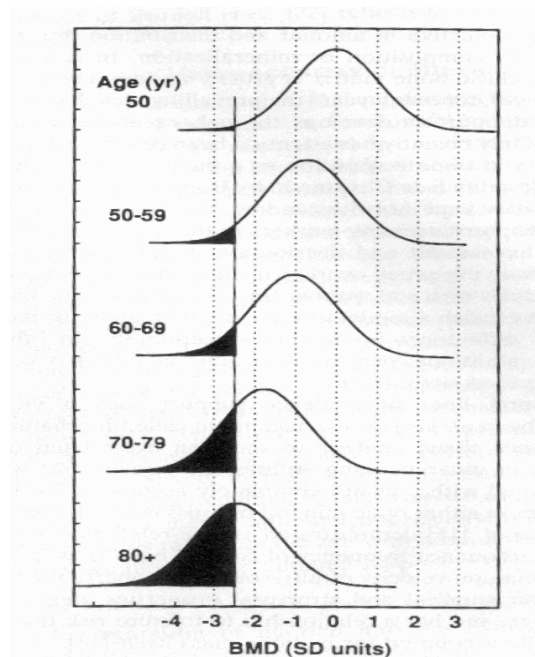
Η ελάττωση της οστικής μάζας είναι ένας από τους κυριότερους παράγοντες που επηρεάζουν τη μηχανική αντοχή των οστών. Πράγματι, η *οστική μάζα* ή η οστική πυκνότητα που μετράται με μεθόδους απορροφησιομετρίας *in vivo*, αποτελεί προγνωστικό παράγοντα του μακροπρόθεσμου κινδύνου κατάγματος [2,3,4,5], όπως ακριβώς η αυξημένη χοληστερόλη αποτελεί παράγοντα κινδύνου για επόμενα ισχαιμικά καρδιακά επεισόδια. Η μέτρηση οστικής πυκνότητας είναι ακριβής και επιτρέπει τον εντοπισμό ατόμων με αυξημένο κίνδυνο κατάγματος έγκαιρα πριν αυτό γίνει κλινικά εφικτό με την εμφάνιση ενός κατάγματος χαμηλής βίας. Έτσι συγκροτήθηκε μια ομάδα εμπειρων ερευνητών στο χώρο αυτό και με συνεργασία της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας, κατασκευάστηκε ένας *οστεοπυκνομετρικός ορισμός* της οστεοπόρωσης [6] που συνδυάζει την κατανομή της οστικής πυκνότητας με την κατανομή των οστεοπορωτικών καταγμάτων στον πληθυσμό και προσφέρεται για κλινική κυρίως χρήση. Σύμφωνα με αυτόν, στην *οστεοπόρωση* εμφανίζονται τιμές οστικής πυκνότητας μικρότερες από -2,5 σταθερές αποκλίσεις από τη μέση τιμή νεαρών γυναικών. Τιμές από -1 έως -2,5 σταθερές αποκλίσεις αντίστοιχα, χαρακτηρίζονται ως *οστεοπενία*.

Η οστική πυκνότητα σε μια συγκεκριμένη μέτρηση αντανακλά την *κορυφαία οστική πυκνότητα* που διαμορφώθηκε κατά τη σκελετική ωρίμανση μείον την επακόλουθη απώλεια που σχετίζεται κυρίως με την αύξηση της ηλικίας και την οιστρογονική ανεπάρκεια. Πρόκειται για ένα μέγεθος που εμφανίζει κανονική κατανομή στον ενήλικα πληθυσμό όπως για παράδειγμα το ύψος. Εξαρτάται από ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά όπως ο σωματικός δείκτης (βάρους σώματος προς το τετράγωνο του ύψους), και μεταβάλλεται αντιθέτως ανάλογα με την ηλικία με αποτέλεσμα η συχνότητα των παθολογικών τιμών να ποικίλει ανάλογα με την ηλικία (Σχ.1.1). Όπως οι περισσότερες ποσοτικές προγνωστικές μεταβλητές στην ιατρική, εμφανίζει ευρεία αλληλοεπικάλυψη στην κατανομή των τιμών της μεταξύ ατόμων με κατάγματα και χωρίς [7] (Σχ.1.2). Επιπλέον, ελάττωση της οστικής πυκνότητας παρατηρείται ως κοινή εκδήλωση ενός συνόλου καταστάσεων που οδηγούν στο ίδιο αποτέλεσμα με διαφορετικούς παθογενετικούς μηχανισμούς. Έτσι ο πυκνομετρικός ορισμός της οστεοπόρωσης μάλλον περιγράφει ένα επιδημιολογικό φαινόμενο, και θεωρεί την

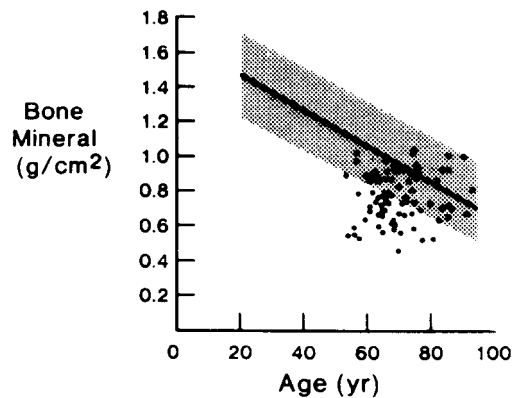
οστεοπόρωση ως μία χρόνια πολυπαραγοντική διαταραχή που οδηγεί σε προοδευτική μείωση της οστικής αντοχής και αυξημένο κίνδυνο κατάγματος.

Με όμοιο τρόπο, άλλες εύκολα μετρήσιμες μεταβλητές που έχει ήδη αποδειχθεί ότι σχετίζονται απ' ευθείας με τον κίνδυνο κατάγματος όπως για παράδειγμα βιοχημικοί δείκτες οστικής εναλλαγής [8], θα μπορούσαν να εξελιχθούν όπως ακριβώς η οστική πυκνότητα, σε κριτήρια εντοπισμού ατόμων με αυξημένο κίνδυνο κατάγματος, αν εκφραστούν σε σχέση με δεδομένα αναφοράς και προσδιορισθούν ουδοί που να συμφωνούν με την κατανομή καταγμάτων στον γενικό πληθυσμό. Κατ' επέκταση αν όλοι συμφωνούσαν ότι η οστεοπόρωση είναι μια κατάσταση αυξημένης ευθραυστότητας των οστών στην οποία συμβάλλουν διάφοροι παράγοντες όπως ηλικία, σωματικό μέγεθος, ρυθμός οστικής απώλειας και ρυθμός οστικού μεταβολισμού, θα μπορούσαν να δημιουργηθούν πολυπαραγοντικά μοντέλα για τον εντοπισμό των ατόμων με αυξημένο κίνδυνο κατάγματος.

Εκτός από ένα επιδημιολογικό φαινόμενο, η ιδιοπαθής οστεοπόρωση ίσως αποδειχθεί ότι είναι μια διακεκριμένη κλινική οντότητα με ειδική παθογένεια και κλινική πορεία και συγκεκριμένη *παθολογοανατομική εικόνα*. Μελέτες σε βιοψίες από ασθενείς με οστεοπορωτικά κατάγματα, περιγράφουν ότι το οστεοπορωτικό οστόν είναι βεβαίως αραιωτικό αλλά έχει και ποιοτικές διαφορές που αφορούν στη σύνθεση, την περιεκτικότητα [9] και την κατανομή της επιμεταλλωμένης θεμέλιας ουσίας [10], και στον αριθμό και την αρχιτεκτονική των οστικών δοκίδων [11, 12]. Η χαμηλού βαθμού επιμετάλλωση και η λέπτυνση ή διάτρηση σημαντικού αριθμού δοκίδων είναι συμβατές με τη μείωση της οστικής πυκνότητας, σχετίζονται με την πάροδο της ηλικίας και δεν είναι ειδικές για άτομα με κατάγματα χαμηλής βίας. Ωστόσο, κάποιες από τις παραπάνω ιστολογικές διαταραχές εμφανίζονται και σε οστεοπορωτικά άτομα μικρής ηλικίας [13]. Προς το παρόν είναι αδύνατος ο ορισμός της οστεοπόρωσης με κριτήρια παθολογοανατομικά, και η ιστολογική εξέταση δεν μπορεί να χρησιμοποιείται για την τεκμηρίωση της διάγνωσης της ιδιοπαθούς οστεοπόρωσης όπως συμβαίνει με άλλα μεταβολικά νοσήματα του σκελετού, π.χ. οστεομαλακία, τα οποία εμφανίζουν ειδική εικόνα. Στη διάγνωση και θεραπεία της οστεοπόρωσης το κριτικό γεγονός αποτελεί το κάταγμα χαμηλής βίας. Η ανάγκη διαμόρφωσης ενός νέου ορισμού με κριτήριο τα κατάγματα χαμηλής βίας, οδήγησε στη διάκριση των φυσιολογικών οστεοπενιών από την αληθή οστεοπόρωση [14].



ΣΧΗΜΑ 1.1. Οστική πυκνότητα γυναικών διαφόρων ηλικιών και η επίπτωση της οστεοπόρωσης, όπως ορίζεται σαν BMD < -2,5 σταθερές αποκλίσεις κάτω από τη μέση τιμή νεαρών γυναικών περίπου 25 ετών (ανατύπωση από Kanis et al [6])



ΣΧΗΜΑ 2. Τιμές οστικής πυκνότητας στη σπονδυλική στήλη 84 γυναικών με τουλάχιστον ένα σπονδυλικό κάταγμα σε σύγκριση με τη μέση προβλεπόμενη τιμή για την ηλικία (γραμμή συνάρτησης) και τα 90% όρια αξιοπιστίας (ανατύπωση από Riggs et al. [7]).

«Αληθής οστεοπόρωση» θεωρείται η κατάσταση κατά την οποία η ευθραυστότητα των οστών αυξάνεται τόσο ώστε να εμφανίζονται κατάγματα σχεδόν αυτόματα κατά τη διάρκεια φυσιολογικής σωματικής δραστηριότητας, κυρίως στη σπονδυλική στήλη. Στις «φυσιολογικές οστεοπενίες» η οστική αντοχή και μάζα ελαττώνεται ως φυσιολογική απάντηση στη μείωση της φυσικής δραστηριότητας και της μυϊκής ισχύος, έτσι ώστε να μην συμβαίνουν κατάγματα χωρίς πτώση. Σε αυτήν την περίπτωση εξακολουθούν βεβαίως να συμβαίνουν κατάγματα μετά από πτώσεις ή άλλους τραυματισμούς, και εντοπίζονται κυρίως στα άκρα. Οι ορισμοί αυτοί συμφωνούν με την κλασική κλινική

ταξινόμηση της ιδιοπαθούς οστεοπόρωσης σε *τύπο I και II* [15] (Πιν.1), αλλά προσθέτουν βαθμούς ελευθερίας, καθώς δεν προϋποθέτουν ηλικιακό ή φυλετικό διαχωρισμό. Η διάκριση φυσιολογικών οστεοπενιών και αληθούς οστεοπόρωσης, είναι ένα βήμα προς την αποδέσμευση του ορισμού της οστεοπόρωσης από το μοντέλο της οστικής απώλειας και την αναγωγή στην έννοια της μηχανικής οστικής αντοχής.

Πίνακας 1. Χαρακτηριστικά των δύο κύριων τύπων Ιδιοπαθούς Οστεοπόρωσης

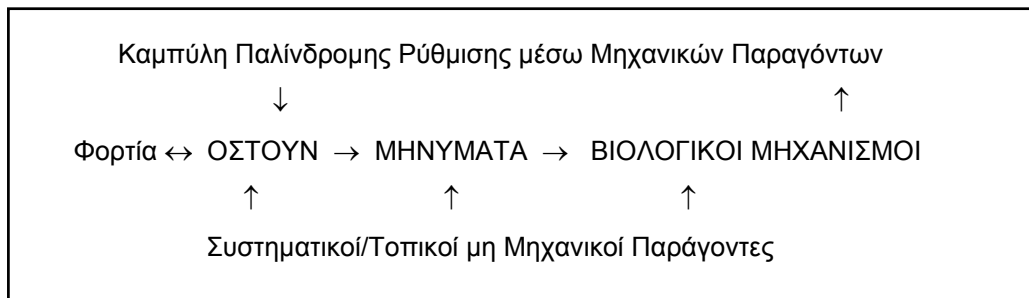
	Τύπος I	Τύπος II
<i>ηλικία (έτη)</i>	51-75	>70
<i>αναλογία γυναικών/άνδρες</i>	6:1	2:1
<i>Τύπος οστικής απώλειας</i>	σπογγώδες	σπογγώδες και φλοιώδες
<i>ρυθμός οστικής απώλειας</i>	ταχύς	όχι ταχύς
<i>κύριες θέσεις καταγμάτων</i>	Σπονδυλικά σώματα και πέρας κερκίδας	σπονδυλικά σώματα και ισχίο
<i>παραθυροειδική λειτουργία</i>	ελαττωμένη	αυξημένη
<i>κύρια αίτια</i>	εμμηνόπαυση+/-προδιαθεσικοί παράγοντες	παράγοντες που σχετίζονται με τη γήρανση

Η αυξανόμενη γνώση σχετικά με τους παθογενετικούς μηχανισμούς των καταγμάτων, προσαρμόζεται σε βασικές βιολογικές αρχές όπως η αρχή της ομοιόστασης και της οικονομίας των βιολογικών συστημάτων ελέγχου, και κατασκευάζεται ένα απλοποιημένο μοντέλο εμπιοσκελετικής λειτουργίας στο οποίο αλληλεπιδρώντες μηχανικοί, χημικοί και μοριακοί παράγοντες εξασφαλίζουν την ανάπτυξη και την ακεραιότητα του ανθρώπινου σκελετού έναντι των μηχανικών φορτίσεων [16] (Σχήμα 1.3). Η *οστική αντοχή*, κατά γενική πεποίθηση καθορίζεται από τις φυσικές ιδιότητες του οστού, την οστική μάζα, την αρχιτεκτονική δομή και γεωμετρία των οστών και τη συχνότητα των μικροσκοπικών εκ κοπώσεως καταγμάτων. Οι βιολογικοί μηχανισμοί επηρεάζουν την οστική αντοχή ρυθμίζοντας την οστική ανακατασκευή σε επίπεδο βασικής πολυκυτταρικής οστικής μονάδας (*remodeling*) και σε επίπεδο αρχιτεκτονικής και γεωμετρικής δομής (*modeling*). Ο συνολικός ρυθμιστικός μηχανισμός της μηχανικής αντοχής του σκελετικού αυτού μοντέλου ονομάζεται *μηχανοστάτης*.

Σύμφωνα με αυτό το μοντέλο, η αληθής οστεοπόρωση οφείλεται σε διαταραχή των βιολογικών μηχανισμών προσαρμογής και αυτοεπιδιόρθωσης με αποτέλεσμα να συσσωρεύονται μικροκατάγματα που οδηγούν τελικά σε αυτόματα κατάγματα με ελάχιστη βία [17,18]. Η κλινική εκτίμηση της λειτουργικής επάρκειας του *μηχανοστάτη*, θα μπορούσε να κάνει δυνατή τη διάκριση μεταξύ αληθούς οστεοπόρωσης και φυσιολογικών οστεοπενιών. Μια μέθοδος για να γίνει αυτό είναι η σύγκριση του

ισοζυγίου της μυϊκής και οστικής ισχύος. Στις φυσιολογικές οστεοπενίες η μυϊκή ισχύς συμβαδίζει με την οστική, πράγμα το οποίο δε συμβαίνει στην αληθή οστεοπόρωση.

Η επίπτωση των σπονδυλικών καταγμάτων ή των καταγμάτων χαμηλής βίας των άκρων αυξάνεται ραγδαία μετά την εμμηνόπαυση στις γυναίκες και με την πάροδο της ηλικίας και στα δύο φύλα. Η αύξηση του προσδόκιμου επιβίωσης και οι δημογραφικές αλλαγές συμβάλλουν περαιτέρω στην αύξηση της συχνότητάς τους και αναμένεται να οδηγήσουν σε αύξηση της νοσηρότητας και θνητότητας μιας μεγάλης ομάδας ατόμων του γενικού πληθυσμού. Η κατανόηση της παθογένειας και της φύσης της οστεοπόρωσης προάγει την πρόληψη των οστεοπορωτικών καταγμάτων, ώστε να γίνει δυνατός ο εντοπισμός των ατόμων υψηλού κινδύνου από τα συστήματα υγείας, για να προφυλαχθούν.



ΣΧΗΜΑ 1.3. Βιολογικοί μηχανισμοί τροποποιούν τις μηχανικές ιδιότητες του οστού και ελαχιστοποιούν την φθορά εκ κοπώσεως ώστε να διατηρείται η σκελετική ακεραιότητα. Μη μηχανικοί παράγοντες συμμετέχουν σε διάφορα στάδια και τρόπο ποιούν τη μετάδοση ερεθισμάτων και τη διαχείριση των μηχανικών παραγόντων από τους βιολογικούς μηχανισμούς (τροποποιημένο από H.M.Frost [9]).

ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΟΣΤΩΝ - ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗΣ

2.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

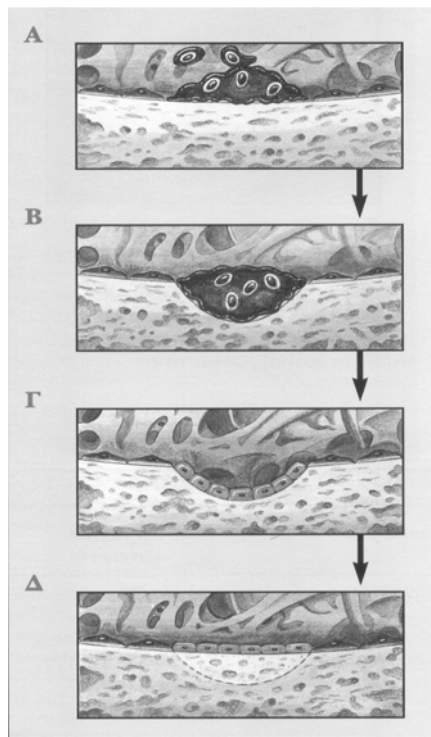
Τα οστά αποτελούν έναν ιστό με υψηλού βαθμού οργάνωση που έχει παράλληλα αυξημένη ικανότητα ανάπτυξης και επιδιόρθωσης. Αποτελούνται από στρώμα εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας εμπλουτισμένης με κρυστάλλους ανόργανων αλάτων, μέσα στην οποία βρίσκονται τα ειδικά οστικά κύτταρα. Οι κύριοι τύποι οστικών κυττάρων είναι οστεοβλάστες, οστεοκύτταρα και οστεοκλάστες. Στοιχειώδεις ποσότητες οστού ανά πάσα στιγμή και σε όλη τη διάρκεια της ζωής, απορροφώνται από τους οστεοκλάστες και επανασυντίθενται από τους οστεοβλάστες κατά τη διαδικασία της *οστικής ανακατασκευής (remodeling)*. Για τον σκοπό αυτό τα οστικά κύτταρα δέχονται ερεθίσματα μηχανικά, ορμονικά ή χημικά από το συστηματικό και τοπικό περιβάλλον ενώ διαθέτουν και μεταξύ τους ικανότητα επικοινωνίας. Η ισόρροπη σύνδεση της οστικής αποδόμησης με την οστική σύνθεση μέσω κυτταρικών μηχανισμών, ονομάζεται *σύζευξη (coupling)* και έχει σαν σκοπό την ομοιοστάση της οστικής μάζας.

2.2. ΚΥΤΤΑΡΙΚΑ ΓΕΓΟΝΟΤΑ κατά την ΟΣΤΙΚΗ ΑΝΑΚΑΤΑΣΚΕΥΗ

Η παρατήρηση οστικών επιφανειών με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο και κινητικές μελέτες με ραδιοσημαίνοντα στοιχεία, έδειξαν ότι η οστική απορρόφηση και σύνθεση είναι συνεχείς διαδικασίες. Ωστόσο, για τη συστηματοποίηση της μελέτης της οστικής βιολογίας και με την παραδοχή ότι η σύνθεση έπεται της απορρόφησης, το φαινόμενο της οστικής ανακατασκευής, περιγράφεται ως μια αλληλουχία κυτταρικών γεγονότων που λαμβάνει χώρα σε στοιχειώδη μονοδιάστατα μικροτμήματα της οστικής επιφάνειας [19] (Σχ.2.1) .

Η *Βασική Μικροκατασκευαστική Μονάδα του οστού (BSU)* στη φάση ηρεμίας καλύπτεται από αποπλατυσμένα επενδυματικά κύτταρα. Τα επενδυματικά κύτταρα προέρχονται από οστεοβλάστες που έπαψαν να παράγουν θεμέλια ουσία. Καλύπτουν ένα λεπτό στρώμα μη επιμεταλλωμένης θεμέλιας ουσίας και είναι ευαίσθητα σε μηχανικά [20] ή ορμονικά (π.χ. παραθορμόνη (PTH) [21]) ερεθίσματα (σχ.2.1), που σηματοδοτούν την ενεργοποίηση της οστικής απορρόφησης. Τότε, τα επενδυματικά κύτταρα αλληλεπιδρούν με προοστεοκλάστες με αποτέλεσμα την ωρίμανση τους σε ενεργούς οστεοκλάστες που έχουν τη μορφή πολυπύρηνων γιγαντοκυττάρων (*φάση ενεργοποίησης*). Οι ενεργοί οστεοκλάστες απορροφούν την υποκείμενη επιμεταλλωμένη θεμέλιο ουσία επί 2 έως 4 εβδομάδες και έως βάθους περίπου 30 μm. Στο τέλος της *φάσης απορρόφησης*, στον πυθμένα της κοιλότητας που έχει δημιουργηθεί, εμφανίζονται μονοπύρηννα κύτταρα τα οποία αργότερα, αντικαθίστανται

από κύτταρα με χαρακτηριστικά μακροφάγων και προοστεοβλάστες (φάση αναστροφής). Η φάση αυτή διαρκεί λίγες ημέρες που μεσολαβούν μεταξύ απορρόφησης και έναρξης νέου κύκλου σύνθεσης. Στη μικροσκοπική παρατήρηση και με κατάλληλες χρώσεις, χαρακτηρίζεται από λεπτές *πάγιες γραμμές* οστεοειδούς (cement lines) που αντιπροσωπεύουν τον πυθμένα της περιοχής της μέγιστης απορρόφησης και το επίπεδο της αναστροφής. Οι πάγιες γραμμές είναι πλούσιες σε οστεοποντίνη, μια οστική πρωτεΐνη για την οποία υπάρχουν υποδοχείς στην επιφάνεια τόσο των οστεοκλαστών όσο και των οστεοβλαστών [22]. Κατά τη φάση της οστικής σύνθεσης, ώριμοι οστεοβλάστες που βρίσκονται στην επιφάνεια αναστροφής δημιουργώντας ένα συνεχές κυτταρικό στρώμα, παράγουν οστεοειδή θεμέλια ουσία και μετά από ένα χρονικό διάστημα που ονομάζεται *διάστημα υστέρησης επιμετάλλωσης*, επάγουν την επιμετάλλωσή του οστεοειδούς. Η φάση σύνθεσης διαρκεί συνολικά 2-3 μήνες στο σπογγώδες οστό και 5-6 μήνες στο φλοιώδες. Μετά την επιμετάλλωση, οι οστεοβλάστες αποπλατύνονται και μεταπίπτουν σε επενδυματικά οστικά κύτταρα.



ΣΧΗΜΑ 2.1. Σχηματική παράσταση της οστικής ανακατασκευής στο σπογγώδες οστό (ανατύπωση από J.Compston σε The management of common metabolic bone disorders.Cambridge University Press 1994)

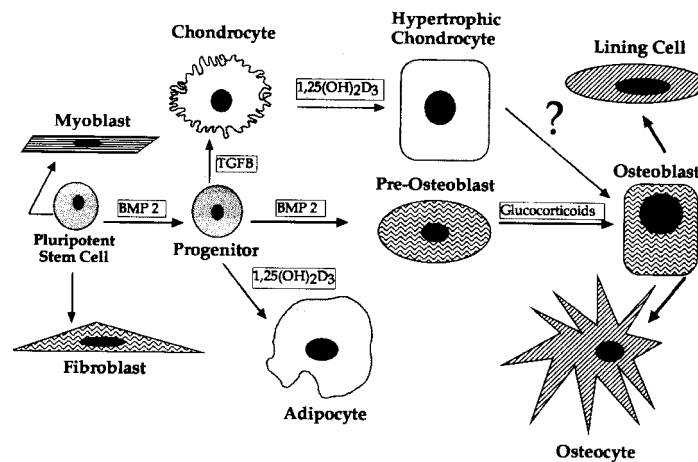
2.3. ΟΣΤΕΟΒΛΑΣΤΕΣ

Τα κύτταρα της οστεοβλαστικής σειράς είναι υπεύθυνα για τη σύνθεση και επιμετάλλωση της θεμέλιας ουσίας αλλά συμμετέχουν και στη διαδικασία της οστικής απορρόφησης παίζοντας ρυθμιστικό ρόλο. Βάσει μορφολογικών και ιστολογικών μελετών τα κύτταρα της οστεοβλαστικής σειράς θεωρούνται μεσεγγυματικής προέλευσης. Ξεκινούν από τον μυελό των οστών, και ακολουθούν μια εξελικτική πορεία που ολοκληρώνεται στις οστικές επιφάνειες. Κατά την εξελικτική διαδικασία, η δυνατότητα πολλαπλασιασμού των οστεοπρογονικών κυττάρων υποχωρεί έναντι της διαδοχικής έκφρασης διαφόρων γονιδίων με αποτέλεσμα την εμφάνιση των φαινοτυπικών χαρακτηριστικών των οστεοβλαστών όπως οι μεμβρανικοί υποδοχείς παραθορμόνης, η ενζυμική δραστηριότητα αλκαλικής φωσφατάσης, η ικανότητα ανταπόκρισης στην 1,25(OH)VitD₃, ή η ανάπτυξη πλούσιου ενδοπλασματικού δικτύου. Οι κύριοι μορφολογικοί και λειτουργικοί σταθμοί διαφοροποίησης είναι το οστεοπρογονικό κύτταρο, ο προοστεοβλάστης και ο ώριμος οστεοβλάστης που μεταπίπτει τελικά σε οστεοκύτταρο ή επενδυματικό κύτταρο (Σχ. 2.2).

Οι *ώριμοι οστεοβλάστες* βρίσκονται στις οστικές επιφάνειες, έχουν κυβοειδές σχήμα, στρογγυλό πυρήνα τοποθετημένο στη βάση τους και ένα καλά ανεπτυγμένο, πλούσιο αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο. Διατάσσονται σε γραμμικούς συνεχείς σχηματισμούς και επικοινωνούν μεταξύ τους μέσω συνδετικών πρωτεϊνών. Μέσω κυτταροπλασματικών προσεκβολών που εκτείνονται στην αποπιτανωμένη θεμέλιο ουσία, επικοινωνούν με αντίστοιχες αποφύσεις των οστεοκυττάρων. Οι οστεοβλάστες συνθέτουν και εκκρίνουν κολλαγόνο τύπου I και βλεννοπολυσακχαρίτες που αποτελούν τη θεμέλιο ουσία. Επιπλέον συνθέτουν κολλαγενάσες, προσταγλανδίνη E₂, οστεοκαλσίνη και οστεονεκτίνη. Έχουν υποδοχείς παραθορμόνης, βιταμίνης D, PGE₂ και γλυκοκορτικοειδών και φαίνεται ότι η επίδραση αυτών των δραστικών μορίων στους οστεοκλάστες επιτυγχάνεται μέσω οστεοβλαστών. Οι οστεοβλάστες επίσης εκκρίνουν αλκαλική φωσφατάση μέσω της οποίας ελέγχουν το ρυθμό επιμετάλλωσης. Τα *οστεοκύτταρα* διατηρούν μερικές από τις εκκριτικές ιδιότητες των οστεοβλαστών, έχουν όμως και ικανότητα οστικής απορρόφησης [23], και ανταποκρίνονται με μορφολογικές μεταβολές στην παρουσία παραθορμόνης και καλσιτονίνης. Τελικά φαγοκυτταρώνονται από τους οστεοκλάστες και απομακρύνονται μαζί με την αποπιτανωμένη θεμέλιο ουσία που τους περιβάλλει. Τα *επενδυματικά οστικά κύτταρα* είναι ανενεργά και παρέχουν ένα φραγμό μεταξύ οστού και εξωκυττάρου περιβάλλοντος. Συμμετέχουν στην ομοίωση των μεταλλικών στοιχείων ρυθμίζοντας τη ροή ιόντων ασβεστίου και φωσφόρου [22] και στην έναρξη της οστικής απορρόφησης μέσω έκλυσης πρωτεασών [20,21,24].

Η διαφοροποίηση των οστεοβλαστικών κυττάρων ρυθμίζεται από διάφορους αυξητικούς και ορμονικούς παράγοντες η δράση των οποίων τροποποιείται επιπλέον

από μηνύματα που εξαρτώνται από τη σύνθεση και τη δομή της περιβάλλουσας θεμέλιας ουσίας τη δεδομένη χρονική στιγμή. Έτσι το κάθε οστεοβλαστικό κύτταρο, εμφανίζει εκλεκτική ευαισθησία σε αυξητικούς και ορμονικούς παράγοντες, ανάλογα με το στάδιο διαφοροποίησης στο οποίο βρίσκεται και με τις φαινοτυπικές μεταβολές που του συμβαίνουν. Αυτό καθιστά δύσκολη τη μελέτη των διαφόρων φαρμακευτικών παρεμβάσεων ή των ορμονικών διαταραχών στη ζωή και λειτουργία των οστεοβλαστών *in vitro*, αλλά και την ερμηνεία τους *in vivo*.



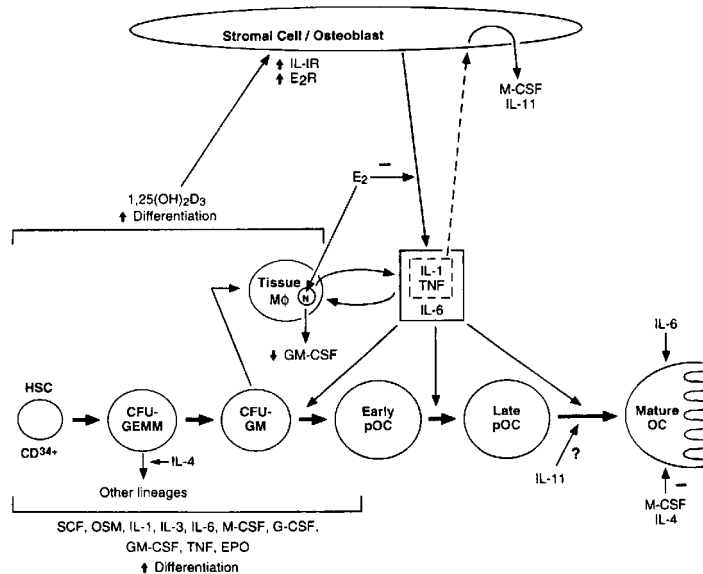
Σχήμα 2.2. Προέλευση της οστεοβλαστικής κυτταρικής σειράς. Διάφοροι μεσολαβητές (TGFβ, BMP-2, γλυκοκορτικοειδή κá), επηρεάζουν την εξέλιξη. Υπερτροφικά χονδροκύτταρα σε κατάλληλο περιβάλλον μπορούν να εμφανίσουν γονιδιακά χαρακτηριστικά οστεοβλαστών (ανατύπωση από Lian JB et al [22]).

2.4. ΟΣΤΕΟΚΛΑΣΤΕΣ

Οι οστεοκλάστες είναι τα οστικά κύτταρα τα οποία είναι κυρίως υπεύθυνα για την οστική απορρόφηση. Είναι μεγάλα (100μm), συγκυτιακά πολυπύρηννα κύτταρα, πλούσια σε λυσοσωμάτια και μοιάζουν με γιγαντοκύτταρα μακροφάγα. Στην ενεργό τους φάση, εμφανίζουν πολικότητα καθώς στον πόλο επαφής με το οστόν παρατηρείται έντονη *πτύχωση* της κυτταροπλασματικής μεμβράνης (*ruffling*) που συνδέεται με το στούν υδατοστεγώς, σχηματίζοντας έτσι ένα χώρο απομονωμένο από το εξωκυττάριο περιβάλλον.

Οι οστεοκλάστες προέρχονται από αρχέγονα αιμοποιητικά προγονικά κύτταρα, τα οποία με την επίδραση κυτοκινών, στεροειδών και ειδικών πρωτεϊνών οστεοβλαστικής προέλευσης, διαφοροποιούνται σε ώριμους οστεοκλάστες [25]. Στρωματικά κύτταρα μυελού, ώριμα μονοκύτταρα, και μακροφάγα μπορούν επίσης να διαφοροποιηθούν σε οστεοκλάστες, παρουσία οστεοβλαστών *in vitro* [26]. Έτσι παρότι δεν είναι γνωστός ο ακριβής πρόγονος των οστεοκλαστών, είναι πιθανόν να προέρχονται από αποικίες

CFU-κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων ή CFU-μικτών κυττάρων καθώς η εξελικτική τους πορεία περιλαμβάνει κύτταρα με ενδιάμεσα χαρακτηριστικά οστεοκλαστών και μακροφάγων [27]. Όπως αναφέρθηκε, οι οστεοβλάστες επηρεάζουν όλα τα στάδια διαφοροποίησης των οστεοκλαστών (οστεοκλαστογένεσης) μέσω έκλυσης κυτοκινών, TNF και ειδικών πρωτεϊνών της οικογένειας των “death-domain-containing proteins” (Σχήμα 2.3).



Σχήμα 2.3. Οστεοκλαστική διαφοροποίηση και λειτουργία. Αιμοποιητικές κυτοκίνες και 1,25(OH)₂VitD₃ προάγουν τη διαφοροποίηση των CD34⁺ stem προγονικών κυττάρων και των πρώιμων απογόνων τους σε οστεοκλάστες. Οι κυτοκίνες IL-1, TNF, IL-6 και IL-11, που προέρχονται από τα στρωματικά μυελικά κύτταρα και μονοκύτταρα, συμμετέχουν στα μετέπειτα στάδια οστεοκλαστογένεσης. Η IL-1 και ο TNF ενεργοποιούν τους ώριμους οστεοκλάστες εμμέσως μέσω οστεοβλαστών και αναστέλλουν την απόπτωσή τους. Επιπλέον, επιδρούν στα στρωματικά κύτταρα και ρυθμίζουν την παραγωγή άλλων κυτοκινών όπως IL-6, IL-11, M-CSF και GM-CSF. Η IL-4 εκτρέπει τους άωρους προγόνους των μακροφάγων προς την μη οστεοκλαστική κατεύθυνση ενώ όπως και ο M-CSF αναστέλλει την δράση των ώριμων οστεοκλαστών. Αντιθέτως η IL-6 προάγει την οστεοκλαστική δραστηριότητα. Τα οιστρογόνα αναστέλλουν την έκλυση IL-6, IL-1 και TNFα από τα στρωματικά κύτταρα. (ανατύπωση από S.Teitelbaum).

Για να αρχίσει την αποδόμηση και απορρόφηση οστικής ουσίας ο οστεοκλάστης πρέπει αρχικά να προσκολληθεί στην οστική επιφάνεια και να δημιουργήσει κάτω από τις πτυχώσεις της πλασματικής του μεμβράνης, ένα ευνοϊκό για την απορρόφηση μικροπεριβάλλον, απομονωμένο από το υπόλοιπο εξωκυττάριο σύστημα. Η προσκόλληση είναι μια διαδικασία που εξαρτάται από τη σύνθεση της εξωκυττάριας ουσίας, καθώς απαιτεί τη σύνδεση μεμβρανικών υποδοχέων με πρωτεΐνες της θεμέλιας ουσίας. Συνεκτικές πρωτεΐνες (integrins), αναγνωρίζουν διάφορες πρωτεΐνες που περιέχουν συγκεκριμένη αλληλουχία αμινοξέων (Arg-Gly-Asp) [28] όπως η οστεοποντίνη [29], οστική σιαλοπρωτεΐνη, θρομβοσποντίνη, ινονεκτίνη και κολλαγόνο τύπου I. Με την προσκόλληση των οστεοκλαστών στην θεμέλιο ουσία, ενεργοποιούνται διάφοροι ενδοκυττάριοι μηχανισμοί που οδηγούν στην αναδιοργάνωση του κυτταρικού σκελετού,

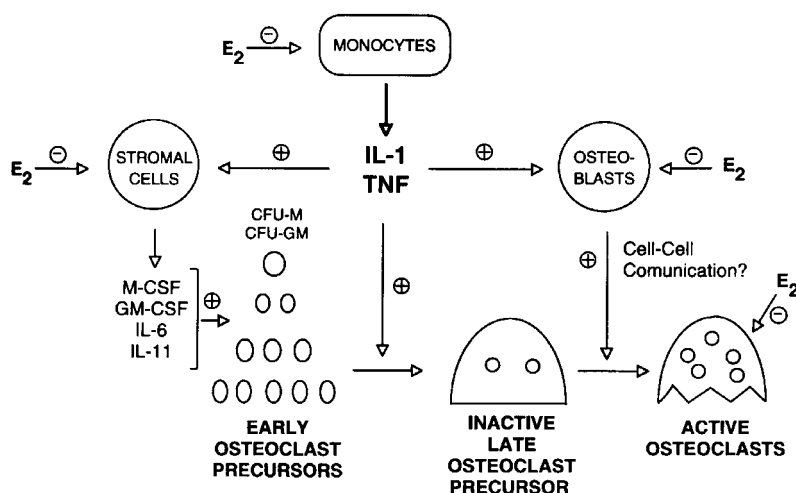
τη μετανάστευση λυσοσωματίων προς τον ενεργό πόλο και την πτύχωση της πλασματικής μεμβράνης. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω βιοχημικών μονοπατιών που περιλαμβάνουν μικρά ενδοκυττάρια πεπτιδία όπως $pp^{60c-src}$ [30], φωσφατιδυλ-ινοσιτολ-3-ική κινάση [31, 32], γελσολίνη [33] και *rhoA* [34].

Το σημείο επαφής της πτυχωτής μεμβράνης με την οστική επιφάνεια εμφανίζεται σαν μια διακριτή περιοχή (*clear zone*) πλούσια σε μικροϊνίδια που εκτείνονται από τη μεμβράνη μέσα στη θεμέλιο ουσία, και αποτελεί έναν απομονωμένο λειτουργικό χώρο με συνθήκες ευνοϊκές για την οστική απορρόφηση. Πρωτόνια τα οποία προέρχονται από ενδοκυττάρια υδρόλυση μέσω του ενζύμου καρβονική ανυδράση II, προωθούνται εξωκυττάρια με αντλίες πρωτονίων H^+ -ATPase. Έτσι επιτυγχάνεται η ελάττωση του PH του απομονωμένου χώρου μεταξύ οστεοκλάστη και οστού [35] και η απομετάλλωση (*demineralization*) της οστέινης ουσίας που προηγείται της αποδόμησης της οργανικής φάσης της. Επειδή η ενεργοποίηση των κολλαγενασών, υδρολυτικών ενζύμων (πλασμινών, καθεψινών κλπ) απαιτεί χαμηλό PH [36], το όξινο περιβάλλον του χώρου κάτω από τον οστεοκλάστη ευνοεί την αποδόμηση της οργανικής θεμέλιας ουσίας. Οι όξινες πρωτεάσες εκλύονται από τους οστεοκλάστες μέσω των 6-φωσφορικών υποδοχέων μανόζης [37]. Παρεμβάσεις ή μετάλλαξη σε κάποιο από αυτά τα στάδια έχει σαν αποτέλεσμα την καταστολή της οστικής απορρόφησης. Για παράδειγμα, μεταλλάξεις που προκαλούν διαταραχή στην καρβονική ανυδράση II [38], ή την H^+ -ATPase είναι υπεύθυνες για μερικές μορφές οστεοπέτρωσης στον άνθρωπο.

Οι ώριμοι διαφοροποιημένοι οστεοκλάστες κινούνται πάνω στις οστικές επιφάνειες και σταματούν για να αρχίσουν την απορρόφηση της οστέινης ουσίας. Κατά το διάστημα αυτό, δημιουργούν μια κοιλότητα η οποία χαρακτηρίζεται από την απόσταση την οποία καλύπτει κατά μήκος της οστικής επιφάνειας (*progression*) και από το βάθος της (*resorption depth*). Με την ολοκλήρωση της φάσης της οστικής απορρόφησης οι οστεοκλάστες αποπίπτουν, δηλαδή υφίστανται προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο. Πράγματι, η χρωματίνη του πυρήνα γίνεται πυκνότερη, η πτυχωτή μεμβράνη χάνεται και αποκολλώνται από τις επιφάνειες της επιμεταλλωμένης οστέινης ουσίας. Η απόπτωση ελέγχεται από πολλαπλούς παράγοντες που επιδρούν στην οστεοκλαστική λειτουργία, πολλοί των οποίων ήταν αυτοί που διαφοροποίησαν τα κύτταρα. Για παράδειγμα, η οιστρογονική ανεπάρκεια καθυστερεί την απόπτωση με αποτέλεσμα την αύξηση του βάθους απορρόφησης, αύξηση του ποσοστού διάτρησης των οστεοδοκίδων και απώλεια της οστικής συνέχειας.

Οι οστεοκλάστες, ως τα κύρια οστεολυτικά κύτταρα, αποτελούν στόχο διάφορων φαρμακευτικών ουσιών για την θεραπεία της οστεοπόρωσης. Οι αντιοστεοκλαστικοί αυτοί παράγοντες γενικά δρουν σε διάφορες φάσεις της εξελικτικής ζωής και

δραστηριότητας των οστεοκλαστών, από την επιστράτευση προγονικών κυττάρων και την οστεοκλαστογένεση έως την προσκολλητικότητα και δραστικότητα των ώριμων οστεοκλαστών και την απόπτωσή τους. Η καλσιτονίνη δρα μέσω υποδοχών καλσιτονίνης [39] και προκαλεί κυτταροπλασματική συστολή της οστεοκλαστικής μεμβράνης, η οποία σχετίζεται με ελάττωση της δραστικότητας των ώριμων οστεοκλαστών [40]. Κατά την έκθεσή τους στην ορμόνη οι ενεργοί οστεοκλάστες, συρρικνώνονται σε μέγεθος, χάνουν την πτυχωτή τους μεμβράνη και άλλα φαινοτυπικά χαρακτηριστικά που σχετίζονται με την ενεργό τους μορφή και μεταπίπτουν σε μονοπύρνα. Επίσης αναστέλλεται η οστεοκλαστογένεση στη φάση του πολλαπλασιασμού των προγονικών κυττάρων και στη φάση διαφοροποίησης των comitted precursors.



Σχήμα 2.4. Σχηματική αναπαράσταση της δράσης των οιστρογόνων στη διαφοροποίηση και δραστικότητα των οστεοκλαστών (ανατύπωση από Pacifici R, [45])

Τα διφωσφονικά φαίνεται ότι ασκούν πολλαπλές αντιοστεοκλαστικές δράσεις. Έτσι, α) αναστέλλουν την επιστράτευση και προσέλευση οστεοκλαστών [41], β) επιδρούν στα τελικά στάδια της οστεοκλαστογένεσης που εξαρτώνται από την παρουσία οστεοβλαστών [42], γ) προάγουν τον θάνατο των κυττάρων (απόπτωση) [43] και δ) ελαττώνουν την προσκολλητικότητα των οστεοκλαστών στις οστικές επιφάνειες [44].

Τα οιστρογόνα αναστέλλουν την οστεοκλαστική δραστηριότητα κυρίως μέσω βοηθητικών κυττάρων, παρότι στο κυτταρόπλασμα των οστεοκλαστών υπάρχουν υποδοχείς οιστρογόνων. Είναι τώρα γενικά αποδεκτό ότι η χορήγηση οιστρογόνων μειώνει την παραγωγή IL-1 και TNF από τα στρωματικά μυελικά κύτταρα και μειώνει την ευαισθησία των στρωματικών κυττάρων σε αυτές τις κυτοκίνες, με αποτέλεσμα την αναστολή του πολλαπλασιασμού και της διαφοροποίησης των αιμοποιητικών προγόνων των οστεοκλαστών στα πρώιμα στάδια οστεοκλαστογένεσης. Παράλληλα, αναστέλλει

την έκλυση κυτοκινών από τους οστεοβλάστες και και την ενεργοποίηση των ανενεργών οστεοκλαστών μέσω οστεοβλαστών [45](σχ.2.4). Τέλος επάγουν την οστεοκλαστική απόπτωση in vitro and in vivo [46].

2.5. ΠΑΘΟΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΟΣΤΕΟΠΩΡΩΣΗΣ

Η επικρατούσα άποψη για την οστεοπόρωση είναι ότι αποτελεί μια διαταραχή που αφορά στην ποσότητα της οστέινης ουσίας και την κατανομή της στον σκελετό. Δεδομένης της συνεχούς ανακατασκευαστικής δραστηριότητας του οστίτη ιστού, η ποσοτική διαταραχή προκύπτει από αυξημένη οστική απώλεια ή από ελαττωμένη εναπόθεση οστέινης ουσίας φυσιολογικής σύστασης. Η διαταραχή του ισοζυγίου σύνθεσης-απορρόφησης (*remodeling imbalance*), οφείλεται σε δυσλειτουργία της σύζευξης (*coupling*) μεταξύ οστεοβλαστικής και οστεοκλαστικής δραστηριότητας λόγω μεταβολών στην έκλυση κυτοκινών και συστηματικών ορμονών.

Σύμφωνα με τη θεωρία της στοιχειώδους οστικής ανακατασκευής (βλ. σελ. 16, παρ.2.1), οι μηχανισμοί με τους οποίους αυξάνεται η οστική απώλεια, είναι η αύξηση της συχνότητας ενεργοποίησης και /ή η αύξηση του στοιχειώδους οστικού ελλείμματος κατά το τέλος κάθε κύκλου ανακατασκευής. *Συχνότητα ενεργοποίησης (activation frequency)* είναι το μέσο χρονικό διάστημα που μεσολαβεί μεταξύ δύο διαδοχικών κύκλων οστικής ανακατασκευής στην ίδια θέση της οστικής επιφάνειας. Η συχνότητα ενεργοποίησης είναι ο καλύτερος ιστολογικός δείκτης του ρυθμού της οστικής ανακατασκευής σε μια επιφάνεια και ο κύριος παράγοντας που προσδιορίζει την οστική εναλλαγή (*bone turnover*). *Οστική εναλλαγή* είναι ο όγκος του οστίτη ιστού που αποδομείται και αντικαθίσταται κατά την ανακατασκευή. Εξαρτάται από τη συχνότητα ενεργοποίησης και από το λόγο επιφάνειας οστού προς τον όγκο του. Έτσι η οστική εναλλαγή είναι μεγαλύτερη στο σπογγώδες οστόύν το οποίο χαρακτηρίζεται από μεγαλύτερη οστική επιφάνεια ανά μονάδα όγκου, σε σύγκριση με το φλοιώδες. Η συχνότητα ενεργοποίησης εξαρτάται από το ρυθμό εμφάνισης νέων βασικών μικροκατασκευαστικών μονάδων BSU (*origination*) αλλά και από την απόσταση στην οποία εκτείνεται η προϊούσα απορρόφηση σε μία ορισμένη μονάδα (*progression*). Αυξημένη πρόοδος ή βάθος οστικής απορρόφησης ή αυξημένη εμφάνιση ενεργών θέσεων απορρόφησης που συνεπάγεται αυξημένη οστική εναλλαγή και αυξημένη απορρόφηση, ή χαμηλή οστική εναλλαγή με ελαττωμένη εναπόθεση νέου οστού από τους οστεοβλάστες, οδηγούν σε οστική απώλεια.

Η οστεοπόρωση χαρακτηρίζεται συνήθως από αυξημένη οστική εναλλαγή [47]. Το βάθος απορρόφησης θεωρείται ότι δεν αυξάνεται [47,48], μολονότι η οιστρογονική ανεπάρκεια προκαλεί καθυστερημένη απόπτωση οστεοκλαστών [49,46]. Ασθενείς με

οστεοπορωτικά κατάγματα και χαμηλή οστική πυκνότητα εμφανίζουν αυξημένη συχνότητα ενεργοποίησης, παράταση της προόδου της απορρόφησης και αρνητικό ισοζύγιο ανακατασκευής που οφείλεται σε ανεπαρκή οστική σύνθεση [50]. Η σταδιακή μείωση της παραγωγής οιστρογόνων από τις ωοθήκες κατά την εμμηνόπαυση προκαλεί αύξηση στην προσέλευση προγονικών οστεοκλαστικών κυττάρων [45, 50] και στη διαφοροποίησή τους, και επαγωγή της ενεργοποίησης των ανενεργών οστεοκλαστών. Αυτά έχουν ως αποτέλεσμα την αύξηση της προόδου της απορρόφησης και της συχνότητας ενεργοποίησης. Επίσης προκαλεί μείωση της απόπτωσης με αποτέλεσμα αύξηση της προόδου και του βάθους απορρόφησης. Για πολλούς λόγους η αύξηση του ρυθμού οστικής απορρόφησης δεν συνοδεύεται από αντίστοιχη ισόποση αύξηση της οστικής σύνθεσης. Είναι πιθανόν ότι η πρόοδος της ηλικίας προδιαθέτει σε ελάττωση του αριθμού των πολυδύναμων στρωματικών κυττάρων που διαφοροποιούνται σε οστεοβλάστες [51] κι αυτό οδηγεί σε μείωση της οστικής σύνθεσης.

Επιπλέον υπάρχουν ενδείξεις ότι η οστεοπόρωση συνοδεύεται και από ποιοτική διαταραχή της ανακατασκευής. Πράγματι, οι Burnell et al. (1982) συνέκριναν βιοψίες από τα λαγόνια οστά 56 οστεοπορωτικών μετεμμηνόπαυσιακών γυναικών με συμπτωτικά σπονδυλικά κατάγματα, με αντίστοιχες βιοψίες από 48 «υγιείς μάρτυρες» [9]. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής δείχνουν ότι σε ένα μεγάλο ποσοστό των οστεοπορωτικών ασθενών (25%), υπάρχει διαταραχή στην επιμετάλλωση. Το κλάσμα ανόργανης ουσίας ανά γραμμάριο οστίτη ιστού είναι ελαττωμένο, ενώ η σύνθεση της ανόργανης ουσίας είναι διαφορετική, με την περιεκτικότητα σε άνθρακα και την αναλογία ασβεστίου/φωσφόρου να είναι ελαττωμένα, ενώ η περιεκτικότητα νατρίου και μαγνησίου αυξημένη.

Θεωρητικά, οποιοσδήποτε παράγοντας τοπικός ή συστηματικός που επηρεάζει τη διαφοροποίηση και το μεταβολισμό των οστικών κυττάρων, μπορεί να οδηγήσει σε οστεοπόρωση. Συνήθως η επίδραση διαφόρων μεμονωμένων παραγόντων στην *οστεοκλαστογένεση* ή *οστεοβλαστογένεση* ή *τη δραστικότητα των οστικών κυττάρων*, μελετάται *in vitro* σε συγκεκριμένα κυτταρικά συστήματα και η μεταφορά των συμπερασμάτων σε *in vivo* συνθήκες είναι παρακινδυνευμένη. Η αναφορά στην αναγνωρισμένη δράση διαφόρων συστηματικών ορμονών και τοπικών παραγόντων, π.χ. κυτοκινών και αναπτυξιακών παραγόντων, ξεφεύγει από το σκοπό αυτού του κειμένου. Είναι πάντως γενικά αποδεκτό ότι οι τοπικοί παράγοντες παίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της οστεοπόρωσης, δρώντας απευθείας αλλά και ως μεσολαβητές μέσω των οποίων επιτυγχάνεται και η δράση των συστηματικών ορμονών όπως για παράδειγμα, των οιστρογόνων. Έτσι, η οστεοπόρωση σε κυτταρικό επίπεδο, είναι αποτέλεσμα της τροποποίησης κάποιων τοπικών παραγόντων που ελέγχουν τη

διαδικασία της κυτταρικής διαφοροποίησης και της αλληλεπίδρασης μεταξύ κυττάρων και θεμέλιας ουσίας κατά την οστική ανακατασκευή. Σύμφωνα με αυτά, είναι πιθανό διαφορετικοί ασθενείς να παρουσιάζουν διαφορετικές κυτταρικές και βιοχημικές διαταραχές που έχουν ως κοινή εκδήλωση την ευθραυστότητα του σκελετού.

ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΕΝΑΛΛΑΓΗΣ IN VIVO: ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΕΝΑΛΛΑΓΗΣ

3.1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η οστική εναλλαγή είναι ο όγκος του οστίτη ιστού που αποδομείται και αντικαθίσταται. Είναι ένας γεωμετρικός ορισμός, στα πλαίσια της *θεωρίας της στοιχειώδους οστικής ανακατασκευής* και εξαρτάται από ιστομορφομετρικές συνισταμένες, όπως είναι η συχνότητα ενεργοποίησης των μονάδων ανακατασκευής, και η έκταση της οστικής επιφάνειας ανά μονάδα όγκου του οστού. Ο προσδιορισμός της οστικής εναλλαγής στον ανθρώπινο σκελετό είναι δυνατός με ιστομορφομετρικές μεθόδους σε βιοψίες λαγονίου και πλευρών. Ωστόσο, οι παράμετροι οστικής εναλλαγής που προσδιορίζονται ιστομορφομετρικά, προέρχονται από μια μικρή περιοχή του σπογγώδους ή της ενδοοστικής επιφάνειας και δεν αντανakλούν την οστική εναλλαγή σε άλλες περιοχές του σκελετού. Επιπλέον η μέθοδος είναι επεμβατική και ενοχλητική για τον ασθενή. Μη επεμβατικοί τρόποι για την εκτίμηση της οστικής εναλλαγής είναι η μελέτη κινητικής ασβεστίου με προσδιορισμό της απέκκρισης ασβεστίου στα ούρα και η μελέτη κατακράτησης σεσημασμένων διφωσφονικών με προσδιορισμό του σεσημασμένου ραδιοϊσοτόπου στα ούρα ή με σπινθηρογράφημα. Οι μέθοδοι αυτοί έχουν σημαντικούς περιορισμούς στην ευαισθησία και την ειδικότητά τους.

Ένας άλλος τρόπος είναι η ανίχνευση στα βιολογικά υγρά διαφόρων πεπτιδίων, αντιπροσωπευτικών της οστικής σύνθεσης και αποδόμησης. Τα ανιχνεύσιμα επίπεδα συγκεκριμένων ενζύμων που παράγονται από τα οστικά κύτταρα κατά την οστική αποδόμηση ή σύνθεση όπως και διαφόρων προϊόντων του μεταβολισμού του κολλαγόνου I, αντανakλούν το επίπεδο της συνολικής μεταβολικής δραστηριότητας των οστών. Έτσι έχουν αναπτυχθεί μέθοδοι προσδιορισμού βιοχημικών δεικτών που αντανakλούν τη σύνθεση ή την απορρόφηση, στον ορό και τα ούρα (πίν. 3.1).

Ωστόσο η ερμηνεία των αποτελεσμάτων είναι δύσκολη, γιατί ο προσδιορισμός των συγκεντρώσεων των πρωτεϊνών αυτών όπως καταλήγουν στο αίμα ή τα ούρα έχει εξ ορισμού χαμηλή ειδικότητα λόγω της αναπόφευκτης συμμετοχής άλλων ιστών.. Το ιδανικό θα ήταν να μπορούσαν να μετρηθούν στο εξωκυττάριο υγρό στη θέση παραγωγής ή έκλυσής τους. Όσο δύσκολο κι αν είναι αυτό in vivo, έχει καταστεί δυνατό για ορισμένα μόρια με τεχνικές όπως η μικροδιάλυση σε μαλακούς ιστούς [52] και επιτρέπει την ανίχνευση μικρών και γρήγορων μεταβολών που δεν αντανakλώνται στις τελικές συγκεντρώσεις στο αίμα ή τα ούρα [53]. Οι τελικές συγκεντρώσεις των βιοχημικών δεικτών οστικής εναλλαγής, αντανakλούν την κατάσταση του οστικού μεταβολισμού σε ένα στενό χρονικό πλαίσιο, και η ερμηνεία γεγονότων που εκτείνονται σε μεγαλύτερη χρονική περίοδο απαιτεί περισσότερες από μία μετρήσεις. Επηρεάζονται

από τον κικάρδιο ρυθμό, τη διαίτα, την άσκηση, όπως επίσης από την ηλικία και το φύλο. Οι βιοχημικοί δείκτες οστικής εναλλαγής έχουν διαφορετική βιολογική ποικιλότητα, ευαισθησία και ακρίβεια και συμπεριφέρονται διαφορετικά στις διάφορες κλινικές καταστάσεις. Μέχρι να αναπτυχθούν τεχνικές για τοπικές μετρήσεις τον οστίτη ιστό, ο προσδιορισμός των συγκεντρώσεων των βιοχημικών δεικτών οστικής εναλλαγής στον ορό ή τα ούρα, έχει εξαιρετική σημασία για την κατανόηση της οστικής βιολογίας σε επίπεδο ιστού. Παράλληλα, η ανάπτυξη νέων πιο ειδικών και αυτοματοποιημένων δοκιμασιών για τους προσδιορισμούς αυτούς, έκανε δυνατή τη χρήση ειδικών δεικτών για την παρακολούθηση και την πρόγνωση της ανταπόκρισης ασθενών στην αντιοστεοκλαστική αγωγή. Επίσης, καθώς σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, μεγαλύτεροι ρυθμοί οστικής απώλειας συσχετίζονται με υψηλότερα επίπεδα δεικτών μεταβολισμού, είναι πιθανό κάποιοι από αυτούς να έχουν προγνωστική αξία στον ρυθμό οστικής απώλειας.

Πίνακας 3.1. Βιοχημικοί Δείκτες Οστικής Εναλλαγής	
Σύνθεση	Αποδόμηση
Ορός	Ορός
Οστεοκαλσίνη (S-OC / BGP)	Τελοπεπτίδια(S-NTX-I και S-CTX-I)
Αλκαλική φωσφατάση (S-ALP)	ICTP
Ειδική Οστική αλκαλική φωσφατάση (S-B-ALP)	Ούρα
Αμινοτελικά προπεπτίδια κολλαγόνου I (S-PINP)	ασβέστιο ούρων
Καρβοξυτελικά προπεπτίδια κολλαγόνου I (S-PICP)	υδροξυπρολίνη
	υδροξυλυσινικά γλυκοσίδια
	πυριδινολίνη (U-PYD)
	Δεσοξυπυριδινολίνη (U-DPD)
	Αζωτοτελοπεππίδιο (U-NTX-I)
	Καρβοξυτελοπεππίδιο (U-CTX-I)

3.2. ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ

3.2.1. ΕΙΔΙΚΗ ΟΣΤΙΚΗ ΑΛΚΑΛΙΚΗ ΦΩΣΦΑΤΑΣΗ

Η οστική αλκαλική φωσφατάση (B-S-ALP) είναι μια γλυκοπρωτεΐνη που βρίσκεται στην επιφάνεια των κυττάρων της οστεοβλαστικής σειράς και τη θεμέλιο ουσία. Το ένζυμο βρίσκεται δεσμευμένο στην εξωτερική επιφάνεια της κυτταροπλασματικής μεμβράνης μέσω μιας φωσφατιδυλ-ινοσιτολ-γλυκανικής ομάδας η οποία πρέπει να διασπαστεί από τη φωσφολιπάση C, για να ελευθερωθεί η αλκαλική φωσφατάση στο εξωκυττάριο περιβάλλον [54]. Έχει τη μορφή συμμετρικού τετραμερούς με δύο ενεργείς θέσεις.

Η B-S-ALP συμμετέχει στην επιμετάλλωση του οστεοειδούς με τρόπο που δεν είναι πλήρως κατανοητός. Η κύρια δράση της είναι η υδρόλυση των φωσφορικών

εστέρων στην οστεοβλαστική επιφάνεια. Σε κυτταρικές καλλιέργειες η αύξηση της ενζυματικής δραστηριότητας της B-S-ALP συμπίπτει με την έναρξη της επιμετάλλωσης. Επίσης σε περιοχές όπου υπάρχει ανεπαρκής επιμετάλλωση, όπως π.χ. στην οστεομαλακία, παρατηρείται τοπική αύξηση της δραστηριότητας του ενζύμου [55]. Είναι πιθανό, μεταλλάξεις του υπεύθυνου γονιδίου για την έκφραση της αλκαλικής φωσφατάσης, να είναι υπεύθυνες για τη διαταραχή επιμετάλλωσης που παρατηρείται σε ορισμένες παθολογικές καταστάσεις όπως π.χ. μερικές μορφές υποφωσφαταιμίας [56]. Παρόλα αυτά η παρουσία ενεργού αλκαλικής φωσφατάσης δεν φαίνεται να είναι απαραίτητη για την έναρξη επιμετάλλωσης *in vitro* [57]. Καθώς η αλκαλική φωσφατάση έχει δράση τρανφεράσης φωσφόρου [58] και φωσφουδρολάσης, είναι πιθανόν ότι συμμετέχει στην επιμετάλλωση αυξάνοντας τοπικά στο οστεοβλαστικό περιβάλλον, τις συγκεντρώσεις φωσφόρου.

Το υπεύθυνο γονίδιο για την έκφραση της οστικής αλκαλικής φωσφατάσης βρίσκεται στο χρωμόσωμα 1p36.1-34 και είναι κοινό και για τρεις ιστικές μορφές (οστική, ηπατική, νεφρική), οι οποίες διαχωρίζονται με μετα-μεταγραφικές τροποποιήσεις. Έτσι η αλκαλική φωσφατάση του ορού προέρχεται από το ήπαρ, το έντερο, τους νεφρούς, τα οστά και τον πλακούντα κατά την εγκυμοσύνη. Για την απομόνωση του οστικού κλάσματος έχουν δοκιμασθεί διάφορες μέθοδοι όπως η χρήση ειδικών αναστολέων και ενεργοποιητών (φαινυλαανίνη, ουρία), ο διαχωρισμός με ηλεκτροφόρηση και με διάφορα αντισώματα. Η χρήση μονοκλωνικών αντισωμάτων [59] που αναγνωρίζουν το οστικό ισοένζυμο και έχει χαμηλή διασταυρούμενη αντίδραση με το ηπατικό ένζυμο (16% ή 3-8%) και αμελητέα δέσμευση από το εντερικό και πλακουντιακό κλάσμα, έχει καταστήσει την B-S-ALP, δείκτη με μεγάλη ευαισθησία σε λεπτές μεταβολές του οστικού μεταβολισμού όπως μετά την εμμηνόπαυση ή τη χορήγηση αντιοστεοκλαστικής αγωγής.

Τα επίπεδα B-S-ALP στον ορό αυξάνονται κατά τις περιόδους οστικού σχηματισμού και ανάπτυξης. Κατά την διάρκεια της ζωής, εμφανίζονται δύο φάσεις οξείας αύξησης των επιπέδων B-S-ALP, μια κατά τη βρεφική ηλικία και μια κατά την εφηβεία όταν η οστική ανάπτυξη επιταχύνεται με την επίδραση των φυλετικών στεροειδών. Η B-S-ALP αποτελεί τον πιο ευαίσθητο δείκτη της επίδρασης της εμμηνόπαυσης στην οστική σύνθεση. Αυξήσεις περίπου 104% [60] έως 150% [61] παρατηρούνται σε μετεμμηνόπαυσιακές γυναίκες >5 έτη από την τελευταία έμμηνο ρύση. Ο λόγος της μέσης αύξησης προς την ποικιλότητα διαδοχικών μετρήσεων στο ίδιο άτομο που αντανάκλα και την ευαισθησία της μεθόδου να ανιχνεύσει σημαντική μεταβολή είναι 6,8 [60]. Σε μελέτες που συγκρίνουν την αύξηση της B-S-ALP με τον ρυθμό οστικού σχηματισμού όπως μετράται ιστομορφομετρικά (BFR), φαίνεται ότι μετά την

εμμηνόπαυση η οστική αλκαλική φωσφατάση αυξάνεται κατά 66% περισσότερο απ'ότι ο BFR και είναι σχετικά πιο ευαίσθητη από την οστεοκαλσίνη [62]. Η οστική αλκαλική φωσφατάση εξαρτάται από την ηλικία, συσχέτιση που φαίνεται έντονα σε πληθυσμούς μεγάλης ηλικίας και σχετίζεται με το β-παθή υπερπαραθυρεοειδισμό και την οστική απώλεια λόγω ηλικίας [63]. Επειδή η αντιοστεοκλαστική αγωγή στοχεύει στην καταστολή της οστικής απορρόφησης, η κατάσπαση των επιπέδων B-S-ALP καθυστερεί αρκετές εβδομάδες σε σχέση με τους δείκτες οστικής απορρόφησης ως αποτέλεσμα της αντισταθμιστικής δράσης της σύζευξης μεταξύ των δύο φάσεων.

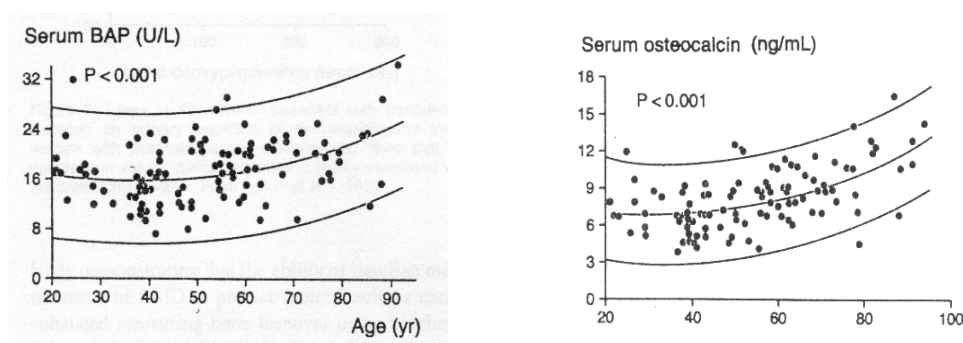
3.2.2. ΟΣΤΕΟΚΑΛΣΙΝΗ

Η Οστεοκαλσίνη (OC) είναι μικρή πρωτεΐνη (49 AA) που αποτελεί το 15% των μη κολλαγονικών πρωτεϊνών της οστικής θεμέλιας ουσίας. Χαρακτηρίζεται από την παρουσία 3 ομάδων γ-καρβοξυ-γλουταμικού οξέος (gla). Συντίθεται από τους οστεοβλάστες, οδοντοβλάστες και υπερτροφικά χονδροκύτταρα. Παρότι αγγελιοφόρο RNA που κωδικοποιεί την οστεοκαλσίνη έχει επίσης ανιχνευθεί στα μυελικά μεγακαρυοκύτταρα και τα περιφερικά αιμοπετάλια [64], επίπεδα της ίδιας της πρωτεΐνης ανιχνεύονται σε ίχνη και είναι απίθανο η πηγή αυτή να συμβάλει στην οστεοκαλσίνη ορού. Η οστεοκαλσίνη αποκωδικοποιείται από υπεύθυνο γονίδιο που βρίσκεται στο χρωμόσωμα 1 στον άνθρωπο [65]. Το μόριο της οστεοκαλσίνης αποτελείται από δύο έλικες, στη μία από τις οποίες βρίσκονται διατεταγμένες οι gla- ομάδες. Η διάταξη αυτή επιτρέπει τη σύνδεσή της στους κρυστάλλους υδροξυαπατίτη και είναι υπεύθυνη για τη βιολογική σημασία της OC. Προπεπτιδική μορφή OC βρίσκεται στα οστεοκύτταρα και τις αποφύσεις τους [66], και στον αναπτυσσόμενο σκελετό εντοπίζεται με ανοσοιστοχημικές μεθόδους στο όριο επιμετάλλωσης. Γι' αυτό, πιστεύεται ότι η δράση της, σχετίζεται με τα τελικά στάδια της διαδικασίας επιμετάλλωσης και συνίσταται μάλλον στη ρύθμιση του μήκους των κρυστάλλων υδροξυαπατίτη [67,68]. Επίσης υπάρχουν ενδείξεις ότι συμμετέχει σε κάποιο στάδιο της οστεοκλαστογένεσης [69]. Με αυτούς τους τρόπους φαίνεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση της οστικής απορρόφησης και σύνθεσης [70].

Στον ορό κυκλοφορεί το αμιγές μόριο οστεοκαλσίνης αλλά και διάφορα μικρά ή μεσαίου μεγέθους πεπτιδικά τμήματα, το πιο γνωστό από τα οποία είναι το mid-N-τελικό πεπτίδιο. Μετατροπή του αμιγούς μορίου σε mid-N-τελικό πεπτίδιο συμβαίνει επίσης in vitro, όταν ο ορός παραμένει σε θερμοκρασία δωματίου για λίγες ώρες. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την αστάθεια του δείγματος και την ποικιλία αξιοπιστίας των διαφόρων ραδιοανοσολογικών μεθόδων προσδιορισμού της οστεοκαλσίνης, ανάλογα με την ειδικότητα των μονοκλωνικών ή πολυκλωνικών αντισωμάτων προς τα διάφορα πεπτίδια

[71]. Η αιμόλυση του δείγματος ή η υπερλιπιδαιμία οδηγούν σε ψευδώς μειωμένες τιμές OC. Η S-OC ακολουθεί τον κικάρδιο ρυθμό που χαρακτηρίζεται από μείωση τις πρωινές ώρες έως το απόγευμα και αύξηση το βράδυ που φθάνει τα μέγιστα επίπεδα μετά τα μεσάνυχτα. Η ημερήσια διακύμανση είναι της τάξης του 10 -20%, ανάλογα με τη μέθοδο προσδιορισμού [72]. Ο χρόνος ημίσειας ζωής της στο πλάσμα είναι 20 λεπτά. Απομακρύνεται κυρίως μέσω των νεφρών με αποτέλεσμα τα επίπεδα στον ορό να επηρεάζονται από το ρυθμό σπειραματικής διήθησης (GFR).

Παρ' όλα αυτά, οι συγκεντρώσεις οστεοκαλσίνης στον ορό έχουν πολύ καλή συσχέτιση με τους δείκτες οστικής σύνθεσης όπως προσδιορίζονται ιστομορφομετρικά και με μελέτες κινητικής ασβεστίου σε διάφορες κλινικές καταστάσεις [73,74]. Τα μεγαλύτερα πλεονεκτήματα της S-OC είναι η ειδικότητά της για τον οστίτη ιστό και η σχετικά χαμηλή ποικιλότητα στο ίδιο άτομο η οποία είναι περίπου 12-22% ανάλογα με τη μέθοδο. Γενικά, τα επίπεδα S-OC είναι αυξημένα σε άτομα με υψηλή οστική εναλλαγή. Κατά την περίοδο της εφηβείας, τα επίπεδα OC ορού ακολουθούν τους ρυθμούς σκελετικής ανάπτυξης [75]. Κατά την εμμηνόπαυση εμφανίζουν αύξηση έως 50% σε σχέση με τα προεμμηνόπαισιακά επίπεδα [60,61]. Με την πάροδο της ηλικίας τα επίπεδα οστεοκαλσίνης ορού αυξάνονται έως 70% περίπου [63, 74,76] σε σχέση με νεαρές ενήλικες γυναίκες. Σύντομα μετά την έναρξη ορμονικής υποκατάστασης επανέρχονται σε προεμμηνόπαισιακά επίπεδα [77]. Επίσης γυναίκες με μετεμμηνόπαισιακή οστεοπόρωση έχουν 11% υψηλότερα επίπεδα οστεοκαλσίνης σε σύγκριση με υγιείς μετεμμηνόπαισιακές [78]. Έτσι, ο προσδιορισμός της οστεοκαλσίνης ορού είναι ένας ευαίσθητος δείκτης των μεταβολών του ρυθμού οστικής σύνθεσης που παρατηρούνται στην εμμηνόπαυση [79] και την οστεοπόρωση [80].



Σχήμα 3.1. Αυξήσεις στην οστική αλκαλική φωσφατάση και οστεοκαλσίνη με την πάροδο της ηλικίας σε 109 φυσιολογικές γυναίκες (ανατύπωση Duda et al [63])

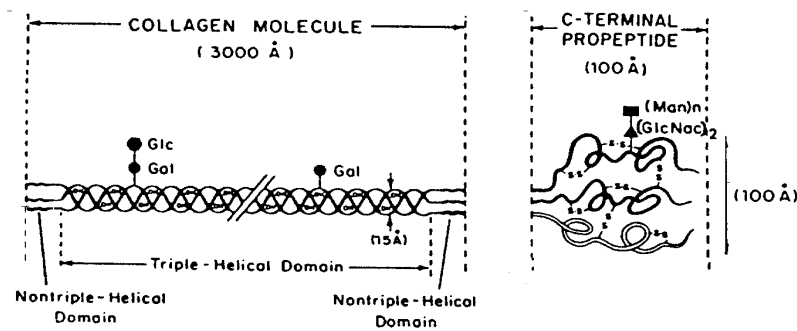
Η καρβοξυλίωση των γλουταμινικών ομάδων της οστεοκαλσίνης γίνεται παρουσία βιταμίνης K και αναστέλλεται από τα κουμαρινικά αντιπηκτικά. Τα επίπεδα της υποκαρβοξυλιωμένης οστεοκαλσίνης ορού (S-ucOC) είναι αυξημένα σε ηλικιωμένες

μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που ζουν σε ιδρύματα σε σχέση με υγιείς προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες [81]. Σε ένα υποπληθυσμό της μελέτης EPIDOS, η S-ucOC, όχι όμως και η S-OC, σχετίζονταν άμεσα με τον κίνδυνο κατάγματος ισχίου [82]. Επειδή η S-OC εμφανίζει αρνητική συσχέτιση με την οστική πυκνότητα [83], η προγνωστική δυνατότητα καταγμάτων ισχίου βελτιώνεται όταν λαμβάνονται υπόψιν και οι δύο μεταβλητές μαζί [82].

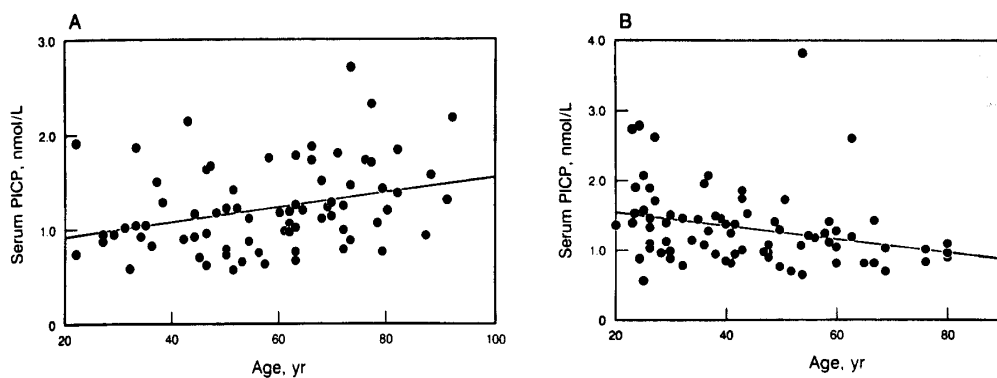
3.2.3. ΚΑΡΒΟΞΥΤΕΛΙΚΟ ΠΡΟΠΕΠΤΙΔΙΟ ΚΟΛΛΑΓΟΝΟΥ I

Το πεπτιδίο αυτό είναι προϊόν της τροποποίησης που υφίσταται το προγονικό μόριο του κολλαγόνου I αμέσως μετά τη μεταγραφή του στους οστεοβλάστες και ινοβλάστες και την προώθηση του στο εξωκυττάριο περιβάλλον για να αποκτήσει την τελική μορφή ινιδίου. Εξειδικευμένες πρωτεάσες απαλλάσσουν το μόριο του προκολλαγόνου I από μεγάλες αλληλουχίες που βρίσκονται στο καρβοξυ- και το αμινοτελικό άκρο του, διότι η παρουσία τους εκεί φαίνεται ότι εμποδίζει τη συσπείρωση των μορίων σε ινίδια. Το καρβοξυτελικό πεπτιδίο του προκολλαγόνου (PICP) το οποίο έχει τη μορφή τριμερούς με δύο πολυπεπτιδικές αλυσίδες που προέρχονται από τις α2 αλυσίδες και μιας που προέρχεται από την α1 αλυσίδα (σχ.3.2), κυκλοφορεί στον ορό και ακολουθεί μια άγνωστη προς το παρόν μεταβολική οδό με ενδιάμεσο σταθμό τα ενδοθηλιακά κύτταρα του ήπατος.

Τα κυκλοφορούντα επίπεδα (PICP) αντανakλούν το ρυθμό οστικής σύνθεσης εφόσον για κάθε μόριο κολλαγόνου I αντιστοιχεί ένα μόριο PICP και το κολλαγόνο I είναι το κύριο συστατικό της οστέινης θεμέλιας ουσίας (90%). Το PICP λόγω της προέλευσής του, αναμένεται να μην αντανakλά το ρυθμό επιμετάλλωσης παρά μόνον εμμέσως και σε καταστάσεις όπου δεν υπάρχει διαταραχή στην επιμετάλλωση. Εκτός από τα οστά, κολλαγόνο I υπάρχει άφθονο στο δέρμα, τους τένοντες, τους συνδέσμους και τον κερατοειδή. Η κλινική σημασία του S-PICP δεν έχει καθοριστεί πλήρως. Στα παιδιά οι συγκεντρώσεις PICP είναι αυξημένες και αντανakλούν την έντονη οστική συνθετική δραστηριότητα [85]. Ακολουθούν σιγμοειδή κατανομή κατά την παιδική και εφηβική ηλικία και είναι ανάλογα της ταχύτητας ανάπτυξης [86]. Κατά την ενήλικη ζωή μειώνονται αρχικά, και αργότερα στους μεν άνδρες παρουσιάζουν γραμμική μείωση ανάλογα με την ηλικία ($r=-0,32$), στις δε γυναίκες αντιθέτως παρουσιάζουν γραμμική αύξηση με την πάροδο της ηλικίας ($r=0,28$) [87] (σχ. 3.4). Η χρησιμότητα του S-PICP σε οστεοπορωτικούς ασθενείς είναι περιορισμένη, γιατί δεν έχει σημαντική συσχέτιση με δείκτες οστικής σύνθεσης που καθορίζονται ιστομορφομετρικά [88], και έχει χαμηλούς δείκτες συσχέτισης στις μελέτες κινητικής ασβεστίου ($r=0,49$) [89].



Σχήμα.3.2. Ένα κλασικό μόριο προκολλαγόνου I που αποτελείται από δύο α1 αλυσίδες και μία α2. Τα αμινο- και καρβοξυτελικά άκρα του έχουν αποκοπεί. Το καρβοξυτελικό άκρο (τριμερές) απεικονίζεται δεξιά (ανατύπωση από Prockop et al [84])



Σχήμα. 3.4. Επίδραση της ηλικίας στις συγκεντρώσεις PICP. A: φυσιολογικές γυναίκες, B: φυσιολογικοί άντρες (ανατύπωση από P.R. Ebeling et al [88]).

Επιπλέον τα επίπεδα S-PCIC, δεν ανταποκρίνονται σημαντικά σε διάφορες καταστάσεις που χαρακτηρίζονται από αυξημένο οστικό μεταβολισμό όπως α-παθής υπερπαραθυρεοειδισμός ή θυρεοτοξίκωση [87, 89], συμπεριλαμβανομένης της εμμηνόπαυσης. Η εμμηνόπαυση προκαλεί μικρές αυξήσεις στο PICP ορού που τα πρώτα τρία χρόνια περιορίζονται στο 20% και δεν είναι σημαντικές σε σύγκριση με τις φυσιολογικές προεμμηνόπαυσιακές τιμές [60, 61, 90]. Σε ορισμένες καταστάσεις που χαρακτηρίζονται από αυξημένη οστική σύνθεση όπως η μεγαλακρία [87] και η σπονδυλική οστεοπόκνωση [88], το S-PICP εμφανίζει μεγάλη ευαισθησία, σε σύγκριση με την οστεοκαλσίνη και την οστική αλκαλική φωσφατάση. Το S-PICP φαίνεται ότι είναι πιο ευαίσθητος δείκτης του ρυθμού της *σωματικής εναλλαγής* [86,91] και απαντά καλύτερα από τους υπόλοιπους δείκτες οστικής σύνθεσης στη χορήγηση σωματοτρόπων παραγόντων π.χ. IGF-I σε ενήλικες [91]. Στις μετεμμηνόπαυσιακές γυναίκες η λεπτίνη ορού, ένας δείκτης της σωματικής σύστασης που συμμετέχει στη ρύθμιση της έκλυσης αυξητικής ορμόνης, σχετίζεται άμεσα με τα επίπεδα PICP ορού, ενώ δεν έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζει τον ώριμο μετεμμηνόπαυσιακό οστικό μεταβολισμό [92].

Γενικά το PCIP ορού ανταποκρίνεται στις διάφορες κλινικές καταστάσεις με παρόμοιο τρόπο με την οστική αλκαλική φωσφατάση και την οστεοκαλσίνη. Έτσι μειώνεται κατά 15-35% σε ένα έτος με τη χορήγηση ορμονικής υποκατάστασης [90], και κατά περίπου 50% με τη χορήγηση αλενδρονάτης [60], ακολουθώντας την ελάττωση των υπόλοιπων δεικτών οστικής σύνθεσης [93]. Σε ορισμένες περιπτώσεις όπως η χορήγηση φθορίου τα επίπεδα PICP ελαττώνονται, παρουσιάζοντας αντίθετη συμπεριφορά με την αλκαλική φωσφατάση και την οστεοκαλσίνη [87].

3.3. ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ

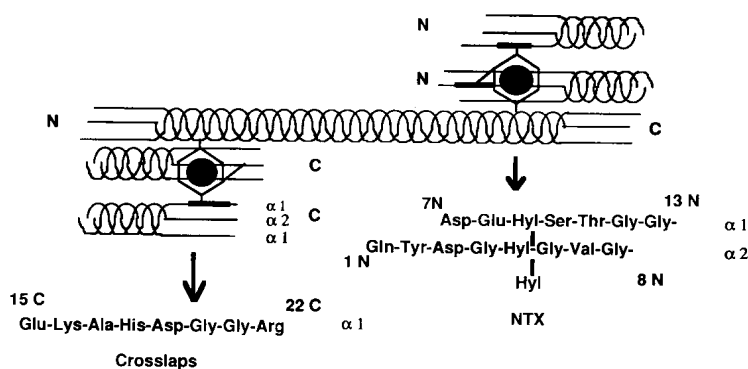
3.3.1. ΔΙΑΣΤΑΥΡΟΥΜΕΝΑ ΠΥΡΙΔΙΝΟΛΙΝΙΚΑ ΠΕΠΤΙΔΙΑ ΚΟΛΛΑΓΟΝΟΥ

Η σταθερότητα του μορίου του κολλαγόνου στο εξωκυττάριο περιβάλλον οφείλεται σε διασταυρούμενους δεσμούς μεταξύ των αλυσίδων. Οι δεσμοί αυτοί δημιουργούνται από μετα-μεταγραφικές τροποποιήσεις, κατά τις οποίες ένας πυριδινολινικός (PYD) ή δεσοξυπυριδινολινικός (DPD) δακτύλιος γεφυροποιεί τρεις θέσεις υδροξυλυσίνης (PYD) ή 2 υδροξυλυσίνης και 1 λυσίνης (DPD) που βρίσκονται στο ελικοειδές και στα τελικά τμήματα διαφορετικών μορίων κολλαγόνου. Η *πυριδινολίνη (PYD)* και *δεσοξυπυριδινολίνη (DPD)* βρίσκονται σε αναλογία 2 προς 3 στη θεμέλια ουσία του ανθρώπινου οστού. Κατά την οστική αποδόμηση από τους οστεοκλάστες απελευθερώνονται στην κυκλοφορία. Φαίνεται πως δεν ξαναχρησιμοποιούνται και δεν μεταβολίζονται in vivo. Απεκκρίνονται στα ούρα σε ελεύθερη μορφή (περίπου 40%) ή δεσμευμένα από διάφορες πρωτεΐνες (60%). Η απέκκριση τους στα ούρα ακολουθεί τον κικάρδιο ρυθμό και εμφανίζει αποκλίσεις της τάξης του 30% μεταξύ της πρωινής και απογευματινής συλλογής [94]. Εκτός από τα οστά, πυριδινολίνη βρίσκεται στον αρθρικό χόνδρο [94] ενώ στους τένοντες και την αορτή βρίσκεται τόσο πυριδινολίνη όσο και δεσοξυπυριδινολίνη [95].

Στα ούρα ανιχνεύονται με διάφορες μεθόδους όπως η high-performance liquid chromatography (HPLC) [96] ή με ανοσολογικές μεθόδους (ELISA, CLEIA) [97,98]. Με την HPLC προσδιορίζονται οι ελεύθερες και ολικές μορφές των πυριδινολινικών πεπτιδίων, ενώ οι ανοσολογικές μέθοδοι είναι ειδικές για τις ελεύθερες μορφές. Οι δύο μέθοδοι έχουν πολύ καλή συσχέτιση μεταξύ τους.

Το κλάσμα *ελεύθερων/συνδεδεμένα πεπτιδία* δεν είναι σταθερό. Σε κλινικές καταστάσεις που χαρακτηρίζονται από αυξημένη οστική εναλλαγή, για άγνωστους λόγους, παρατηρείται αύξηση του λόγου συνδεδεμένα/ολικά πεπτιδία και αντίστοιχη ελάττωση ελεύθερων/ολικά πεπτιδίων [99]. Η εμμηνόπαυση για παράδειγμα και η αύξηση της ηλικίας, προκαλούν ελάττωση του λόγου ελεύθερων/ολικά πυριδινολινικά πεπτιδία παρ' ότι οι απόλυτες τιμές ολικών πυριδινολινών αυξάνονται [100]. Κάποιες

μελέτες δείχνουν ότι η χορήγηση αμινοδιφωσφονικών επηρεάζει εκτός από το ρυθμό της οστικής απορρόφησης και τον τύπο των ελεύθερων διασταυρούμενων πεπτιδίων που εκκρίνονται στα ούρα. Σε μια μελέτη η χορήγηση νεριδρονάτης για 4 εβδομάδες είχε σαν αποτέλεσμα την άμεση αύξηση του ποσοστού των ελεύθερων DPD στο διάστημα αυτό [101]. Σε άλλη η ενδοφλέβια έγχυση αλενδρονάτης προκάλεσε μικρότερη μείωση των ελεύθερων διασταυρούμενων πεπτιδίων σε τρεις ημέρες σε σύγκριση με την αντίστοιχη μεταβολή στα ολικά πεπτιδία [102]. Δεδομένα από υγιή άτομα και ασθενείς με διάφορα μεταβολικά προβλήματα οστών δείχνουν ότι υπάρχει αρνητική συσχέτιση μεταξύ της αναλογίας των ελεύθερων DPD και των επιπέδων των ολικών πεπτιδίων. Είναι όμως απίθανο η σχέση αυτή να επηρεάζει σημαντικά τα αποτελέσματα της θεραπείας που παρατηρούνται [103].



Σχήμα 3.5. Διασταυρούμενα πεπτιδία κολλαγόνου τύπου I. Στο εξωκυττάριο περιβάλλον, τα ελικοειδή μόρια κολλαγόνου I (δύο α₁ αλυσίδες και μία α₂) συνδέονται με δεσμούς πυριδινολίνης ή δεσοξυπυριδινολίνης στις N-τελικές και C-τελικές περιοχές τους.

Οι συγκεντρώσεις PYD και DPD στα ούρα είναι αυξημένες στα παιδιά [98, 104]. Μετά την εμμηνόπαυση παρατηρούνται αυξήσεις περίπου 50-100%, ανάλογα με τη μέθοδο προσδιορισμού που ακολουθείται στις διάφορες μελέτες. Οι αυξημένες συγκεντρώσεις PYD και DPD επανέρχονται στα προεμμηνόπαυσιακά επίπεδα μετά από έξι μήνες χορήγησης ορμονικής υποκατάστασης [98, 105], διαφορετικά παραμένουν σταθερές για τουλάχιστον την 1η δεκαετία της μετεμμηνόπαυσιακής περιόδου [106].

Σύμφωνα με όσα αναφέρονται παραπάνω, η ευαισθησία στην εμμηνόπαυση είναι μεγαλύτερη για μεθόδους που προσδιορίζουν τις συνδεδεμένες πυριδινολίνες (HPLC) [107] και μεγαλύτερη για τη DPD σχετικά με την PYD [105]. Όμοια, για τη διάκριση των οστεοπορωτικών γυναικών από τις φυσιολογικές μετεμμηνόπαυσιακές, ο προσδιορισμός της ελεύθερης DPD αποδεικνύεται καλύτερη μέθοδος [100].

Ανοσολογικές μέθοδοι έχουν αναπτυχθεί με τις οποίες ανιχνεύονται πεπτιδία των αλυσίδων κολλαγόνου που συμμετέχουν στη δημιουργία των διασταυρούμενων

σταθεροποιητικών δεσμών του κολλαγόνου I. Το μονοκλωνικό αντίσωμα, mAb 1H11 [108], που χρησιμοποιείται στην δοκιμασία Osteomark® της Ostex, αναγνωρίζει την αλληλουχία (QYDGKGVG) του αμινοτελικού άκρου της α_2 αλυσίδας, της οποίας η Κ συμμετέχει στο δεσοξυπυριδινολινικό διασταυρούμενο δεσμό (NTx) (βλέπε σχήμα 3.5). Αμινοτελικά πεπτίδια που αναγνωρίζονται από το αντίσωμα αυτό, παράγονται in vitro σε καλλιέργειες οστεοκλαστών σε ανθρώπια οστικά τεμάχια [109], ή με μεθόδους επώασης οστεοειδούς με βακτηριδιακές κολλαγενάσες [108] και με ανάλογες μεθόδους επεξεργασίας μαλακών ιστών περιεκτικών σε κολλαγόνο I [110], όπως το δέρμα. Το αντιγόνο που παράγεται μπορεί να περιέχει ή όχι το δακτύλιο δεσοξυπυριδινολίνης και τμήμα της αλυσίδας α_1 , αλλά η παρουσία της συγκεκριμένης αλληλουχίας στην αλυσίδα α_2 είναι απαραίτητη.

Παρότι δεν είναι γνωστό αν στις συγκεντρώσεις NTx στα ούρα in vivo συμμετέχουν και μεταβολικά προϊόντα εξωσκελετικής προέλευσης, η δοκιμασία θεωρείται ειδική για την οστική αποδόμηση. Η απέκκριση NTx δεν επηρεάζεται από τον κικάρδιο ρυθμό [111]. Σε κλινικές καταστάσεις που χαρακτηρίζονται από αύξηση του ρυθμού οστικής εναλλαγής παρατηρούνται αυξήσεις των επιπέδων NTx στα ούρα. Έτσι, το NTx αποτελεί ευαίσθητο δείκτη της μετεμμηνοπαυσιακής αύξησης της οστικής απορρόφησης [108], και είναι ο πρώτος δείκτης που μεταβάλλεται από την περιεμμηνοπαυσιακή κιάλας περίοδο πριν ακόμη ελαττωθούν τα επίπεδα οιστραδιόλης, παρουσιάζοντας μέση αύξηση περίπου 20% και καλή συσχέτιση με τις μεταβολές των επιπέδων γοναδοτροπίνης [61]. Τα πρώτα 5 έτη μετά την εμμηνόπαυση φθάνει τα μέγιστα επίπεδα σε σύγκριση με την προεμμηνοπαυσιακή κατάσταση και ακολούθως ελαττώνεται σχετικά [112].

Επίσης οι συγκεντρώσεις NTx ούρων, σε αντίθεση με τις ελεύθερες πυριδινολίνες, απαντούν με εξαιρετικά μεγάλη ευαισθησία στην καταστολή της οστικής απορρόφησης με διφωσφονικά. Κατά τη χορήγηση αλενδρονάτης ελαττώνονται άμεσα [53] και δραματικά, κατά 80% περίπου σε σύγκριση με τις αρχικές τιμές και σε πολύ μεγαλύτερο βαθμό σε σχέση με τα DPD (30-40%) [60, 101, 102, 113,114]. Αυτά, σε συνδυασμό με δεδομένα που συγκρίνουν την επίδραση της χορήγησης θυροξίνης [113] και της νόσου Paget [100, 108, 115], στους δείκτες οστικής απορρόφησης, δείχνουν ότι το NTx είναι πιο ειδικός δείκτης από τα ελεύθερα pyrilinks για την εκτίμηση της οστικής απορρόφησης.

Λόγω της μεγάλης του ευαισθησίας το U-NTx-I, έχει χρησιμοποιηθεί σε μελέτες σε νέα άτομα με άσηπτη χαλάρωση ολικών αρθροπλαστικών ισχίου, σαν δείκτης της περιοχικής περιπροσθητικής οστεόλυσης, και βρέθηκε ότι οι ασθενείς με οστεόλυση είχαν σημαντικά υψηλότερες τιμές σε σχέση με τους μάρτυρες [116].

Η δοκιμασία CrossLaps™ της Osteometer χρησιμοποιεί ένα πολυκλωνικό αντιγόνο που έχει παρασκευαστεί ώστε να αναγνωρίζει ένα οκταπεπτιδίο (8AA) με την αλληλουχία αμινοξέων (1207 EKAHD-β-GGR 1214) που βρίσκεται στο καρβοξυτελικό άκρο της α_1 αλυσίδας κολλαγόνου I, και που συμμετέχει στον διασταυρούμενο δεσμό πυριδινολίνης με το αμινοξύ της θέσης 16C [114]. Στην αλληλουχία αυτή η ασπαρτάμη βρίσκεται σε μορφή β-ισομερούς. Έχει αναφερθεί ότι η Asp 1211 υφίσταται μετά-μεταγραφική μη ενζυμική ρακεμοποίησης και ισομερίωση. Έτσι εκτός της αρχικής αL μορφής, μπορούν να υπάρξουν τρία ακόμη ισομερή, αD, βL, βD. Όπως έχει φανεί ο βαθμός ισομερίωσης και ρακεμοποίησης της ασπαρτάμης σχετίζεται με την οστική ηλικία. Έτσι το αL ισομερές αντιπροσωπεύει νεοσχηματισμένο οστό, ενώ τα υπόλοιπα ισομερή αντιπροσωπεύουν μεγαλύτερης ηλικίας οστό. Η δοκιμασία CrossLaps στα ούρα προϋποθέτει ενός μόνον αντιτύπου αλυσίδας και άπα μετρά και τα α και τα β ισομερή. Έχει αναπτυχθεί και αντίστοιχη δοκιμασία ανίχνευσης CTx στον ορό η οποία απαιτεί την παρουσία δύο αντιτύπων β-ισομερών και μετρά μόνον τα β ισομερή. Τα επίπεδα CTx στον ορό και τα ούρα επηρεάζονται από τον κικάρδιο ρυθμό. Τα επίπεδα ούρων εμφανίζουν τις υψηλότερες τιμές τους 4-8 π.μ. και τις χαμηλότερες 3-6 μ.μ. το απόγευμα. Το CTx απομακρύνεται από τον ορό με νεφρική κάθαρση. Το CTx είναι ευαίσθητος και ειδικός δείκτης του ρυθμού οστικής απορρόφησης για τη διερεύνηση και παρακολούθηση της ανταπόκρισης στην αγωγή ασθενών με οστεοπόρωση και άλλες νόσους που χαρακτηρίζονται από υπερμεταβολική οστική δραστηριότητα (v.Paget, υπερθυρεοειδισμός, υπερπαραθυρεοειδισμός) [115]. Η εμμηνόπαυση προκαλεί σημαντικές αυξήσεις στην απέκκριση CTx στα ούρα, οι οποίες αναστρέφονται με την ορμονική υποκατάσταση [117]. Η συμπεριφορά των επιπέδων U-CTX-I είναι γενικά παρόμοια με των U-NTX-I κατά τη χορήγηση διφωσφονικών. Ένα σημαντικό πρόβλημα που εμφανίζουν οι δοκιμασίες για το U-CTX-I είναι ότι υπάρχει ακόμη δυσκολία στην παραγωγή των πρότυπων διαλυμάτων (standards), με αποτέλεσμα ασυμφωνία στις τιμές αναφοράς. Επιπλέον επηρεάζονται από την ηλικία. Γενικότερα, οι συγκεντρώσεις των δεικτών που προσδιορίζονται στα ούρα, διορθώνονται ως προς την κρεατινίνη για να ελεγχθούν οι αποκλίσεις στον όγκο ούρων και τη νεφρική λειτουργία, με αποτέλεσμα όμως να αυξάνεται η αναλυτική ποικιλότητα.

3.4.ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΩΝ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ ΟΣΤΙΚΗΣ ΕΝΑΛΛΑΓΗΣ

3.4.1.ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΙΣΟΖΥΓΙΟΥ ΟΣΤΙΚΗΣ ΕΝΑΛΛΑΓΗΣ

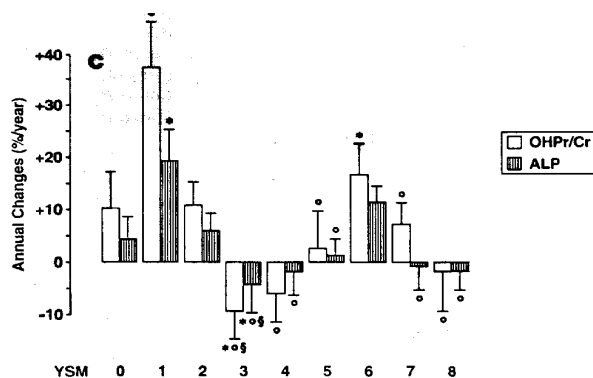
Ο προσδιορισμός των βιοχημικών δεικτών οστικής εναλλαγής στοχεύει στην εκτίμηση των διαταραχών της οστικής εναλλαγής και την υποκατάσταση της ιστομορφομετρικής ανάλυσης, η οποία είναι μια επεμβατική μέθοδος. Στα διάφορα στάδια της διαδικασίας της οστικής σύνθεσης και απορρόφησης, διαφορετικοί δείκτες παράγονται και εκλύονται στην κυκλοφορία. Ωστόσο, ο προσδιορισμός τους στον ορό ή τα ούρα δεν παρέχει πληροφορίες για ποιοτικές διαφορές κατά τη σύνθεση του κολλαγόνου, την επιμετάλλωση ή την απορρόφηση της θεμέλιας ουσίας. Αντανακλά συνολικές ποσοτικές διαταραχές της οστικής εναλλαγής και προς το παρόν μόνον σ' αυτόν τον τομέα μπορούν να υποκαταστήσουν την μελέτη οστικών βιοψιών.

Η σύγκριση των δεικτών απορρόφησης με τους δείκτες σύνθεσης μετά από μετατροπή των απολύτων τιμών σε σταθερές αποκλίσεις από τη μέση τιμή (*uncoupling index*), θα μπορούσε να εφαρμοσθεί ώστε να αξιολογηθεί το ισοζύγιο των δύο φάσεων της οστικής εναλλαγής. Η κλινική όμως χρησιμότητα αυτής της μεθόδου, είναι άγνωστη γιατί δεν υπάρχουν μελέτες που να δείχνουν ότι δίνει παρόμοια αποτελέσματα με την ιστομορφομετρία σε κλινικές καταστάσεις με φυσιολογική ή διαταραγμένη σύζευξη εναλλαγής. Η ιδέα ενός τέτοιου δείκτη αναδεικνύεται αρχικά σε εργασία των Uebelhart et al 1991, όπου αναφέρεται ότι η συνδυασμένη χρήση βιοχημικών δεικτών σύνθεσης και απορρόφησης βελτιώνει τον δείκτη συσχέτισης με το ρυθμό οστικής απώλειας [105]. Αργότερα, η μελέτη του δείκτη ισοζυγίου (*uncoupling index*) που προκύπτει από τη διαφορά της μέσης σταθερής απόκλισης DPD/PYD ούρων και OC ορού, δεν έδειξε να υπάρχει καμία σημαντική συσχέτιση με την οστική πυκνότητα οστεοπορωτικών ή φυσιολογικών μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών, παρότι φάνηκε ότι στις οστεοπορωτικές γυναίκες ίσως υπερτερεί η απορρόφηση της σύνθεσης [78]. Σε μεταγενέστερη μελέτη υπολογίζονται παρόμοιοι δείκτες οι οποίοι συσχετίζονται με την μελλοντική οστική απώλεια με δείκτες συσχέτισης από $r = -0,44$ έως $-0,23$ [118].

3.4.2. ΠΡΟΓΝΩΣΗ ΟΣΤΙΚΗΣ ΑΠΩΛΕΙΑΣ

Ο υψηλός ρυθμός οστικής εναλλαγής μετά την εμμηνόπαυση θεωρείται ότι συνοδεύεται από ταχύτερη οστική απώλεια και με αυτό το μηχανισμό οδηγεί σταθερά σε μικρότερη οστική πυκνότητα μερικά χρόνια αργότερα. Αυτό προκύπτει από μεγάλο αριθμό διασταυρούμενων μελετών στις οποίες η οστική πυκνότητα μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών που μετράται σε διάφορες ανατομικές περιοχές, βρίσκεται σε αρνητική παλίνδρομη γραμμική συσχέτιση με τους ρυθμούς οστικής εναλλαγής όπως προσδιορίζονται από μετρήσεις των επιπέδων βιοχημικών δεικτών οστικού μεταβολισμού στα ούρα ή τον ορό. Ειδικότερα η συσχέτιση αυτή μεταξύ οστικής πυκνότητας και δεικτών οστικής εναλλαγής, γίνεται ισχυρότερη καθώς

αυξάνεται η ηλικία των γυναικών, με αποτέλεσμα όταν έχουν παρέλθει περισσότερα από 30 έτη από την τελευταία έμμηνο ρύση, η οστική εναλλαγή να ευθύνεται για το 40-50% της ποικιλότητας της οστικής πυκνότητας του συνολικού σκελετού [119].



ΣΧΗΜΑ 3.6. Μέση ετήσια μεταβολή σε υδροξυπρολίνη/κρεατινίνη (OHPr/Cr) ούρων και αλκαλική φωσφατάση ορού (ALP). YSM: αριθμός ετών που έχουν παρέλθει από την τελευταία έμμηνο ρύση. YSM 0: προεμμηνόπαυσιακές γυναίκες (ανατύπωση από Mazzuoli et al [125])

Επειδή τα πρώτα χρόνια μετά την εμμηνόπαυση παρατηρείται ταχεία οστική απώλεια [120, 121, 122, 123], έχει διατυπωθεί η άποψη ότι ο ρυθμός οστικής εναλλαγής επιταχύνεται ιδιαίτερα κατά την πρώιμη μετεμμηνόπαυσιακή περίοδο και ακολούθως με την πάροδο της ηλικίας επιβραδύνεται. Η άποψη αυτή ελέγχεται από μελέτες που καταγράφουν μετρήσεις των δεικτών οστικής εναλλαγής ανάλογα με τον αριθμό των ετών που έχουν παρέλθει από την τελευταία έμμηνο ρύση. Κάποιες γραμμικές μελέτες [124] αναφέρουν ότι οι συγκεντρώσεις των δεικτών οστικής απορρόφησης ελαττώνονται καθώς αυξάνεται ο αριθμός των ετών που έχουν παρέλθει από την τελευταία έμμηνο ρύση. Αντιθέτως οι δείκτες οστικής σύνθεσης δεν παρουσιάζουν παρόμοια συμπεριφορά, ίσως επειδή επηρεάζονται προς την αντίθετη κατεύθυνση από τη χρονολογική ηλικία [63]. Μια εξαιρετικά ενδιαφέρουσα προοπτική μελέτη που μελετά την μεταβολή της αλκαλικής φωσφατάσης και της υδροξυπρολίνης γυναικών διαφορετικής μετεμμηνόπαυσιακής ηλικίας σε διάστημα ενός έτους, δείχνει ότι ο ρυθμός οστικής εναλλαγής αυξάνεται έντονα τα πρώτα δύο έτη μετά την εμμηνόπαυση αλλά κατά το τρίτο έτος ανακάμπτει και αποκαθίσταται μέχρι το 5^ο, οπότε αρχίζει μια νέα περίοδος αύξησης μέχρι το 8^ο έτος μετά την εμμηνόπαυση (βλ. σχ. 3.6). Γνωρίζοντας λοιπόν ότι οι δείκτες οστικής εναλλαγής μεταβάλλονται με την πάροδο του χρόνου μετά την εμμηνόπαυση, αναμένεται η μελλοντική συσχέτιση της οστικής απώλειας με μία αρχική μέτρηση δεικτών που γίνεται σε δεδομένη χρονική στιγμή να εξαρτάται από την ηλικία και την πρόοδο της εμμηνόπαυσης. Γραμμικές ή διασταυρούμενες μελέτες οι οποίες περιλαμβάνουν μετεμμηνόπαυσιακές γυναίκες διαφορετικών ηλικιών, έχουν την

τάση να βρίσκουν πιο συχνά σημαντική παλίνδρομη συσχέτιση των δεικτών οστικής εναλλαγής με την ετήσια οστική απώλεια ή την οστική πυκνότητα, λόγω της επίδρασης που έχει η ηλικία και στις τρεις αυτές μεταβλητές. Αυτός το περιορισμός εξαλείφεται με την επιλογή σχετικά αμιγούς ηλικιακά πληθυσμού όπως είναι οι γυναίκες άμεσης μετεμμηνοπαυσιακής ηλικίας.

Πίνακας 3.2. Προοπτικές μελέτες για προγνωστική δυνατότητα δεικτών οστικής εναλλαγής στην εκτίμηση της μελλοντικής οστικής απώλειας

μελέτη	διάρκεια (έτη)	N	θέση BMD	δείκτες	συντ.συσχ.
Siemenda 1987 [125] J Clin Invest	3	45	αντιβράχιο SPA	S-OC	-0,45
Uebelhart 1991 [105] J Clin Endocrinol Metab	2	60	αντιβράχιο SPA	S-OC, U-DPD,U-PYD	-0,56, 0,34, [-0,46]
Garnero 1999 [126] J Bone Miner Res	4	305	αντιβράχιο DEXA	S-OC,S-PICP, U-NTX, U-CTX	[-0,12, -0,3] [-0,23, 0,53]
Fledelius 1994 [107]	2	28	αντιβράχιο SPA	U-DPD,U-PYD	[-0,35, -0,54]
Gertz 1994 [111] J Bone Miner Res	<1	62	ΟΜΣΣ DEXA	U-NTX	όχι σημ.συσχ.
Keen 1996 [130] Osteoporosis Int	4	120	ΟΜΣΣ DPA	S-OC, S-BALP U-DPD,U-PYD	όχι σημ.συσχ.
Cosman 2000 [129] J Bone Miner Res	3		ΟΜΣΣ, αυχ.μηρ DEXA	S-OC, S-BALP, S-PICP U-DPD,U-PYD	[συσχ. ΟΜΣΣ] " [συσχ.αυχ.μηρ]
Chaki 2000 [128] J Bone Miner Res	5	325	ΟΜΣΣ DEXA	U-NTX	-0,2
Rogers 2000 [118] J Bone Miner Res	4	60	ΟΜΣΣ DEXA	S-OC, S-BALP, S-PINP U-NTX	[-0,35, -0,52]

Έτσι οι πιο αξιόπιστες πληροφορίες σχετικά με την προγνωστική δυνατότητα των βιοχημικών δεικτών οστικής εναλλαγής να εκτιμήσουν τον κίνδυνο οστεοπόρωσης που θα διατρέξουν στο μέλλον μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, προκύπτουν από προοπτικές μελέτες με ομοιογενή ηλικιακά πληθυσμό, όπως οι άμεσα μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Τα αποτελέσματα των κυριότερων μελετών συγκεντρώνονται στον πίνακα 3.2. Φαίνονται ενθαρρυντικά όταν η μέτρηση οστικής απώλειας γίνεται στο περιφερικό άκρο της κερκίδας. Ειδικότερα η οστεοκαλσίνη [105,118,125,126], το PINP και CTx ορού [118] και ορισμένοι δείκτες οστικής απορρόφησης όπως οι πυριδινολίνες ούρων [105,107,127], το αζωτοτελοπεπτιδίο και καρβοξυτελοπεπτιδίο ούρων [118,126,128] έχουν αναφερθεί ως σημαντικοί προγνωστικοί δείκτες του ρυθμού κερκιδικής οστικής απώλειας, με συντελεστές συσχέτισης από -0,12 έως -0,56. Απεναντίας στις μελέτες που ο προσδιορισμός της οστικής πυκνότητας γίνεται στο ισχίο ή τη σπονδυλική στήλη, αναφέρονται αντικρουόμενα αποτελέσματα. Μερικοί συγγραφείς εστιάζουν σε

συγκεκριμένους δείκτες μεγάλης ευαισθησίας όπως το NTx [128], κάποιοι διαπιστώνουν ότι οι δείκτες οστικής σύνθεσης συσχετίζονται εκλεκτικά με την οστική απώλεια στη σπονδυλική στήλη και οι δείκτες οστικής απορρόφησης με το ισχίο [129], ενώ άλλοι δεν επιβεβαιώνουν παρόμοιες συσχετίσεις [111]. Ορισμένοι συγγραφείς μάλιστα, οδηγούνται στην ευθεία αμφισβήτηση της προγνωστικής αξίας μιας αρχικής μέτρησης δεικτών οστικής εναλλαγής στην εκτίμηση της οστικής απώλειας [130]. Οι κερκιδικές μετρήσεις οστικής απώλειας ευνοούν την εξαγωγή ενθαρρυντικών αποτελεσμάτων ίσως γιατί στις άμεσα μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, το περιφερικό άκρο της κερκίδας εμφανίζει την υψηλότερη αναλογία οστικής απώλειας προς ακρίβεια μέτρησης.

Σε όλες τις παραπάνω μελέτες, ο χρόνος παρακολούθησης των ατόμων είναι 2-4 έτη. Η συνολική οστική απώλεια σε ένα τέτοιο διάστημα είναι περίπου 3-4%, όσο δηλ. και το σφάλμα ακρίβειας επαναλαμβανόμενων μετρήσεων οστικής πυκνότητας σε μεμονωμένα άτομα και αυτό εξηγεί ίσως τα αντικρουόμενα ευρήματα. Για παράδειγμα, όταν το σφάλμα ακρίβειας των μετρήσεων οστικής πυκνότητας μειώνεται, όπως σε μια μελέτη όπου έγιναν 9 διαδοχικές μετρήσεις κατά τη διάρκεια ενός έτους, ο συντελεστής συσχέτισης της οστικής απώλειας με τις αρχικές τιμές δεικτών οστικής εναλλαγής βελτιώνεται από -0,3 σε -0,8 [77]. Εξετάζοντας το θέμα της ακρίβειας των μετρήσεων και από την πλευρά των βιοχημικών δεικτών οστικής εναλλαγής, φαίνεται πως μια μόνον μέτρηση κάποιου δείκτη δεν έχει καμία χρησιμότητα στην πρόβλεψη του ρυθμού οστικής απώλειας μεμονωμένων ατόμων. Λόγω της βιολογικής ποικιλότητας, ο αριθμός των απαιτούμενων δειγμάτων για τον προσδιορισμό της πραγματικής μέσης τιμής +/- 5% για ένα μεμονωμένο άτομο είναι π.χ. 6 για την οστεοκαλσίνη και 23 για την δεσοξυπυριδινολίνη ούρων [131]. Η επίδραση του κικάρδιου ρυθμού στον οστικό μεταβολισμό είναι ο κύριος παράγοντας που επηρεάζει τη βιολογική ποικιλότητα των μετρήσεων δεικτών οστικής εναλλαγής (εκτός του U-NTX-I) και δεν είναι πάντα καλά ελεγχόμενος για πρακτικούς λόγους. Βεβαίως όπως δείχνουν διάφορες μελέτες [132,133], η ίδια η ποικιλότητα των διαφόρων δεικτών οστικής εναλλαγής δεν μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια της ημέρας, αλλά διαφορές στην ώρα συλλογής των δειγμάτων ευθύνονται για μέρος των ασυμβατοτήτων που αναφέρονται μεταξύ των διαφόρων μελετών. Σαν αποτέλεσμα όλων αυτών, παρότι σε ομάδες πολλών ατόμων οι δείκτες έχουν σημαντική γραμμική συσχέτιση με τους ρυθμούς οστικής απώλειας, η χρήση τους για πρόβλεψη σε μεμονωμένα άτομα δεν μπορεί να δικαιολογηθεί επαρκώς.

3.4.3. ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΕΝΑΛΛΑΓΗΣ ΚΑΙ ΚΙΝΔΥΝΟΣ ΚΑΤΑΓΜΑΤΟΣ

Ο υψηλός ρυθμός οστικής εναλλαγής φαίνεται ότι προδιαθέτει στην εμφάνιση οστεοπορωτικών καταγμάτων. Αυτό μπορεί να συμβαίνει εμμέσως καθώς ο υψηλός ρυθμός οστικής εναλλαγής οδηγεί σε αυξημένη οστική απώλεια και ελάττωση της οστικής πυκνότητας, αλλά και απευθείας με άγνωστους μηχανισμούς όπως π.χ. η ελάττωση του πάχους των οστικών δοκίδων και η αύξηση της *συχνότητας διάτρησης δοκίδων (perforation)*. Δύο προοπτικές πολυκεντρικές μελέτες, η EPIDOS και η Rotterdam, συσχετίζουν τιμές διαφόρων βιοχημικών δεικτών οστικής εναλλαγής μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών με την συχνότητα εμφάνισης οστεοπορωτικών καταγμάτων και υποστηρίζουν ότι αυξημένος ρυθμός οστικής εναλλαγής, συνδέεται με αύξηση του κινδύνου κατάγματος. Για κάθε αύξηση U-DPD κατά 1 SD, ο κίνδυνος κατάγματος ισχίου τετραπλασιάζεται, ακόμη και μετά από διόρθωση για την ηλικία και την BMD [134]. Η EPIDOS συμπεραίνει ότι οι αυξημένες κατά 25% αρχικές τιμές της ελεύθερης δεσοξυπυριδινολίνης και του καρβοξυτελικού πεπτιδίου του κολλαγόνου I στα ούρα σε σχέση με τα φυσιολογικά προεμμηνοπαυσιακά επίπεδα, σχετίζονται με αύξηση του κινδύνου εμφάνισης ενός κατάγματος ισχίου στο διπλάσιο [8]. Η προγνωστική αξία των δεικτών αυτών φαίνεται ότι είναι ανεξάρτητη από την οστική μάζα. Οι Garnero et al [119] βρήκαν ότι ο συνδυασμός υψηλού U-CTX και χαμηλής BMD αυξάνει τον κίνδυνο κατάγματος ισχίου κατά 4,8% (odds ratio). Έτσι προτείνουν την συμπληρωματική χρήση των συγκεκριμένων αυτών δεικτών οστικής απορρόφησης στη μέτρηση της οστικής πυκνότητας, με σκοπό την μείωση του αριθμού των ατόμων που πρέπει να πάρουν αγωγή για να αποφευχθεί ένα κάταγμα ανά έτος κάτω από προκαθορισμένο κατώφλι οστικής πυκνότητας [135]. Επίσης συμπεραίνουν ότι αν η μέτρηση οστικής πυκνότητας είναι ανέφικτη, ο συνδυασμός προηγούμενου κατάγματος και μέτρησης U-CTX, μπορεί να χρησιμοποιηθεί διότι προβλέπει τον κίνδυνο κατάγματος ισχίου το ίδιο καλά με τη μέτρηση BMD στο ισχίο [135].

Οι δείκτες οστικής σύνθεσης δε φαίνεται να σχετίζονται με τη συχνότητα καταγμάτων εκτός από την S-BALP [134, 8]. Μια ακόμη προοπτική μελέτη η οποία ελέγχει και τα σπονδυλικά κατάγματα (Ross et al [136]) αναφέρει ότι η υψηλή S-BALP σχετίζεται με μελλοντικά σπονδυλικά ή άλλα κατάγματα με odds ratio 1,5-1,88 για κάθε μια μεταβολή της SD, ανεξάρτητα από την BMD. Έτσι η οστεοκαλσίνη δεν φαίνεται να έχει δυνατότητα πρόγνωσης καταγμάτων. Απεναντίας η *υποκαρβοξυλιωμένη οστεοκαλσίνη* σχετίζεται σαφώς με την επίπτωση καταγμάτων ισχίου [82,83] πιθανόν μέσω ανεπάρκειας βιταμίνης K.

Οι περισσότερες αναδρομικές μελέτες οι οποίες συγκρίνουν τα επίπεδα οστικής εναλλαγής ασθενών που προσέρχονται με κατάγματα ισχίου με αυτά υγιών μαρτύρων, αναφέρουν ότι η οστική σύνθεση, όπως αντανάκλαται στα επίπεδα οστεοκαλσίνης

ορού, είναι ελαττωμένη [137,138, 139] σε ασθενείς μεγάλης ηλικίας με κατάγματα ισχίου, σε αντίθεση με την απορρόφηση. Βέβαια, έχουν αναφερθεί και αντίθετες παρατηρήσεις κατά τις οποίες τα επίπεδα S-OC είναι αυξημένα [140]. Στην πραγματικότητα, στις αναδρομικές μελέτες υπάρχει ο περιορισμός ότι οι διαφορές στους δείκτες οστικής σύνθεσης μπορεί να αντανακλούν την προϋπάρχουσα του κατάγματος κατάσταση του οστικού μεταβολισμού ή μπορεί να προκύπτουν από το τραύμα και τις επιπτώσεις του στο μεταβολισμό του κολλαγόνου και των οστών. Πάντως, δεν υπάρχουν δεδομένα από προοπτικές μελέτες που να ενισχύουν την άποψη ότι ελαττωμένη οστική σύνθεση σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο κατάγματος ισχίου.

Μετά από ένα *κάταγμα ισχίου*, οι βιοχημικοί δείκτες οστικής απορρόφησης αλλά και οστικής σύνθεσης αυξάνονται σημαντικά κατά τη διάρκεια του πρώτου έτους, δείχνοντας επιτάχυνση του ρυθμού οστικής εναλλαγής [141]. Ο υψηλός ρυθμός οστικής εναλλαγής μπορεί να σχετίζεται με την μετατραυματική οστεοπενία, την επούλωση του κατάγματος ή την αύξηση της κινητοποίησης για το σκοπό της αποκατάστασης. Δεδομένου ότι το 75% περίπου των ασθενών με κάταγμα ισχίου εμφανίζουν δεύτερο κάταγμα στο ετερόπλευρο ισχίο [142], θα μπορούσε η αύξηση αυτή της οστικής εναλλαγής να σχετίζεται με την αύξηση του κινδύνου για το δεύτερο κάταγμα.

Παλαιότερα δεδομένα από δυναμικές ιστομορφομετρικές μελέτες, δείχνουν με σαφήνεια ότι στον φλοιό οστικών τεμαχίων από βιοψίες πλευρών ασθενών με οστεοπορωτικά κατάγματα, οι ρυθμοί *οστικής εναπόθεσης (appositional)* και σύνθεσης είναι χαμηλοί και οι περίοδοι εναλλαγής παρατεταμένοι [143]. Από τα ευρήματα αυτά συνάγεται το συμπέρασμα ότι επιβραδυμένοι ρυθμοί οστικής εναλλαγής σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο οστεοπορωτικών καταγμάτων, ίσως μέσω ανεπαρκούς επιδιόρθωσης των μικροκαταγμάτων. Παρότι οι ιστομορφομετρικές μελέτες αδυνατούν να εντοπίσουν σημαντικές διαφορές στο ρυθμό οστικής εναλλαγής μεταξύ ατόμων με οστεοπορωτικά κατάγματα και μάρτυρες ίδιας ηλικίας, οι παρατηρήσεις τους συμφωνούν με τις αναδρομικές μελέτες που διαπιστώνουν μειωμένη οστική σύνθεση σε ασθενείς με κατάγματα ισχίου.

Ωστόσο, οι ασυμβατότητες των ιστομορφομετρικών ευρημάτων με τις μεγάλες προοπτικές μελέτες στις οποίες παρατηρούνται αυξημένες συγκεντρώσεις βιοχημικών δεικτών σε ασθενείς με κατάγματα, μπορούν να ερμηνευθούν. Οι ιστομορφομετρικές παρατηρήσεις αφορούν σε ένα μικρό οστικό τεμάχιο, ενώ οι δείκτες οστικής εναλλαγής αντανακλούν τις συνολικές μεταβολές στο ρυθμό οστικού μεταβολισμού, ή ακόμη και στον εξωσκελετικό μεταβολισμό του κολλαγόνου. Έτσι, αυξημένες συγκεντρώσεις βιοχημικών δεικτών που καθορίζονται κυρίως από την αναλογικά μεγάλη συμβολή του σπογγώδους περιεχομένου της σπονδυλικής στήλης, είναι δυνατό να συνδυάζονται με

επιβράδυνση της οστικής εναλλαγής σε κριτικές ανατομικές θέσεις. Αναφέρεται για παράδειγμα, σε μια μελέτη που συνέκρινε βιοψίες από το λαγόνιο και το άνω άκρο μηριαίου των ιδίων ασθενών με κατάγματα ισχίου, ότι τα δείγματα από το μηριαίο περιείχαν εξαιρετικά χαμηλό αριθμό οστικών κυττάρων σε σύγκριση με τα δείγματα λαγονίου [144].

3.4.4.ΕΠΙΛΟΓΗ ΑΣΘΕΝΩΝ ΓΙΑ ΑΝΤΙΟΣΤΕΟΚΛΑΣΤΙΚΗ ΑΓΩΓΗ

Από τα δεδομένα των μεγάλων πολυκεντρικών μελετών ξέρουμε πώς σχετίζονται οι διάφοροι δείκτες οστικής απορρόφησης με την επίπτωση καταγμάτων. Θα μπορούσαμε λοιπόν να υπολογίσουμε τον κίνδυνο που διατρέχει ένα άτομο με αυξημένους δείκτες σε σχέση τον γενικό πληθυσμό, από τον τύπο $RR/CP \times RR + (1-p)$, RR είναι ο σχετικός κίνδυνος κατάγματος για τον δείκτη, και p ο επιπολασμός του δείκτη. Για παράδειγμα το U-CTX αυξάνει τον υπάρχοντα κίνδυνο κατάγματος ισχίου κατά 1,9%. Μεταξύ των ηλικιωμένων γυναικών το 23% έχει U-CTX υψηλότερες από τα προεμμηνοπαυσιακά επίπεδα. Ο λόγος 1,9 εκφράζει τον κίνδυνο των γυναικών με αυξημένο U-CTX σε σύγκριση με αυτών με φυσιολογικό U-CTX. Ο κίνδυνος κατάγματος ισχίου του γενικού πληθυσμού προκύπτει από τις καμπύλες συχνότητας καταγμάτων για συγκεκριμένη ηλικία και οστική πυκνότητα. Έτσι οι δείκτες οστικής εναλλαγής μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως κριτήριο για το αν κάποια γυναίκα πρέπει να πάρει αντιοστεοκλαστική αγωγή ή όχι [145].

3.4.5. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΟΥ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΟΣ

Η χορήγηση αντιοστεοκλαστικής αγωγής έχει σαν αποτέλεσμα την καταστολή της οστικής απορρόφησης που αντισταθμιστικά ακολουθείται από ελάττωση της οστικής σύνθεσης. Αυτό το δραστικό αποτέλεσμα εκδηλώνεται με αντίστοιχες μεταβολές των βιοχημικών δεικτών οστικής εναλλαγής. Σύντομα μετά την έναρξη ορμονικής υποκατάστασης παρατηρείται αρχική ελάττωση 60-30% των επιπέδων των δεικτών οστικής απορρόφησης που ακολουθείται από μικρότερες κατασπάσεις των επιπέδων δεικτών οστικής σύνθεσης [77,105,146,147,148]. Κατά τη διάρκεια της υποκατάστασης το μέσο επίπεδο των δεικτών εναλλαγής κυμαίνεται στις προεμμηνοπαυσιακές τιμές, και με την διακοπή της αγωγής οι δείκτες γρήγορα επανέρχονται στις αρχικές τιμές. Όμοια πορεία ακολουθούν οι δείκτες οστικής εναλλαγής και με τη χορήγηση διφωσφονικών. Έναν μήνα μετά την έναρξη αντιοστεοκλαστικής αγωγής με αλενδρονάτη [60,148,149,150,151], μειώνονται οι δείκτες απορρόφησης και μετά τον 3^ο μήνα σταθεροποιούνται σε χαμηλά επίπεδα. Η μείωση είναι μεγαλύτερη για τα U-NTX και U-CTX (60-70%), δραστική για το U-DPD (50%) και μικρή ή μη σημαντική για το U-PYD. Η

μέγιστη μείωση των δεικτών οστικής σύνθεσης επιτυγχάνεται καθυστερημένα σε σχέση με τους δείκτες απορρόφησης και είναι 50% για την S-OC, B-ALP και PINP, και 30-40% για το S-PICP.

Γυναίκες με υψηλό ρυθμό οστικής εναλλαγής ανταποκρίνονται καλύτερα στην αντιοστεοκλαστική αγωγή. Οι Civitelli & συν. (1988) αφού αξιολόγησαν τον ρυθμό οστικής εναλλαγής μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών με σπινθηρογράφημα, χορήγησαν καλσιτονίνη και βρήκαν ότι οι γυναίκες που είχαν υψηλούς ρυθμούς οστικής εναλλαγής, είχαν 22% αύξηση της οστικής πυκνότητας, ενώ αυτές με χαμηλούς ή φυσιολογικούς ρυθμούς δεν είχαν μεταβολή [152]. Παρομοίως μελέτες που αξιολογούν το ρυθμό οστικής εναλλαγής με βιοχημικούς δείκτες, δείχνουν ότι η ελάττωση των επιπέδων των δεικτών μετά από HRT είναι ανάλογη με τα προ της αγωγής επίπεδα [153]. Οι Riis et al βρήκαν ότι η ελάττωση των βιοχημικών δεικτών σε 2 έτη συσχετίζεται με υψηλούς δείκτες συσχέτισης με την αντίστοιχη μεταβολή της οστικής πυκνότητας και συμπέραναν ότι οι δείκτες ίσως είναι χρήσιμοι για την παρακολούθηση του θεραπευτικού αποτελέσματος της ορμονικής υποκατάστασης [93].

Σημαντική σχέση μεταξύ των αρχικών επιπέδων οστικής εναλλαγής, όπως εκτιμήθηκε με 24ωρη κατακράτηση ραδιοσημασμένων διφωσφονικών ή με βιοχημικούς δείκτες, και της αύξησης της BMD έχει επίσης βρεθεί με τη χορήγηση αλενδρονάτης [148,150,155,156,157]. Ειδικότερα, ο βαθμός ελάττωσης των επιπέδων των δεικτών οστικής εναλλαγής σε 6 εβδομάδες έως 3 μήνες από την έναρξη της αγωγής με αλενδρονάτη, συσχετίζεται ισχυρά με την μελλοντική μεταβολή της οστικής πυκνότητας σε 9 έως 24 μήνες [60, 148,149,150]. Σε 75 γυναίκες με οστεοπόρωση που έλαβαν 10mg/ημέρα ή 5 mg/ημέρα αλενδρονάτης ή placebo, η αύξηση της $BMD_{OMΣΣ}$ μετά από 2 έτη συσχετιζόταν με το βαθμό μείωσης του U-NTX και U-DPD τους πρώτους 3 μήνες, με δείκτη συσχέτισης r 0,53 και 0,48 αντίστοιχα ($P < 0,0001$). Οι αντίστοιχοι δείκτες r για την S-OC, S-BALP και το S-PICP, ήταν περίπου 0,65 [60]. Έτσι, διαδοχικές μετρήσεις βιοχημικών δεικτών οστικής εναλλαγής και ο υπολογισμός του ποσοστού ελάττωσης επί των αρχικών τιμών, μπορούν να χρησιμεύσουν ως δείκτης ανταπόκρισης στην αντιοστεοκλαστική αγωγή. Αυτό είναι εφικτό γιατί από τη μια συγκρίνοντας τιμές του ίδιου ατόμου περιορίζεται η βιολογική ποικιλότητα, και από την άλλη η πτώση των επιπέδων των διαφόρων δεικτών με την χορήγηση αγωγής είναι αρκετά μεγάλη ώστε να ξεπερνά την κριτική διαφορά, δηλ. το βαθμό στον οποίο δύο μετρήσεις πρέπει να διαφέρουν μεταξύ τους για να είναι η διαφορά σημαντική [132].

Οι διάφοροι δείκτες εμφανίζουν εκλεκτική ευαισθησία σε συγκεκριμένου είδους αντιοστεοκλαστική αγωγή. Έτσι με τη χορήγηση αλενδρονάτης [60], τα συνδεδεμένα διασταυρούμενα πυριδινολινικά πεπτιδία ούρων ελαττώνονται κατά 30-65%, ενώ τα

ελεύθερα δεν μεταβάλλονται σημαντικά. Αντιθέτως με τη χορήγηση οιστρογόνων ελαττώνονται εξ' ίσου με τα συνδεδεμένα και τα ελεύθερα [105,107]. Τη μεγαλύτερη μέση ελάττωση κατά τη χορήγηση ορμονικής υποκατάστασης παρουσιάζει το CTx ούρων (67%). Όμως ο προσδιορισμός της οστεοκαλσίνης και του PINP ορού, και της DPD ούρων έχουν τη μεγαλύτερη ικανότητα να διακρίνουν απάντηση στη θεραπεία σε 24 εβδομάδες [147].

Ο προσδιορισμός του U-NTX έχει προταθεί ως η πιο ευαίσθητη μέθοδος για την παρακολούθηση του θεραπευτικού αποτελέσματος της αλενδρονάτης, γιατί παρουσιάζει μεγάλη μέση ελάττωση των επιπέδων του [111]. Σε 387 γυναίκες που έλαβαν 5 mg/ημέρα alendronate, το κατώφλι -40% ποσοστιαίας μεταβολής U-NTX σε 6 μήνες σε σύγκριση με την αρχική τιμή, βρέθηκε να παρέχει τον καλύτερο συμβιβασμό μεταξύ ευαισθησίας (86%) και ειδικότητας (48%), για την πρόβλεψη της μεταβολής της BMD_{OMSS} μετά από 2 χρόνια [157]. Το αντίστοιχο κατώφλι -20% για την S-OC είχε 79% ευαισθησία και 53% ειδικότητα. Οι δείκτες οστικής εναλλαγής λοιπόν μπορούν να χρησιμεύσουν ως δείκτες ανταπόκρισης στην αντιοστεοκλαστική αγωγή ανάλογα με τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά τους.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΟΣΤΙΚΗ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑ

4.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ποσοτική εκτίμηση της οστικής μάζας *in vivo*, αναπτύχθηκε αρχικά με την ελπίδα να οριοθετήσει το παθολογικό από το φυσιολογικό και να καταστήσει δυνατή τη διάγνωση της οστεοπόρωσης. Στην πράξη, η δυνατότητα μέτρησης της οστικής μάζας επέτρεψε την επιδημιολογική μελέτη της οστεοπόρωσης και των οστεοπορωτικών καταγμάτων και την πειραματική διερεύνηση της σχέσης της οστικής μάζας με την οστική αντοχή. Έτσι μια μέτρηση οστικής πυκνότητας *in vivo*, σε οποιαδήποτε ανατομική θέση, δίνει πληροφορίες σχετικά με την ευθραυστότητα των οστών και τον *κίνδυνο κατάγματος* που διατρέχει το άτομο. Με αυτόν τον τρόπο συμβάλλει στην πρόληψη των οστεοπορωτικών καταγμάτων, παρότι δεν παρέχει τη δυνατότητα εντοπισμού των ατόμων που όντως θα υποστούν κάταγμα.

Επαναλαμβανόμενες μετρήσεις οστικής μάζας επιτρέπουν τον προσδιορισμό της *οστικής απώλειας* η οποία είναι σημαντικός παράγοντας για τη μελέτη της επίδρασης διαφόρων μεταβολικών παθήσεων στον σκελετό. Η μεταβολή της οστικής πυκνότητας αποτελεί δείκτη ανταπόκρισης σε θεραπείες που επηρεάζουν τον οστικό μεταβολισμό, όπως η αντιοστεοκλαστική αγωγή. Επίσης η οστική απώλεια φαίνεται ότι σχετίζεται με τον κίνδυνο κατάγματος ανεξάρτητα από την οστική πυκνότητα.

Για τους παραπάνω λόγους, αναπτύσσονται μέθοδοι μέτρησης της οστικής μάζας *in vivo*, μεγάλης ακρίβειας και επαναληψιμότητας που εξελίσσονται με προσάρτηση όλο και πιο εξελιγμένου λογισμικού με σκοπό να περιοριστεί ο αριθμός των απαιτούμενων παραδοχών στις αρχές λειτουργίας και να διευκολυνθεί η ερμηνεία της μέτρησης.

4.2. ΟΣΤΙΚΗ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑ και ΟΣΤΙΚΗ ΑΝΤΟΧΗ

Πειραματικά δεδομένα δείχνουν ότι η αντοχή των οστών εξαρτάται από την οστική μάζα. Η *οστική μάζα* όταν προσδιορίζεται μετά από καύση και ζύγιση του ανόργανου υπολείμματος σπονδύλων, ευθύνεται για το 80% περίπου της μεταβλητότητας της τελικής αντοχής (*ultimate strength*) των σπονδύλων αυτών [158,159]. Ομοίως η *οστική πυκνότητα* όπως προσδιορίζεται με διάφορες ακτινολογικές ποσοτικές τεχνικές, είναι αντιπροσωπευτικός δείκτης της αντοχής των οστών [160,161]. Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την οστική αντοχή είναι η γεωμετρική δομή, η τοπική αναλογία σπογγώδους/φλοιώδους οστού η μικροαρχιτεκτονική δομή και η ποιότητα. Στην αντοχή του σπογγώδους οστού παίζει ρόλο ο αριθμός και το πάχος των δοκίδων, οι διασταυρούμενοι δεσμοί κολλαγόνου και οι κοιλότητες οστικής απορρόφησης, ενώ στο φλοιώδες το πάχος, η διάμετρος του φλοιού και το πορώδες (*porosity*) [162]. Η σχέση μεταξύ οστικής μάζας και αντοχής των οστών δεν είναι γραμμική [159,163]. Αυτό συμβαίνει γιατί η επίδραση της αύξησης ή απώλειας της οστικής μάζας εξαρτάται από το πώς η μεταβολή αυτή σχετίζεται με την γεωμετρική και μικροαρχιτεκτονική δομή του

οστού και από την ποιότητα του οστίτη ιστού. Έτσι αναγνωρίζονται διαφορετικοί τύποι ελάττωσης οστικής μάζας όπως για παράδειγμα, εκλεκτική απώλεια σπογγώδους ή φλοιώδους ή ταχεία απώλεια στην περιοχή του ενδοστέου και αργή υποπεριοστική εναπόθεση, γρήγορη απώλεια με σημαντική διάτρηση των δοκίδων ή αργή απώλεια με λέπτυνση των δοκίδων. Οι διάφορες αυτές ανακατανομές της οστικής μάζας που μεταβάλλουν την οστική αντοχή, δεν αναγνωρίζονται από τις μετρήσεις της οστικής πυκνότητας, παρά μόνον με τη μέθοδο της *περιφερικής αξονικής τομογραφίας*.

4.3 . ΟΣΤΙΚΗ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑ και ΚΙΝΔΥΝΟΣ ΚΑΤΑΓΜΑΤΩΝ

Η χαμηλή οστική πυκνότητα (BMD) σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο καταγμάτων. Αυτό προκύπτει από μεγάλο αριθμό αναδρομικών μελετών που δείχνουν ότι ασθενείς με κατάγματα μικρής βίας π.χ. ισχίου, έχουν χαμηλότερη BMD σε διάφορες ανατομικές θέσεις, όπως το ισχίο [164,165,166], κερκιδικό άκρο, η πτέρνα ή η σπονδυλική στήλη [165, 167, 168], σε σύγκριση με υγιείς μάρτυρες αντίστοιχων ηλικιών. Προοπτικές μελέτες οι οποίες παρακολουθούν μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες για την εμφάνιση κατάγματος, δείχνουν επίσης ότι η χαμηλή BMD σε οποιαδήποτε ανατομική θέση, σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο κατάγματος. Συνοπτικά, αναφέρουν ότι ο σχετικός κίνδυνος κατάγματος αυξάνεται κατά 1,2 έως και 4,4 [3-5,169-178] φορές για κάθε ελάττωση της BMD κατά -1 SD, ανάλογα με την ανατομική θέση μέτρησης και τη θέση εμφάνισης του κατάγματος.

Οι μετρήσεις που γίνονται σε ανατομική θέση που συμπίπτει με τη θέση κατάγματος εμφανίζουν καλύτερη συσχέτιση με τον κίνδυνο κατάγματος. Έτσι ελαττωμένη κατά 1 SD BMD στο ισχίο σχετίζεται με αύξηση του κινδύνου κατάγματος άνω άκρου μηριαίου κατά 2,3 [5] έως 2,7 φορές [179], μετά από διόρθωση για την ηλικία. Ο σχετικός κίνδυνος για αντίστοιχη ελάττωση στο περιφερικό άκρο της κερκίδας είναι 1,4 [4] έως και 2,6 [5], και στη πτέρνα είναι 2 [179] έως 2,7 φορές [177]. Με όμοιο τρόπο, η μέτρηση οστικής πυκνότητας στην σπονδυλική στήλη έχει μεγαλύτερη προγνωστική αξία για την πρόβλεψη σπονδυλικών καταγμάτων (από 1,9 [5] έως 2,2 [169]). Ωστόσο, δεν φαίνεται να υπάρχει συγκεκριμένη ουδός οστικής πυκνότητας κάτω από την οποία να αυξάνεται σημαντικά ο αριθμός καταγμάτων, και παρατηρείται μεγάλη αλληλοεπικάλυψη μεταξύ των τιμών οστικής πυκνότητας ασθενών με κατάγματα και μαρτύρων. Στον πίνακα 4.1. συγκεντρώνονται τα αποτελέσματα συγκεκριμένων προοπτικών μελετών, σε μετα-ανάλυση που επιβεβαιώνει την προγνωστική αξία της μέτρησης οστικής πυκνότητας στην εμφάνιση οστεοπορωτικών καταγμάτων [180] και τονίζει ότι έχει την ίδια προγνωστική αξία με τη μέτρηση αρτηριακής πίεσης για την πρόγνωση αγγειακού

εγκεφαλικού επεισοδίου. Παρόλα αυτά δεν μπορεί να χρησιμεύσει για τον εντοπισμό συγκεκριμένων ατόμων που πρόκειται να υποστούν κάταγμα [180].

Πίνακας 4.1. Περίληψη μετα-ανάλυσης: σχετικός κίνδυνος (95% διάστημα αξιοπιστίας) κατάγματος για ελάττωση BMD κατά 1 SD από την μέση τιμή, διορθωμένη ως προς την ηλικία (τροποποιημένη μεταφορά από Marshall D et al [180])

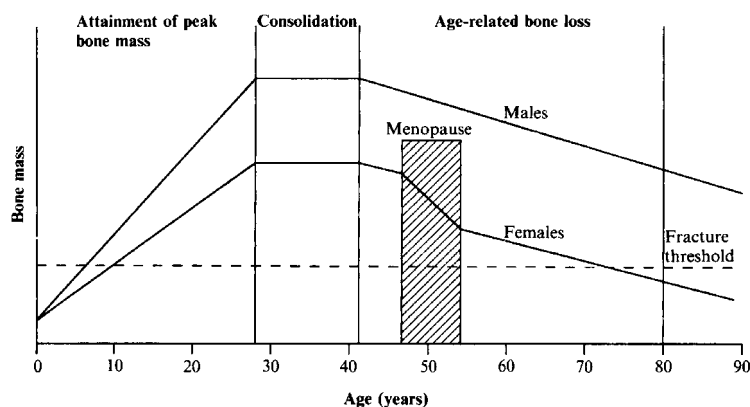
θέση μέτρησης οστικής πυκνότητας	τύπος κατάγματος			
	αντιβράχιο	ισχίο	σπονδυλική στήλη	οποιοδήποτε
<i>(οποιαδήποτε μέθοδος εκτός υπερήχων)</i>				
εγγύς πέρασ κερκίδος	1,8 (1,5-2,1)	2,1 (1,6-2,7)	2,2 (1,7-2,6)	1,5 (1,3-1,6)
άπω πέρασ κερκίδος	1,7 (1,4-2,0)	1,8 (1,4-2,2)	1,7 (1,4-2,1)	1,4 (1,3-1,6)
ισχίο	1,4 (1,4-1,6)	2,6 (2,0-3,5)	1,8 (1,1-2,7)	1,6 (1,4-1,8)
ΟΜΣΣ	1,5 (1,3-1,8)	1,6 (1,2-2,2)	2,3 (1,9-2,8)	1,5 (1,4-1,7)
πτέρνα	1,6 (1,4-1,8)	2,0 (1,5-2,7)	2,4 (1,8-3,2)	1,5 (1,3-1,8)
όλες οι περιοχές	1,6 (1,5-1,7)	2,0 (1,7-2,4)	2,1 (1,9-2,3)	1,5 (1,4-1,6)
<i>(μέτρηση με υπερήχους)</i>				
πτέρνα		2,2 (1,8-2,7)	1,8 (1,5-2,2)	1,5 (1,4-1,7)

4.4. ΜΕΤΑΒΟΛΗ ΟΣΤΙΚΗΣ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑΣ ΣΧΕΤΙΖΟΜΕΝΗ ΜΕ ΤΗΝ ΗΛΙΚΙΑ

Με την πάροδο της ηλικίας παρατηρείται φυσιολογικά μείωση της οστικής μάζας η οποία είναι γενικευμένη σε ολόκληρο τον σκελετό και αφορά σε όλους τους ανθρώπους, ανεξαρτήτως φύλου ή φυλής. Ωστόσο, ο χρόνος έναρξης και ο ρυθμός οστικής απώλειας μπορεί να ποικίλουν στις διάφορες ανατομικές περιοχές και μεταξύ του σπογγώδους και φλοιώδους οστού. Οι γυναίκες υπολογίζεται ότι χάνουν σε όλη τη διάρκεια της ζωής τους το 35% και 50% του φλοιώδους και σπογγώδους οστού αντίστοιχα, ενώ οι άντρες εμφανίζουν το 2/3 αυτής της απώλειας.

Η κορυφαία οστική μάζα έχει αποκτηθεί κατά τη 3^η δεκαετία της ζωής και εξαρτάται από γενετικούς, ορμονικούς, μηχανικούς και διατροφικούς παράγοντες που επιδρούν κατά την ανάπτυξη και την όψιμη εφηβεία. Η έναρξη της οστικής απώλειας δεν είναι πλήρως οροθετημένη, φαίνεται όμως ότι στο ισχίο ξεκινά κατά την προεμμηνόπαυσιακή περίοδο, πρωιμότερα της σπονδυλικής στήλης [181-184]. Όπως φαίνεται από cross-sectional [185] και διαχρονικές μελέτες [186], η BMD στον αυχένα του μηριαίου ελαττώνεται σταθερά από την 3^η έως την 5^η δεκαετία με ρυθμό 0,3% ανά έτος. Την αντίστοιχη χρονική περίοδο, η BMD στη σπονδυλική στήλη φαίνεται ότι παραμένει σταθερή [164,187]. Κατά την περιεμμηνόπαυσιακή περίοδο και πριν ακόμη τα επίπεδα οιστρογόνων ελαττωθούν σημαντικά, παρατηρείται μικρή ελάττωση της οστικής μάζας στη σπονδυλική στήλη (1,0 έως 1,8 %) [61, 188, 189] και τον αυχένα του μηριαίου (1,4 περίπου % ανά έτος) η οποία συσχετίζεται με αύξηση της θυλακιοτρόπου ορμόνης,

ενδεικτική της έκπτωσης της ωοθηκικής λειτουργίας [61,190]. Μετά την εμμηνόπαυση, ο ρυθμός οστικής απώλειας ακολουθεί εκθετική αύξηση [191-193]. Κατά την πρώιμη μετεμμηνόπαυσιακή περίοδο, έως και 50% της σπονδυλικής οστικής μάζας μπορεί να χαθεί. Μετά τα πρώτα 6 χρόνια από την εμμηνόπαυση, η οστική απώλεια επιβραδύνεται και συνεχίζεται με μέσο ρυθμό 1% ανά έτος ($-1,3 \pm 2,1$ έως $-0,8 \pm 3,0\%$ [7, 164]).



Σχήμα 4.1. Μεταβολή της οστικής πυκνότητας στα δύο φύλα ανάλογα με την ηλικία

4.5.ΤΕΧΝΙΚΗ ΜΕΤΡΗΣΗΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑΣ IN VIVO

Για τη μέτρηση της οστικής πυκνότητας in vivo με μη επεμβατική μέθοδο, έχουν αναπτυχθεί διάφορες ακτινολογικές ποσοτικές τεχνικές. Οι περισσότερες στηρίζονται στην απορρόφηση φωτονίων και στοχεύουν στον προσδιορισμό του *ανόργανου περιεχόμενου τμήματος οστίτη ιστού συγκεκριμένης χημικής σύνθεσης*. Ο πίνακας 4.2. αναφέρει επιγραμματικά τις διάφορες αυτές τεχνικές. Οι μέθοδοι SPA, DPA και DEXA καταγράφουν την απορρόφηση φωτονίων από μια ενεργειακή ακτίνα που αλληλεπιδρά με το οστό. Το ποσό της ακτινοβολίας που διαδίδεται εξαρτάται από την ενέργεια της ακτίνας X ή γ που προσπίπτει σε ένα υλικό, τη φύση του υλικού και το πάχος του. Επειδή με τις παραπάνω μεθόδους δεν είναι δυνατός ο υπολογισμός των διαστάσεων και του όγκου του οστού, υπολογίζεται το ανόργανο περιεχόμενο ανά μονάδα επιφάνειας που σαρώνεται όποιος κι αν είναι ο αντίστοιχος όγκος. Μεταξύ των μεθόδων αυτών, έχει επικρατήσει η μέθοδος DEXA, η οποία χρησιμοποιεί ακτίνες X δύο διαφορετικών ενεργειακών επιπέδων ώστε να διορθώνεται η μέτρηση ως προς την απορρόφηση των ιστών που περιβάλλουν τα οστά μιας ανατομικής περιοχής. Η εισαγωγή της μεθόδου DEXA έγινε το 1987 από την Hologic.

Πίνακας 4.2. Μέθοδοι μέτρησης της οστικής πυκνότητας in vivo.

Μέθοδοι που στηρίζονται στην ποσοτική εκτίμηση ακτινογραφιών:
πάχος φλοιού οστών άκρων

δείκτης Exton-Smith
δείκτης Barnett-Nordin
ακτινολογική φωτοπυκνόμετρα
σπονδυλική μορφομετρία

Μέθοδοι που στηρίζονται στην φωτονιακή απορροφησιμετρία
απλή ενεργειακή φωτονιακή απορροφησιμετρία (SPA)
διπλή ενεργειακή φωτονιακή απορροφησιμετρία
με ισότοπα (DPA)
με πηγή ακτίνων X (DEXA)
σπονδυλική μορφομετρία

Μέθοδοι που στηρίζονται στην τεχνική σκέδασης Compton

Μέθοδοι που στηρίζονται στην αξονική τομογραφία

Μέθοδοι που στηρίζονται στην ανάλυση ενεργοποίησης νετρονίων

Η αξιολόγηση των μεθόδων μέτρησης οστικής πυκνότητας γίνεται με κριτήριο την ακρίβεια (accuracy), επαναληψιμότητα (precision) και διαγνωστική ευαισθησία (diagnostic sensitivity). *Ακρίβεια* είναι η ικανότητα του συστήματος μέτρησης να μετράει το ίδιο ανόργανο περιεχόμενο ενός αντικειμένου όπως και μια άλλη ανεξάρτητη μέθοδος όπως π.χ. η ζύγιση του υπολείμματος μετά από χημική επεξεργασία αφαίρεσης λίπους και καύση. Μια άλλη λιγότερο αυστηρή μέθοδος προσδιορισμού της ακρίβειας της μεθόδου είναι η σύγκριση με *ανθρωπομορφικά ομοιώματα (phantoms)* γνωστού ανόργανου περιεχομένου και γνωστής προβαλλόμενης επιφάνειας. Η ακρίβεια της μεθόδου DEXA με την πρώτη μέθοδο είναι 4-6% και με τη χρήση ομοιώματος περίπου 1%. Η *επαναληψιμότητα* αντανακλά τη δυνατότητα ενός συστήματος μέτρησης να αναπαράγει τα ίδια αποτελέσματα σε επαναλαμβανόμενες μετρήσεις, είτε στην ίδια συνεδρία, είτε μέσα σε λίγες ημέρες (βραχυπρόθεσμα) είτε σε μεγάλα χρονικά διαστήματα (μακροπρόθεσμα). Τα συστήματα DEXA έχουν εξαιρετική βραχυπρόθεσμη και μακροπρόθεσμη επαναληψιμότητα η οποία είναι περίπου 0,5% στις μετρήσεις των ανθρωπομορφικών ομοιωμάτων. Η *βραχυπρόθεσμη επαναληψιμότητα in vivo* προσδιορίζεται είτε μετρώντας μερικά άτομα πολλές φορές είτε μετρώντας μεγάλο αριθμό ατόμων δύο φορές, με επανατοποθέτηση μεταξύ των μετρήσεων. Η *μακροπρόθεσμη επαναληψιμότητα in vitro*, υπολογίζεται εύκολα με τη βοήθεια ανθρωπομετρικών ομοιωμάτων. Ο υπολογισμός της *μακροπρόθεσμης επαναληψιμότητας in vivo* είναι πιο πολύπλοκος λόγω του ότι η οστική πυκνότητα των ατόμων που μετρώνται μεταβάλλεται αναπόφευκτα μεταξύ των δύο μετρήσεων. Πάντως μετά από διάφορες παραδοχές που γίνονται για την αντιμετώπιση αυτού του προβλήματος, η *in vivo* επαναληψιμότητα της μεθόδου DEXA υπολογίζεται σε περίπου

1%. Ωστόσο την κλινική πράξη, η μακροπρόθεσμη *in vivo* επαναληψιμότητα είναι της τάξης του 1,3-1,8% [194].

Ευαισθησία είναι η ικανότητα του συστήματος να διακρίνει τη διαφορά μεταξύ παθολογικού και φυσιολογικού και στα συστήματα μέτρησης οστικής πυκνότητας εξαρτάται από τα δεδομένα αναφοράς τα οποία χρησιμοποιούν. Η μέτρηση οστικής πυκνότητας με τη μέθοδο DEXA δεν μπορεί σε καμία περίπτωση να χρησιμοποιηθεί για το διαχωρισμό ασθενών με οστεοπορωτικά κατάγματα και χωρίς.

4.6. ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΣΤΙΚΗΣ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑΣ για ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΟΣΤΙΚΗΣ ΑΠΩΛΕΙΑΣ ή ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΟΥ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΟΣ

Ο ρυθμός οστικής απώλειας εκφράζεται συνήθως ως τη διαφορά των δύο μετρήσεων επί τοις % της αρχικής μέτρησης ανά έτος. Εναλλακτικά, υπολογίζεται από την εξίσωση ευθύγραμμης εξάρτησης (linear regression analysis) ως προς την αρχική τιμή ή το χρόνο. Οι συντελεστές κλίσης της ευθείας συνάρτησης κάθε μέτρησης διαιρούνται με την αρχική τιμή BMD και πολλαπλασιάζονται με το 100, για να υπολογιστεί η ετήσια απώλεια.

Η μεταβλητότητα επαναλαμβανόμενων μετρήσεων οστικής πυκνότητας ενός ατόμου στην ίδια ανατομική θέση εκφράζεται ως *συντελεστής μεταβλητότητας (CV)*. Ορίζεται ως το πηλίκο της σταθερής απόκλισης προς τη μέση τιμή των επαναλαμβανόμενων μετρήσεων ($CV = 100SD/mean \%$). Με άριστο ποιοτικό έλεγχο ο συντελεστής μεταβλητότητας της μέτρησης οστικής πυκνότητας με DEXA είναι περίπου 0,1 (1%). Η διαφορά μεταξύ δύο μετρήσεων είναι σημαντική με 95% αξιοπιστία, αν είναι μεγαλύτερη από 2 SD, δηλ 2,8 ($2\sqrt{2}$) φορές την επαναληψιμότητα της μεθόδου. Έτσι, με επαναληψιμότητα 1%, θα πρέπει κανείς να παρατηρήσει μεταβολή 2,8% για να είναι κατά 95% βέβαιος ότι δεν οφείλεται σε σφάλμα της μέτρησης [195]. Η αντίστοιχη μεταβολή για 90% μιας κατεύθυνσης (one-tailed) διάστημα αξιοπιστίας, είναι 1,8%. Αν υποθέσουμε ότι μετράμε την BMD μιας ομάδας γυναικών που όλες έχουν οστική απώλεια 3% ανά έτος, το 95% των μετρήσεων θα δίνει σαν αποτέλεσμα απώλεια μεταξύ -0,2 (-3+2,8) και -5,8 (-3-2,8)%. Με μικρότερου βαθμού μεταβολές τα προβλήματα είναι σημαντικά. Για παράδειγμα, αν δίνεται κάποια αγωγή που έχει σαν αποτέλεσμα 0% μεταβολή της οστικής πυκνότητας, το 95% των αποτελεσμάτων των μετρήσεων θα βρίσκεται μεταξύ 2,8 και -2,8%, οπότε ένα σημαντικό ποσοστό των γυναικών θα θεωρηθεί ότι συνεχίζει να εμφανίζει οστική απώλεια μεγαλύτερη του -2%. Ο μικρότερος CV ελαττώνει τον αριθμό των ατόμων που είναι απαραίτητο να συμμετέχουν σε μια εργασία ώστε να παρατηρήσουμε μια μεταβολή με αξιοπιστία 95%.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΑΛΕΝΔΡΟΝΑΤΗ

5.1. ΧΗΜΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ και ΔΡΑΣΗ

Τα *διφωσφονικά* είναι συνθετικά ανάλογα του πυροφωσφορικού οξέος, τα οποία λόγω της υψηλής τους συγγένειας προς τους κρυστάλλους ασβεστίου, συγκεντρώνονται

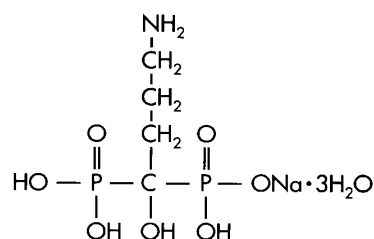
στις ενεργείς οστικές επιφάνειες, δεσμεύονται από τα οστά και επηρεάζουν τοπικά την οστική ανακατασκευή, με αποτέλεσμα την αναστολή της οστικής απορρόφησης.

Στην εισαγωγή των διφωσφονικών στη θεραπεία της οστεοπόρωσης οδήγησε η τεκμηρίωση της βιολογικής δράσης του πυροφωσφορικού οξέος. Την δεκαετία του '70 διαπιστώθηκε ότι τα ούρα και το πλάσμα περιέχουν ανόργανα *πυροφωσφορικά άλατα*, χημικές ουσίες που είχαν ευρεία εφαρμογή στη βιομηχανία λόγω της ιδιότητάς τους να εμποδίζουν την καθίζηση του ανθρακικού ασβεστίου. Θεωρήθηκε πιθανό ότι θα μπορούσαν να παρεμβαίνουν στην επιμετάλλωση και την κινητοποίηση ασβεστίου από τα οστά αλλά *in vivo* δεν τεκμηριώθηκε παρά μόνον η δράση τους εναντίον της έκτοπης οστεοποίησης μετά από παρεντερική χορήγηση. Υπεύθυνη για τα περιορισμένα βιολογικά αποτελέσματα σε σχέση με την αναμενόμενη δράση, θεωρήθηκε η χημική αστάθεια του πυροφωσφορικού οξέος που το καθιστά ιδιαίτερα ευαίσθητο στην ενζυμική υδρόλυση στο μικροπεριβάλλον των σημείων οστικής απορρόφησης. Έτσι από τις προσπάθειες για τη δημιουργία ενός παράγοντα με όμοιες φυσικοχημικές ιδιότητες αλλά με μεγαλύτερη μεταβολική σταθερότητα, γεννήθηκαν τα διφωσφονικά οργανικά άλατα περίπου 30 χρόνια πριν [196].

Η *βασική δομή* των διφωσφονικών είναι ένας δεσμός P-C-P, αντί του P-O-P του πυροφωσφορικού, και δύο αλκυλικές, πλευρικές αλυσίδες R_1 και R_2 , η ποικιλία των οποίων έχει οδηγήσει σε γενεές διφωσφονικών με διαφορετικές ιδιότητες. Η R_1 αλυσίδα είναι υπεύθυνη για τη δέσμευση του μορίου στους κρυστάλλους ασβεστίου και την περαιτέρω αναστολή αύξησης των κρυστάλλων (*mineralization*) με ένα φυσικοχημικό μηχανισμό. Η R_2 αλυσίδα είναι υπεύθυνη για μεταβολές σε κυτταρικό επίπεδο που έχουν σαν αποτέλεσμα την αναστολή της οστικής απορρόφησης με βιολογικούς μηχανισμούς.

Τα διφωσφονικά έχουν χαμηλή συστηματική απορρόφηση, γρήγορη νεφρική απέκκριση, και δεσμεύονται από τον οστίτη ιστό στις θέσεις οστικής απορρόφησης. Αναστέλλουν την οστική απορρόφηση με τρεις τουλάχιστον τρόπους α) μεταβάλλουν τις χημικές ιδιότητες του ρυθμιστικού διαλύματος στο μικροπεριβάλλον της ενεργού θέσης οστικής απορρόφησης, β) επιδρούν στους ώριμους οστεοκλάστες, στο σχηματισμό τους από την αιμοποιητική σειρά και τη διάρκεια ζωής τους, και γ) επιδρώντας στους οστεοβλάστες, μεταβάλλουν τις ιδιότητες της θεμέλιας ουσίας που ευθύνονται για την τελική ενεργοποίηση των οστεοκλαστών και την ωρίμανσή τους.

Η *Νατριούχος Αλενδρονάτη* (4-αμινο-1-υδροξυ-βουτυλιδένιο-1,1-διφωσφονικό νάτριο) είναι ένα ισχυρό αμινοδιφωσφονικό άλας. Ο εμπειρικός του τύπος είναι $C_4H_{12}NNaO_7P_2 \cdot 3H_2O$, με μοριακό βάρος 325,12. Η δομή της φαίνεται στο σχήμα 5.1.



Σχήμα 5.1. Μοριακή δομή νατριούχου αλενδρονάτης

Η νατριούχος αλενδρονάτη (ΑΛΝ) έχει μορφή άσπρης, κρυσταλλικής μη υγροσκοπικής σκόνης, που διαλύεται στο νερό, διαλύεται ελάχιστα στην αιθυλική αλκοόλη και δεν διαλύεται σε χλωροφόρμιο.

5.2. ΦΑΡΜΑΚΟΚΙΝΗΤΙΚΗ

Μετά από ενδοφλέβια χορήγηση αλενδρονάτης σε πειραματόζωα, η ουσία κατανέμεται παροδικά σε όλους τους ιστούς και αμέσως μετά απομακρύνεται από το πλάσμα, ανακατανέμεται στα οστά από τα οποία δεσμεύεται σε ειδικές θέσεις και αποβάλλεται από τα νεφρά με σπειραματική διήθηση και σωληναριακή απέκκριση [197]. Στο πλάσμα δεσμεύεται από πρωτεΐνες και το ελεύθερο κλάσμα αλενδρονάτης από το οποίο εξαρτάται η πρόσληψη από τα οστά, διαφέρει ανάλογα με το είδος του πειραματόζωου [198]. Η βιοδιαθεσιμότητα από το στόμα είναι περίπου 0,9- 1,8%, ενώ η πρόσληψη τροφής εμποδίζει την απορρόφηση. Η απομάκρυνση της ουσίας από τα οστά εξαρτάται από το ρυθμό οστικού μεταβολισμού [197]. Κλινικά και πειραματικά δεδομένα, συμφωνούν ότι 50% περίπου της ενδοφλέβιας δόσης ραδιοσημασμένης αλενδρονάτης προσλαμβάνεται από το σκελετό και το υπόλοιπο απεκκρίνεται στα ούρα μέσα σε 72 ώρες [199]. Η δεσμευμένη στα οστά ΑΛΝ έχει τελικό χρόνο ημίσειας ζωής περίπου 10 έτη και πιστεύεται ότι παραμένει φαρμακολογικά ανενεργής [199].

Για δόσεις από το στόμα 5-40 mg μετά από 12ωρη περίοδο νήστεως και 2 ώρες τουλάχιστον πριν από γεύμα, η βιοδιαθεσιμότητα της αλενδρονάτης είναι περίπου 0,7% χωρίς να διαφέρει ανάμεσα στα δύο φύλα. Η βιοδιαθεσιμότητά της ελαττώνεται με τη χορήγηση καφέ ή χυμού πορτοκαλιού (κατά 60%) ή με την κατανάλωση τροφής μισή ή μία ώρα μετά την χορήγησή της (κατά 40%) [199]. Δεν υπάρχει καμία ένδειξη σε πειραματόζωα ή ανθρώπους, ότι η αλενδρονάτη μεταβολίζεται.

Η χορήγηση αλενδρονάτης οδηγεί σε άμεση και δόσοεξαρτώμενη αναστολή της οστικής αποδόμησης η οποία αντανάκλαται στους βιοχημικούς δείκτες οστικής ανακατασκευής. Ο ρυθμός οστικής ανακατασκευής φθάνει σε νέα χαμηλότερα των

αρχικών επίπεδα στα οποία και παραμένει μέχρι τη διακοπή της αγωγής οπότε αναστρέφεται.

5.3. ΔΡΑΣΗ ΑΛΕΝΔΡΟΝΑΤΗΣ-ΠΡΟΚΛΙΝΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Η ισχυρή και δόσοεξαρτώμενη αντιοστεολυτική δράση της αλενδρονάτης έχει τεκμηριωθεί *in vitro* και *in vivo*. Όπως όλα τα διφωσφονικά έχει ισχυρή συγγένεια για τον υδροξυαπατίτη, άρα δεσμεύεται στα οστά, και ειδικά στις ενεργείς θέσεις οστικής αποδόμησης. Ειδικότερα, η αλενδρονάτη εγκαθίσταται εκλεκτικά κάτω από τους οστεοκλάστες όπου η τοπική της συγκέντρωση φθάνει σε επίπεδα 1mM [200]. Στις θέσεις αυτές δεσμεύεται ισχυρά στα φωσφορικά άλατα ασβεστίου και ασκεί *φυσικοχημική δράση* παρόμοια με αυτή του πυροφωσφορικού οξέος δηλ. εμποδίζει το σχηματισμό κρυστάλλων και συσσωρευμάτων ενώ συγχρόνως μειώνει τη διαλυτότητά τους.

Η *βιολογική δράση in vitro* έχει μελετηθεί εκτενώς σε διάφορες κυτταρικές και οργανικές καλλιέργειες εμβρυονικών οστών και οστών νεογέννητων ζώων. Με την ανάπτυξη μεθόδου παραγωγής καλά διαφοροποιημένων ανθρώπινων οστεοκλαστών από τα περιφερικά μονοπύρρηνα κύτταρα του αίματος, τεκμηριώθηκε η αντιοστεολυτική δράση της αλενδρονάτης και σε *ανθρώπινους οστεοκλάστες* [201] ή *μονοπύρρηνα κύτταρα της σειράς των μακροφάγων*. Η εκτίμηση της αντιοστεολυτικής δράσης *in vitro*, γίνεται κυρίως με μικροσκοπικές μεθόδους (light microscopy) και ιστομορφομετρικές μεθόδους, αλλά επιβεβαιώνεται και με έμμεσες μεθόδους όπως οι μεταβολές διαφόρων προϊόντων της πρωτεολυτικής δράσης των οστεοκλαστών στην ενεργή οστική θέση αποδόμησης π.χ. του διασταυρούμενου πεπτιδίου α2(I) N-τελοπεπτιδίου (NTx) [202], α2(I) C-τελοπεπτιδίου [201], ή ενζύμων ή άλλων στοιχείων ενδεικτικών της οστεοκλαστικής δραστηριότητας π.χ. ιόντων H⁺ [203], μεταλλοπρωτεϊνών [204], ή οστεοκαλσίνης [205]. Η ανασταλτική αυτή δράση της ALN, συνεχίζεται και παρουσία παραγόντων που ενισχύουν την οστική αποδόμηση όπως η PTH [206], η 1,25(OH)₂ VitD [205], προσταγλανδίνες, ιντερλευκίνες [207].

Ορισμένα διφωσφονικά εμφανίζουν αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες και είναι αποτελεσματικά στη θεραπεία μοντέλων πειραματικής αρθρίτιδας σε πειραματόζωα [208]. Όμοια η αλενδρονάτη, φαίνεται ότι ασκεί ήπια *αντιφλεγμονώδη δράση*. Ενδείξεις για τη δράση αυτή προκύπτουν από *in vitro* μελέτες, κατά τις οποίες η αλενδρονάτη αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό T-λεμφοκυττάρων του αίματος και την παραγωγή κυτοκινών (IL-1, IL-6 και TNF) από ενεργοποιημένα μονοπύρρηνα [209], και επάγει την απόπτωση μακροφάγων που προέρχονται από καλλιέργεια κυτταρικών σειρών J774.2 και RAW264.5 [210]. Σε ποντίκια *in vivo*, η αλενδρονάτη προκαλεί αύξηση της

παραγωγής IL-1 και μείωσης της έκλυσης TNF που προκαλεί η ενεργοποίηση με λιποπολυσακχαρίτες [211]. Τα μονοκύτταρα όταν βρίσκονται σε αποπτωτική διαδικασία εκλύουν IL-1b [212], και η έκλυση κυτοκινών από τα μονοκύτταρα/μακροφάγα του μυελού τα οποία εκτίθενται στην ALN και αποτίπτουν, μπορεί να ερμηνεύσει την οξεία λεμφοκυτταρική αντίδραση με λεμφοπενία που ακολουθεί ενίοτε τη χορήγηση ALN.

Η *in vivo* αντιοστεολυτική δράση της αλενδρονάτης έχει μελετηθεί εκτενώς, τόσο σε φυσιολογικά ζώα όσο και σε πειραματικά μοντέλα αυξημένης οστικής αποδόμησης. Σε φυσιολογικά αναπτυσσόμενα ποντίκια, η δια βίου χορήγηση αλενδρονάτης έχει σαν αποτέλεσμα τη δραματική βελτίωση των μηχανικών ιδιοτήτων των οστών και αύξηση της οστικής μάζας [213]. Στον αναπτυσσόμενο σκελετό, αναστέλλει την αποδόμηση της α-γενούς και β-γενούς σπογγιώδους στιβάδας (primary and secondary spongiosa) και εμποδίζει την συνεχή ανακατασκευή της μετάφυσης με αποτέλεσμα την παθολογική κατά μήκος ανάπτυξη των οστών. Οι μεταφύσεις ακτινολογικά εμφανίζονται πυκνότερες και παχύτερες με τετραγωνισμένα όρια, όπως αυτές των οστεοπετρωτικών ζώων [214].

Η αλενδρονάτη αναστέλλει την οστική απώλεια που προκαλείται από χρόνια ακινητοποίηση και προκαλεί δοσοεξαρτώμενη αύξηση της οστικής μάζας [215], σε διάφορα πειραματικά μοντέλα οστεοπόρωσης από ακινητοποίηση, πχ. μετά από νευρεκτομή [216] ή ανάρτηση άκρου [214].

Επίσης, αναστέλλει την οστική απώλεια λόγω οιστρογονικής απόσυρσης. Η χορήγηση αλενδρονάτης σε ποντίκια με *ωοθηκεκτομή*, έχει σαν αποτέλεσμα αύξηση της οστικής μάζας και αύξηση του όγκου του σπογγώδους οστού [217], η οποία δεν έχει αρνητικές επιπτώσεις στην ποιότητα των δοκίδων και βελτιώνει τις μηχανικές ιδιότητες των οστών [218]. Μελέτες σε μπαμπούνους πιθήκους με *ωοθηκεκτομή*, αποδεικνύουν ότι η χορήγηση αλενδρονάτης αναστέλλει την αύξηση του ρυθμού οστικής εναλλαγής που συνεπάγεται η οιστρογονική απόσυρση, με αποτέλεσμα οι συγκεντρώσεις των βιοχημικών δεικτών οστικού μεταβολισμού να παραμένουν σε προ-*ωοθηκεκτομής* επίπεδα [219]. Η συχνότητα ενεργοποίησης των θέσεων οστικής απορρόφησης, (και ο ρυθμός οστικής εναλλαγής) ελαττώνεται, χωρίς να επηρεάζεται η επιμετάλλωση, με αποτέλεσμα να μην προσβάλλεται η ποιότητα του οστού και να αυξάνεται η πυκνότητα και η αντοχή των οστών [220].

Η αύξηση της οστικής εναλλαγής που προκαλεί ο *ιατρογενής υπερθυροειδισμός* σε περιορίζεται με τη χορήγηση ALN. Έτσι σε φαρμακευτικό υπερθυροειδισμό σε ποντίκια η οστική μάζα του φλοιώδους και σπογγώδους οστού αυξάνεται σε επίπεδα υψηλότερα των μαρτύρων [221,222]. Η χορήγηση αλενδρονάτης προφυλάσσει επίσης αποτελεσματικά από την οστική απώλεια μετά από χορήγηση *κορτικοστεροειδών* [223] ή *κυκλοσπορίνης* σε ποντίκια [224]. Έχει αποδειχθεί ακόμη αποτελεσματική στην

αντιμετώπιση του *υπερπαραθυρεοειδισμού* [225] και της *υπερασβεστιαϊμίας* και υπερασβεστιουρίας. Σε ποντίκια στα οποία επιτυγχάνεται υπερασβεστιαϊμία με χορήγηση PTH ή VitD₃, η ενδοφλέβια χορήγηση ALN αναστέλλει στατιστικώς σημαντικά την άνοδο των επιπέδων ασβεστίου στον ορό. Η αντιυπερασβεστιαϊκή δράση της οφείλεται στην γρήγορη δέσμευσή της στις θέσεις οστικής απορρόφησης και την αντιστεολυτική της δράση [226]. Με τον ίδιο μηχανισμό, η ALN προκαλεί ελάττωση των επιπέδων ασβεστίου ορού και ούρων σε πειραματόζωα στα οποία έχει προκληθεί υπερασβεστιαϊμία με έγχυση καρκινικών κυττάρων, χωρίς να ελαττώνει τις συγκεντρώσεις PTH-related πεπτιδίου στον ορό [227, 228].

Η ισχυρή αντιστεολυτική δράση της αλενδρονάτης έχει συσχετισθεί με διάφορους τύπους *εντοπισμένης οστεόλυσης*. Η περιπροσθετική οστεόλυση είναι η οστεόλυση που παρατηρείται στις οστικές επιφάνειες που εφάπτονται των ορθοπεδικών υλικών, και οδηγεί σε άσηπτη χαλάρωση των ολικών αρθροπλαστικών. Οι Shanbhag και συν. [229] σε μια πολύ ενδιαφέρουσα μελέτη, κατά την οποία προκάλεσαν σε σκύλους in vivo οστεόλυση σε ολική αρθροπλαστική ισχίου χωρίς τσιμέντο, εισάγοντας σωματίδια φθοράς (wear debris osteolysis), συμπεραίνουν ότι η χορήγηση αλενδρονάτης προφυλάσσει από την άσηπτη χαλάρωση των προθέσεων. Στην ομάδα των ζώων υπό ALN, τα περιστατικά ακτινολογικής χαλάρωσης ήταν σημαντικά λιγότερα ενώ κατά τον διεγχειρητικό έλεγχο, οι προθέσεις χαρακτηρίζονταν από καλή είσφρωση οστίτη ιστού (bone ingrowth) και μηχανική σταθερότητα. Όπως είναι αναμενόμενο, η χορήγηση αλενδρονάτης δεν μπορεί να επηρεάσει την περιπροσθετική οστεόλυση που οφείλεται σε συνθήκες αστάθειας [230]. Μελέτες σε in vitro μοντέλα οστεόλυσης που προκαλείται από έκθεση μακροφάγων σε τεμάχια τσιμέντου, έχουν δείξει ότι η παμιδρονάτη, ένα άλλο αμινοδιφωσφονικό, καταστέλλει σημαντικά την οστική απορρόφηση [231]. Είναι λοιπόν πιθανό, η προστατευτική δράση της αλενδρονάτης έναντι στην περιπροσθετική οστεόλυση να ασκείται μέσω των μακροφάγων και μονοκυττάρων που συμμετέχουν στο μηχανισμό αυτό. Ένας άλλος τύπος εντοπισμένης οστεόλυσης είναι η απορρόφηση οστικών μοσχευμάτων. Μελέτες σε ποντίκια έδειξαν ότι η προπαρασκευή οστικού μοσχεύματος σε διάλυμα ALN πριν την εισαγωγή του σε αντίστοιχες οστικές θέσεις υποδοχής, είχε σαν αποτέλεσμα την προφύλαξη του μοσχεύματος από την οστική απορρόφηση κατά την άμεση μετεγχειρητική περίοδο [232].

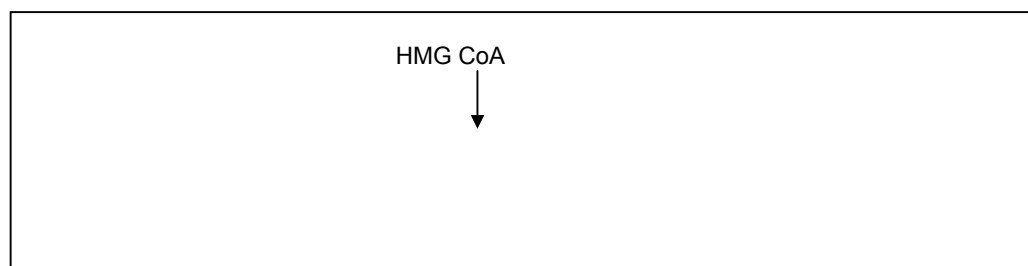
5.4. ΕΠΙΔΡΑΣΗ της ΑΛΕΝΔΡΟΝΑΤΗΣ στην ΟΣΤΕΟΚΛΑΣΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ και ΑΠΟΠΤΩΣΗ

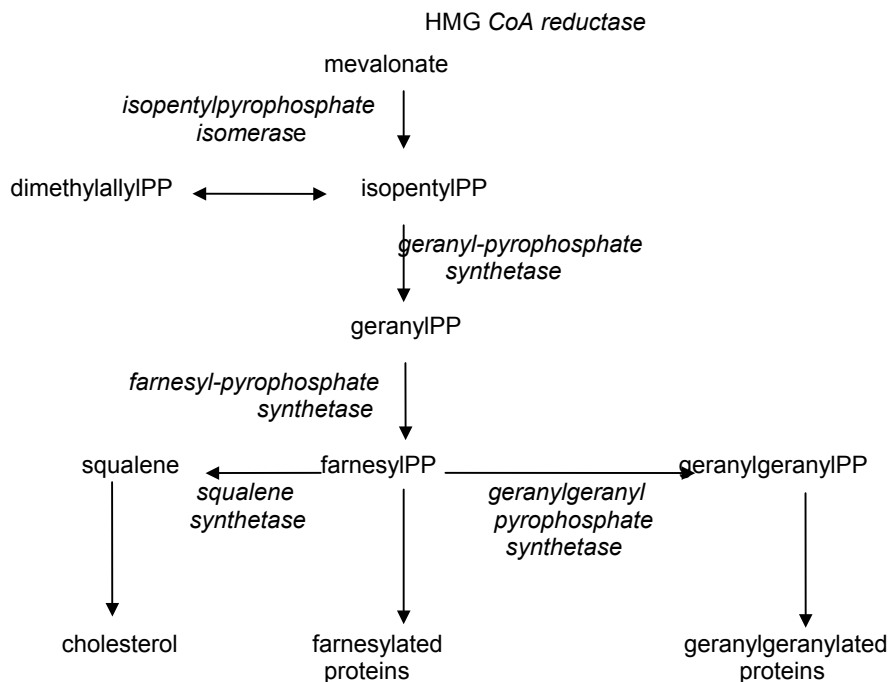
Αρχικά η ανασταλτική δράση των διφωσφονικών στην οστική αποδόμηση είχε αποδοθεί στις φυσικοχημικές τους ιδιότητες και την επίδρασή τους στη διαλυτότητα φωσφορικών αλάτων ασβεστίου. Γρήγορα όμως το ενδιαφέρον εντοπίστηκε στους

κυτταρικούς μηχανισμούς με τους οποίους τα διφωσφονικά παρεμβαίνουν στον οστικό μεταβολισμό. Τα διφωσφονικά μπορούν να δρουν σε διάφορα στάδια της ζωής των οστεοκλαστών που είναι τα κυρίως υπεύθυνα κύτταρα για την οστική απορρόφηση, αλλά και σε άλλα κύτταρα όπως οι οστεοβλάστες.

Παρατηρήσεις σε πειραματικά μοντέλα κατάλληλα για τη μελέτη της οστικής απορρόφησης που εξαρτάται κυρίως από τη δράση των *ώριμων οστεοκλαστών*, δείχνουν ότι η αλενδρονάτη καταστέλλει την δραστηριότητα των ενεργών οστεοκλαστών χωρίς να τους καταστρέφει [200, 233, 234]. Μετά τη χορήγηση σεσημασμένης ΑΛΝ σε νεογέννητα ποντίκια, οι ώριμοι οστεοκλάστες, ενσωματώνουν μόρια της ουσίας και εμφανίζουν μεταβολές στην κυτταρική τους μεμβράνη όπως απώλεια της πτύχωσης, που τους καθιστούν ανενεργούς χωρίς να καταστρέφονται [200, 235]. Αυτά τα ευρήματα και παρατηρήσεις από μελέτες με διάφορες κυτταρικές σειρές για τη συσχέτιση της δομής και της δραστηριότητας των διαφόρων διφωσφονικών [210,236,237] διαμόρφωσαν την πεποίθηση ότι τα αμινοδιφωσφονικά δρουν μέσω κάποιου ειδικού ενδοκυττάριου στόχου και όχι μέσω ενός μη ειδικού τοξικού φαινομένου.

Πολλές από τις μορφολογικές αλλοιώσεις που εμφανίζουν οι ώριμοι οστεοκλάστες με την επίδραση διαφόρων διφωσφονικών, όπως συρρίκνωση, πύκνωση και κατακερματισμός του πυρήνα [238] είναι ενδεικτικές **αποπτωτικού θανάτου** [210]. Πράγματι, υπάρχουν σοβαρές ενδείξεις ότι τα διφωσφονικά προάγουν την *οστεοκλαστική απόπτωση in vitro και in vivo* [43]. Η αλενδρονάτη και τα υπόλοιπα αμινοδιφωσφονικά, φαίνεται ότι παρεμβαίνουν σε κάποιο στάδιο του κυτταρικού μεταβολισμού και επάγουν μεταβολές στη δομή και τη δραστηριότητα ρυθμιστικών ενδοκυττάριων πρωτεϊνών όπως οι *GTP-binding κινάσες*. Οι ρυθμιστικές αυτές πρωτεΐνες ενέχονται σε signaling μονοπάτια που οδηγούν σε προγραμματισμένο κυτταρικό θάνατο των οστεοκλαστών, όπως τεκμηριώνεται από την αυξημένη ενεργότητα της *caspase 3*, τελικού προαγωγέα της απόπτωσης [239,240]. Βασιζόμενοι σε παλαιότερες ενδείξεις ότι τα διφωσφονικά αναστέλλουν την σκουαλενική συνθετάση (*squalene synthase*), που χρησιμοποιεί ως υπόστρωμα φαρσενυλ-διφωσφονικό (*farsenyl diphosphate (FPP)*) [240], οι Luckman et al [237], μελέτησαν τη δράση ενός αναστολέα της υδροξυμεθυλ-γλουταρικής CoA αναγωγάσης, της μεβαστατίνης, και της αλενδρονάτης, στο μονοπάτι βιοσύνθεσης της χοληστερόλης, σε κυτταρικές σειρές μονοκύτταρων/ μακροφάγων J774. Παρατήρησαν ότι η αλενδρονάτη και η μεβαστατίνη προκαλούσαν απόπτωση της κυτταρικής σειράς αυτής.





Σχήμα 5.2. Σχηματική παράσταση του μεταβολικού δρόμου του μεβαλονικού για την πρενυλίωση πρωτεϊνών. Στην οστική απορρόφηση δεν εμπλέκεται η φαρνεσυλίωση (Van Beek et el, 1999).

Η προσθήκη των τελικών μεταβολιτών μεβαλονικού, FPP και γερανυλγερανυλδιφωσφονικού (GGPP) εμπόδιζε τη δράση αυτή. Οι τελικοί μεταβολίτες FPP και GGPP στο μονοπάτι του **μεβαλονικού οξέος** είναι σημαντικά υποστρώματα στην ενεργοποίηση διαφόρων πρωτεϊνών που εμπλέκονται στο σχηματισμό του κυτταροσκελετού και του ενδοπλασματικού δικτύου όπως οι Rho, Rac, Cdc42 και Rab [241, 242] και την κυτταρική απόπτωση [239]. Μετά τις παρατηρήσεις αυτές ελέγχθηκε αν η αντιοστεολυτική δράση της ALN in vitro, αναστέλλεται με την προσθήκη γερανυλγερανυλίου. Έτσι απεδείχθη η ακόμη πιο εξειδικευμένη δράση της στη σύνθεση GPP [243,244] βλ. σχήμα 5.2. Το πως ακριβώς η αναστολή της γερανυλγερανυλίωσης κάποιων πρωτεϊνών εμπλέκεται στην οστεόλυση μέσω οστεοκλαστών, παραμένει άγνωστο. Όπως ωστόσο προαναφέρθηκε, υπάρχει αυξανόμενος όγκος δεδομένων που δείχνουν ότι οι GTP-binding πρωτεΐνες, όπως οι rho επηρεάζουν τη λειτουργία της οστικής αποδόμησης, μεταβάλλοντας τη σύνθεση του κυτταρικού σκελετού των οστεοκλαστών [34, 241, 242].

Για την έναρξη της οστεόλυσης αποτελεί προϋπόθεση η *προσκόλληση των οστεοκλαστών* στην οστική επιφάνεια. Η προσκόλληση επιτυγχάνεται με τη σύνδεση μεμβρανικών υποδοχέων των οστεοκλαστών με πρωτεΐνες της θεμέλιας ουσίας. Όπως έχουν δείξει μελέτες σε κυτταρικές σειρές από καρκινικά οστικά κύτταρα, η δυνατότητα των οστεοκλαστών να προσκολλώνται στη θεμέλιο ουσία των οστικών επιφανειών in

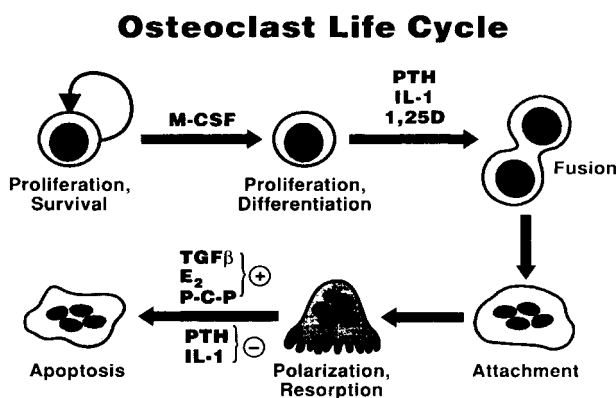
vitro μειώνεται με την επίδραση αλενδρονάτης [44]. Στο μηχανισμό **ελάττωσης της οστεοκλαστικής προσκολλητικότητας** φαίνεται ότι ενέχεται η μειωμένη έκφραση του υπεύθυνου επιφανειακού αντιγόνου CD11a / LFA-1a [209]. Αυτή η δράση μπορεί να επεκτείνει τη χρήση της αλενδρονάτης με σκοπό την πρόληψη οστικών μεταστάσεων.

Όπως είναι γνωστό, οι οστεοκλάστες προέρχονται από αιμοποιητικά πολυδύναμα κύτταρα της σειράς των μονοπύρηνων που βρίσκονται στο μυελό των οστών. Στις ενδοοστικές επιφάνειες τα προγονικά αυτά κύτταρα πολλαπλασιάζονται, συντήκονται σε πολυπύρηννα γιγαντοκύτταρα και αποκτούν πτυχωτή κυτταροπλασματική μεμβράνη, δηλ. μετατρέπονται σε ώριμους ενεργούς οστεοκλάστες, ικανούς να αποδομήσουν οστίτη ιστό. Έτσι, η παρέμβαση σε ένα ή περισσότερα από τα στάδια **οστεοκλαστογένεσης**, έχει σαν αποτέλεσμα την αναστολή της οστεοκλαστικής ωρίμανσης και ως εκ τούτου της οστικής αποδόμησης. Η εξέλιξη της οστεοκλαστογένεσης ρυθμίζεται με τη συμμετοχή στεροειδών ορμονών, αναπτυξιακών παραγόντων και κυτοκινών που προέρχονται από κύτταρα του μυελικού στρώματος και οστεοβλάστες, είναι δηλ. πολυπαραγοντική διαδικασία (βλ. Σχ. 2.3, σελ.20). Έτσι η συσχέτιση της δράσης της αλενδρονάτης με κάποιο συγκεκριμένο στάδιο της οστεοκλαστογένεσης είναι εξαιρετικά δύσκολη. Ωστόσο, τα μέχρι σήμερα δεδομένα συγκλίνουν κατ'αρχήν στο ότι τα αμινοδιφωσφονικά δεν επηρεάζουν αρνητικά τα πρωιμότερα στάδια οστεοκλαστικής ωρίμανσης, δηλ. την επιστράτευση προγονικών κυττάρων και τη μετανάστευσή τους από το μυελικό σωλήνα προς το ενδόστεο. Επίσης δεν αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό των προγονικών οστεοκλαστών ούτε είναι τοξικά για τα προγονικά κύτταρα [245]. Αντιθέτως, κατά την αρχική φάση χορήγησης αμινοδιφωσφονικών in vivo, παρατηρείται αύξηση του αριθμού μη ενεργών οστεοκλαστών και των πυρήνων τους, φαινόμενο το οποίο έχει αποδοθεί σε παροδική αντισταθμιστική αύξηση PTH [245]. Αποτελέσματα in vitro μελετών συνηγορούν στο ότι **η αλενδρονάτη δρα στα τελικά στάδια της οστεοκλαστογένεσης** που εξαρτώνται από την παρουσία οστεοβλαστών. Είναι λοιπόν πιθανό, ότι η ALN εμποδίζει την έκλυση από τους οστεοβλάστες ουσιών που προάγουν την οστεοκλαστογένεση [246,247].

Τα διφωσφονικά εκτός της δράσης τους στους οστεοκλάστες, επιδρούν και σε άλλα κύτταρα όπως *τα μακροφάγα* των οποίων αναστέλλουν τη δραστηριότητα [248] και τον πολλαπλασιασμό in vitro [249]. Επίσης όπως ήδη προαναφέρθηκε υπάρχουν αυξανόμενες ενδείξεις ότι επιδρούν και *στους οστεοβλάστες*. Είναι γνωστό ότι οι οστεοβλάστες συμμετέχουν στη ρύθμιση της οστεοκλαστικής απορρόφησης [250]. Εξάλλου, διάφοροι παράγοντες οι οποίοι επάγουν την οστεοκλαστική δραστηριότητα, όπως η PTH, 1,25(OH)βιταμίνη D₃, PGE₂, IL-1, TNF-α, ασκούν τη δράση τους μέσω της έκλυσης από τους **οστεοβλάστες κάποιου μεσολαβητή** που ενισχύει την

οστεοκλαστική δράση. Έτσι η καλλιέργεια οστεοκλαστών με προπαρασκευασμένους με αλενδρονάτη οστεοβλάστες, είχε σαν αποτέλεσμα την αναστολή της οστεοκλαστικής δραστηριότητας και της οστικής αποδόμησης [42]. Ο μεσολαβητής με τον οποίο επιτυγχάνεται η αντιοστεοκλαστική επίδραση των οστεοβλαστών δεν είναι γνωστός. Είναι πιθανό να παίζει κάποιο ρόλο η IL-6, καθώς η αλενδρονάτη αναστέλλει την έκλυση IL-6 από οστεοβλαστικά κύτταρα in vitro [251, 252].

Όπως είναι γνωστό η κυτοκίνη IL-6, εκλύεται από μονοκύτταρα, οστεοβλάστες και ινοβλάστες, ενισχύει την οστεοκλαστογένεση και αυξάνει την οστική αποδόμηση τόσο in vitro όσο και in vivo, ενώ ενέχεται στην παθογένεια της εμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης [45], και της περιαρθρικής οστεόλυσης στην ρευματοειδή αρθρίτιδα. Πάντως, η τελική επίδραση της αλενδρονάτης στην τοπική έκλυση IL-6 in vivo, όπου συμμετέχουν πολλοί παράγοντες μαζί δεν μπορεί να προβλεφθεί. Ήδη, σε in vitro συστήματα, παρουσία άλλων μεσολαβητών και ορμονών, η αλενδρονάτη εμφανίζει ενίοτε επαγωγική συνεργική δράση στην παραγωγή IL-6 [207]. Έτσι παραμένει άγνωστη η ακριβής δράση της αλενδρονάτης στους οστεοβλάστες και άλλα κύτταρα-μεσολαβητές της οστεοκλαστογένεσης και της οστεοκλαστικής δραστηριότητας.



Σχήμα 5.3. Κύκλος ζωής οστεοκλαστών

Με έναυσμα ιστομορφομετρικές μελέτες που υποστηρίζουν ότι η χορήγηση αλενδρονάτης, εκτός από την αναστολή της οστικής αποδόμησης ενισχύει επιπλέον και τον οστικό σχηματισμό [253], εξετάστηκε η επίδραση της ουσίας στον αριθμό των οστεοβλαστών. Δεν υπάρχουν ενδείξεις ότι η αλενδρονάτη σε δόσεις που επιτυγχάνεται η ελάττωση κατά 50% της οστεοκλαστικής αποδομητικής δραστηριότητας (2×10^{-9} mol/L), επηρεάζει τη βιωσιμότητα, την ικανότητα πολλαπλασιασμού, ή επιμετάλλωσης των οστεοβλαστών ανθρώπινης προέλευσης σε in vitro μελέτες [254]. Όμως έχει παρατηρηθεί ότι αυξάνει τη σύνθεση οστεοκαλσίνης και κολλαγόνου όπως και την έκφραση pro- $\alpha(1)$ collagen mRNA [255]. Επίσης, διάφορες μελέτες τόσο in vitro σε καλλιέργειες μυελού ανθρώπου ή ποντικών που περιέχουν προγονικές οστεοβλαστικές

σειρές, όσο και *in vivo* σε ποντικούς, συγκλίνουν στο ότι η αλενδρονάτη σε χαμηλές δόσεις επάγει την **οστεοβλαστογένεση** [256], πιθανόν μέσω παραγωγής basic fibroblast growth factor (bFGF), ο οποίος έχει μιτογόνο δράση στα μεσεγχειματικά κύτταρα και σχετίζεται με την οστεοβλαστογένεση [257], ή μικρών πεπτιδίων όπως η human protein tyrosine phosphatases (PTPs), που ενέχεται στη διαφοροποίηση και ανάπτυξη οστεοβλαστικών κυττάρων. Η τυροσινική φωσφατάση είναι αναγνωρισμένος ενδοκυττάριος στόχος της αλενδρονάτης στους οστεοκλάστες [258].

5.5. ΠΡΟΚΛΙΝΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΑΣΦΑΛΕΙΑΣ

Η άμεση τοξικότητα της αλενδρονάτης έχει ελεγχθεί με τη χορήγηση μεγάλων ποσοτήτων της ουσίας άπαξ, σε διάφορα πειραματόζωα, όπως ποντίκια, σκύλους και κουνέλια. Η ημίσεια θανατηφόρος δόση που αντιστοιχεί στον άνθρωπο όπως έχει προσδιοριστεί σε θηλυκά πειραματόζωα (LD50), υπολογίζεται σε 27.800 – 48.300 mg περίπου αν ληφθεί από το στόμα και ποικίλει ανάλογα με το είδος του πειραματόζωου που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό. Η ανάλογη ενδοφλέβια δόση είναι περίπου 15 φορές μικρότερη. Τα αίτια θανάτου σχετίζονται με αιμορραγία του ανώτερου γαστρικού βλεννογόνου ή νεφροτοξικότητα με τη μορφή σωληναριακής νέκρωσης ή χρόνιας εστιακής νεφρίτιδας.

Η χρόνια τοξικότητα έχει ελεγχθεί σε προκλινικές μελέτες 3 ετών χορήγησης αλενδρονάτης όπου μελετήθηκαν η νεφροτοξικότητα, η μεταλλαξιογόνος και καρκινογόνος δράση, και οι αρνητικές επιπτώσεις σε σημαντικούς βιοχημικούς παράγοντες, όπως και στην αναπαραγωγική ικανότητα, την φυσιολογική ανάπτυξη και την ποιότητα του οστού. Διαπιστώθηκε ότι η αλενδρονάτη μπορεί να έχει νεφροτοξική δράση, ενώ κατακρατείται στην πρωτογενή spongiosa των οστών σε περιοχές ενδοχόνδρινης οστέωσης όπου επηρεάζει αρνητικά την ανάπτυξη της μετάφυσης. Ωστόσο οι επιπτώσεις αυτές δε θεωρούνται ότι σχετίζονται με την κλινική χορήγηση, γιατί στους πληθυσμούς στους οποίους στοχεύει η χορήγηση αλενδρονάτης δεν συμβαίνει ενδοχόνδρινη οστέωση ενώ οι νεφροτοξικές δόσεις είναι πολύ υψηλότερες από τις θεραπευτικές. Οι επιπτώσεις στις βιοχημικές παραμέτρους, όπως πτώση των επιπέδων ασβεστίου, αλκαλικής φωσφατάσης, φωσφόρου, αντανακλούν ακριβώς την επιθυμητή δράση της ουσίας. Δεν υπήρξε καμία ένδειξη καρκινογόνου δράσης σε ποντίκια τα οποία έλαβαν έως και 10mg/kg/ημέρα για 92 εβδομάδες ή 3,75mg/kg/ημέρα για 105 εβδομάδες. Τέσσερις από τις 5 γονιδιοτοξικές μελέτες, που ελέγχουν καλύτερα τη μεταλλαξιογόνο δράση στον άνθρωπο ήταν αρνητικές. Η αλενδρονάτη δεν είχε καμία επίδραση στην αναπαραγωγική ικανότητα ποντικών σε δόσεις έως 5mg/kg/ημέρα. Πάντως η υπασβεσταιμική της δράση αρκεί για να μην μπορεί να θεωρηθεί η χορήγησή

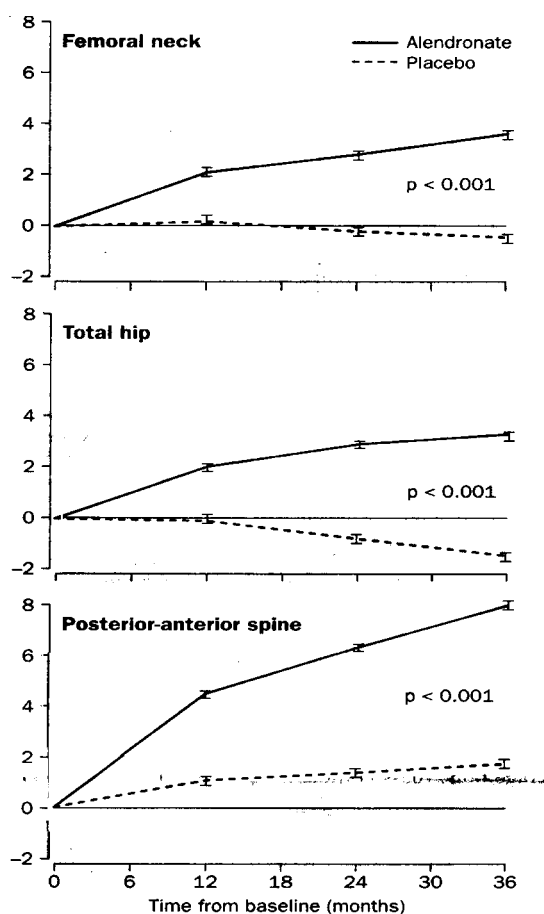
της ασφαλούς κατά τη διάρκεια εγκυμοσύνης. Δεν υπήρξαν επιπτώσεις στην ανάπτυξη με δόσεις έως 25 mg/kg/ημέρα σε ποντίκια και 35 mg/kg/ημέρα σε κουνέλια. Ειδικές μελέτες αποδεικνύουν ότι δεν μεταβάλλεται η ποιότητα του οστού, η μορφολογία ή η επιμετάλλωση με δόσεις μεγαλύτερες των θεραπευτικών επί τρία συνεχή έτη, ενώ υπάρχει γραμμική συσχέτιση μεταξύ αύξησης της οστικής μάζας και της οστικής αντοχής. Έτσι, η χορήγηση αλενδρονάτης στις συνιστώμενες δόσεις θεωρείται ένα ασφαλές φάρμακο για την αντιμετώπιση της οστεοπόρωσης [259].

5.6. ΑΛΕΝΔΡΟΝΑΤΗ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕΤΕΜΜΗΝΟΠΑΥΣΙΑΚΗΣ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗΣ

5.6.1. ΑΛΕΝΔΡΟΝΑΤΗ και ΟΣΤΙΚΗ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑ

Οι πρώτες κλινικές μελέτες σχετικά με τη δράση της αλενδρονάτης, είχαν δείξει ότι η χορήγηση ALN για 6 μήνες έως 2 έτη, είναι αποτελεσματική στην αντιμετώπιση της μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης, γιατί σε σύντομο χρονικό διάστημα μετά την έναρξη της αγωγής (1-3 μήνες), προκαλούσε καταστολή του ρυθμού οστικής εναλλαγής με αποτέλεσμα να προστατεύει από την οστική απώλεια (αυχένας μηριαίου) και να αυξάνει την οστική πυκνότητα (ΟΜΣΣ) [60,151,260,261]. Διαπίστωναν δε ότι η θετική αυτή επίδραση διατηρείται για ένα μεγάλο διάστημα και μετά τη διακοπή της αγωγής καθώς οι συγκεντρώσεις των δεικτών οστικής εναλλαγής αποκαθίσταντο αργά (6-9 μήνες μετά από 6 μήνες καθημερινής χορήγησης) στα προ θεραπείας επίπεδα [151].

Η αποτελεσματικότητα της αλενδρονάτης στη θεραπεία της μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης επιβεβαιώθηκε με τη δημοσίευση των αποτελεσμάτων δύο μεγάλων πολυκεντρικών μελετών 3^{ης} φάσης, διάρκειας τουλάχιστον τριών ετών [262, 263], οι οποίες περιέλαβαν 994 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες 45-80 ετών, με χαμηλή οστική πυκνότητα, από 35 κέντρα, με τη χρηματοδότηση των ερευνητικών εργαστηρίων της Merck. Η συνεχής χορήγηση αλενδρονάτης από το στόμα μαζί με συμπλήρωμα ασβεστίου, οδηγεί σε σημαντική προοδευτική και δοσοεξαρτώμενη αύξηση της οστικής πυκνότητας σε όλες τις ανατομικές θέσεις, για όσο διάστημα διαρκεί η χορήγηση. Η δόση των 10 mg/ημέρα καθορίστηκε ως η βέλτιστη δοσολογία, γιατί έχει παρόμοια επίδραση στην οστική πυκνότητα με τα 20mg, ενώ είναι η ελάχιστη για την προοδευτική αύξηση της πέραν των δύο πρώτων ετών [262]. Η τελική αύξηση της BMD σε 3 έτη ήταν 8,16% στην ΟΜΣΣ και 4,7% [262] στον αυχένα του μηριαίου. Στις υπόλοιπες ανατομικές θέσεις και σε περιοχές με υψηλή συγκέντρωση φλοιώδους οστού παρατηρήθηκαν επίσης μικρότερες θετικές μεταβολές (βλέπε σχήμα 5.4). Το ποσοστό των ασθενών που είχαν αύξηση της οστικής πυκνότητας μεγαλύτερη του 3% ήταν 85 %, ενώ 52,2% των ασθενών σημείωσαν αύξηση μεγαλύτερη του 8% (πίν. 5.1).



Σχήμα 5.4. Μέση μεταβολή της οστικής πυκνότητας (\pm σταθερή απόκλιση) από την αρχική τιμή σε γυναίκες με μετεμμηνο-παυσιακή οστεοπόρωση που έλαβαν αλενδρονάτη ή placebo για τρία έτη (από Liberman et al. [264])

Πίνακας 5.1. Ποσοστό των ασθενών που η μεταβολή της οστικής τους πυκνότητας υπερέβη τα αντίστοιχα κατώφλια στις μελέτες 3^{ης} φάσης

ομάδα	N	0%	1%	2%	3%	5%	7%	9%
placebo	374	43,9	31,3	22,5	16,0	8,3	4,5	2,7
ALN 5mg	178	86,0	84,3	80,3	71,3	53,4	34,8	19,7
ALN 10mg	180	95,6	93,9	90,6	85,0	70,6	58,9	44,4
ALN 20/5mg	178	96,1	93,8	92,1	84,8	68,5	58,4	34,3

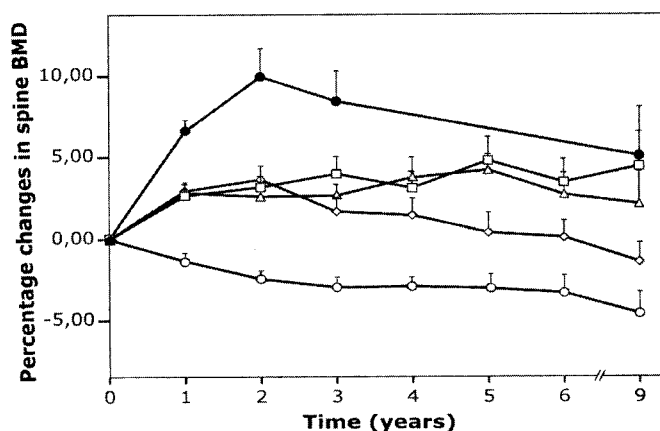
Σχετικά με την ευεργετική επίδραση της ALN στην οστική πυκνότητα, έχουν επιβεβαιωθεί οι παρακάτω παρατηρήσεις [261,263]: α) ότι η αύξηση της BMD συνεχίζεται προοδευτικά καθ' όλη τη διάρκεια της θεραπείας, έστω και σε μικρότερο βαθμό μετά το 1ο έτος, και β) ότι το κέρδος στην οστική μάζα διατηρείται για μεγάλο χρονικό διάστημα και μετά τη διακοπή της αγωγής, σε αντίθεση με άλλους αντιοστεολυτικούς παράγοντες. Η διαχρονική επέκταση των μελετών 3^{ης} φάσης δείχνει ότι ακόμη και μετά από 7 έτη χορήγησης αλενδρονάτης, η οστική πυκνότητα στην ΟΜΣΣ εξακολουθεί να αυξάνεται προοδευτικά και στις υπόλοιπες ανατομικές θέσεις να διατηρείται σταθερή [265].

Κατά την αξιολόγηση της δράσης των διαφόρων αντιοστεολυτικών παραγόντων πρέπει να λαμβάνει κανείς υπόψιν ότι ένα ποσοστό από την μετρούμενη αύξηση της οστικής πυκνότητας οφείλεται στο *ανακατασκευαστικό παροδικό φαινόμενο (remodeling transient)*. Το φαινόμενο αυτό περιγράφει τις επιπτώσεις κάποιας μεταβολής στο ρυθμό ανακατασκευής π.χ της ελάττωσης της συχνότητας ενεργοποίησης. Κάθε ελάττωση της συχνότητας ενεργοποίησης νέων θέσεων, αλλάζει τον όγκο του συνολικού χώρου ανακατασκευής (remodeling space) γιατί εμποδίζει την απορρόφηση σε νέες θέσεις απορρόφησης, ενώ στις παλαιές συνεχίζεται η οστική σύνθεση. Η ελάττωση του χώρου ανακατασκευής καταγράφεται κατά τη μέτρηση οστικής πυκνότητας ως αύξηση της οστικής μάζας. Η αύξηση αυτή διαρκεί μόνον για έναν κύκλο ανακατασκευής, αν δεν υπάρχει επιπλέον επέμβαση στο ισοζύγιο απορρόφησης-σύνθεσης. Δεδομένου ότι ένας κύκλος αναδόμησης με την δευτερογενή επιμετάλλωση είναι περίπου 40 εβδομάδες, η αύξηση της οστικής πυκνότητας που παρατηρείται κατά το 1ο έτος χορήγησης οποιουδήποτε αντιοστεολυτικού παράγοντα οφείλεται σε μεγάλο βαθμό στην πλήρωση του χώρου ανακατασκευής. Το ποσοστό της αύξησης της οστικής πυκνότητας που οφείλεται στο ανακατασκευαστικό παροδικό φαινόμενο για ελάττωση του ρυθμού μεταβολισμού κατά 50% περίπου, όσο δηλ. με τη χορήγηση αλενδρονάτης, υπολογίζεται σε 10% έως 30% περίπου, ανάλογα με το ρυθμό μεταβολισμού και την αρχική οστική πυκνότητα [266]. Το φαινόμενο παροδικής ανακατασκευής παρατηρείται και κατά την αντίθετη κατεύθυνση όταν με την διακοπή της χορήγησης και την άρση της δράσης ενός αντιοστεολυτικού παράγοντα, ενεργοποιούνται νέες θέσεις απορρόφησης, οπότε ο χώρος ανακατασκευής εκπύσσεται. Το γεγονός ότι με τη διακοπή της αλενδρονάτης η οστική πυκνότητα δεν ελαττώνεται αμέσως, ίσως σχετίζεται με την ιδιότητα της ουσίας να παγιδεύεται στο οστόν και να ενεργοποιείται αποκαλυπτόμενη με την αύξηση της συχνότητας ενεργοποίησης.

Το γεγονός ότι η αλενδρονάτη προκαλεί συνεχή αύξηση οστικής πυκνότητας και κατά το 3^ο, 5^ο έτος χορήγησης θα μπορούσε επίσης να ερμηνευθεί με πιθανή θετική επίδραση της στο συνολικό *ισοζύγιο σύνθεσης απορρόφησης*. Όπως έχουν δείξει μελέτες σε μπαμπούνους πιθήκους [220] αλλά και **ιστομορφομετρικές κλινικές μελέτες** [253], κατά τη διάρκεια χορήγησης αλενδρονάτης ελαττώνεται το βάθος απορρόφησης και αυξάνεται το *μέσο τοιχωματικό εύρος* (mean wall thickness). Επιπλέον όμως, καθώς ο ρυθμός οστικής εναλλαγής μειώνεται, η ηλικία της κάθε βασικής ανακατασκευαστικής μονάδας αυξάνεται, και ο *βαθμός επιμετάλλωσης* αυξάνεται, συμβάλλοντας στην αύξηση της οστικής πυκνότητας με την πάροδο του χρόνου. Έτσι, μέρος της αύξησης της BMD οφείλεται στην βελτίωση της δευτερογενούς

επιμετάλλωσης, η οποία αναστρέφεται σε επίπεδα όμοια με αυτά των προεμμηνοπαυσιακών γυναικών [267].

Επιπλέον, η αλενδρονάτη είναι μια ακτινοσκοπική κρυσταλλική ουσία, η οποία δεσμεύεται στη θέση του υδροξυαπατίτη. Είναι άρα πιθανό ότι προσδίδει διαφορετικές φυσικές ιδιότητες στα οστά ώστε ο συντελεστής μαζικής απορρόφησης (*mass attenuation coefficient*) να μεταβάλλεται καθώς συγκεντρώνονται όλο και μεγαλύτερες ποσότητες κρυστάλλων αλενδρονάτης και αλληλεπιδρούν με τα φωτόνια της απορροφησιμετρίας. Έτσι μέρος της μεταβολής της οστικής πυκνότητας θα μπορούσε να οφείλεται στις φυσικές ιδιότητες της δεσμευμένης στα οστά αλενδρονάτης. Είναι εντυπωσιακό ότι 7 χρόνια μετά τη διακοπή διετούς χορήγησης 20 mg ΑΛΝ, η οστική πυκνότητα εξακολουθεί να είναι σημαντικά αυξημένη σε σχέση με τους μάρτυρες [268]. Συστήματα εξομίωσης της οστικής ανακατασκευής, που έχουν αναπτυχθεί για την κατανόηση του μηχανισμού με τον οποίο συμβαίνει η αύξηση της οστικής μάζας κατά τη χορήγηση αλενδρονάτης, συμφωνούν ότι η αύξηση του βαθμού επιμετάλλωσης συμμετέχει σε μεγαλύτερο βαθμό από την επίδραση στην ισορροπία των δύο φάσεων ανακατασκευής και την εγκατάσταση νέου θετικού ισοζυγίου [269].



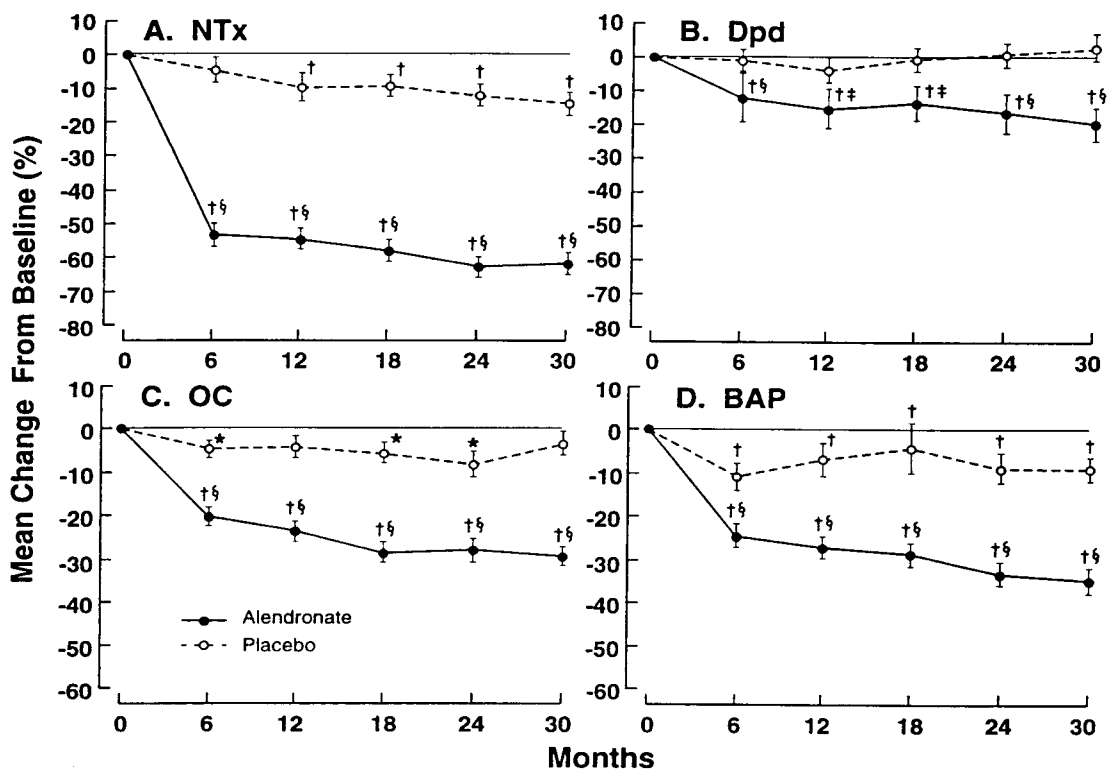
Σχήμα 5.5. Μέσες μεταβολές της οστικής πυκνότητας της ΟΜΣΣ μετά από την απόσυρση της αγωγής με αλενδρονάτη : ○ placebo, ◇ 5mg αλενδρονάτης επί 2 έτη, Δ επί 4 έτη, □ επί 6 έτη, και ●20mg αλενδρονάτης επί 2 έτη (ανατύπωση από Bagger et al [268]).

Παρ' ότι διάφορες ερμηνείες αποδίδονται στην προοδευτική και σταθερή αύξηση της οστικής πυκνότητας που προκαλεί η συνεχής χορήγηση αλενδρονάτης, η άμεση αντικαταγματική δράση αυτού του αντιοστεολυτικού παράγοντα, είναι πολύ καλά τεκμηριωμένη. Η αύξηση που προκαλεί στην BMD μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών με οστεοπόρωση, υπολογίζεται ότι ευθύνεται για ποσοστό 40-67% της τελικά παρατηρούμενης ελάττωσης της συχνότητας καταγμάτων. Για την καλσιτονίνη και τα οιστρογόνα το ποσοστό αυτό είναι 4% και 43% αντίστοιχα [270].

5.6.2. ΑΛΕΝΔΡΟΝΑΤΗ και ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΣΤΙΚΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ

Η συνεχής χορήγηση αλενδρονάτης έχει σαν αποτέλεσμα δόσοεξαρτώμενη, συνεχής και μη προοδευτική καταστολή του ρυθμού του οστικού μεταβολισμού, με αποτέλεσμα οι βιοχημικοί δείκτες οστικού μεταβολισμού να μειώνονται και να παραμένουν σε φυσιολογικά προεμμηνοπαυσιακά επίπεδα. Τα φαινόμενα αυτά αναστρέφονται βαθμιαία μετά τη διακοπή της θεραπείας, αλλά ο ρυθμός οστικής εναλλαγής παραμένει χαμηλότερος σε σύγκριση με τους ασθενείς που έλαβαν placebo [268]. Στις κλινικές μελέτες 3^{ης} φάσης, η εκτίμηση του ρυθμού οστικού μεταβολισμού έγινε με προσδιορισμό των συγκεντρώσεων δεοξυπυριδινολίνης (U-DPD) και N-τελοπεπτιδίου κολλαγόνου I (U-NTx-I) στα ούρα, και οστικής αλκαλικής φωσφατάσης (S-B-ALP) και οστεοκαλσίνης (S-OC) στον ορό. Οι δείκτες οστικής απορρόφησης ελαττώθηκαν ταχέως φθάνοντας το 40% περίπου των αρχικών τιμών στο τέλος του 1^{ου} μήνα αγωγής. Σε 3-6 μήνες μετά την έναρξη της θεραπείας έφθασαν τα χαμηλότερα επίπεδα (50% περίπου των αρχικών) και έπειτα άρχισαν να ανέρχονται ώστε μετά από ένα έτος έως 15 μήνες σταθεροποιήθηκαν σε προεμμηνοπαυσιακά φυσιολογικά επίπεδα [261,262,263]. Οι δείκτες οστικού σχηματισμού παρουσιάζουν βραδύτερη ανταπόκριση με το ναδίρ τους να συμπίπτει με το χρονικό διάστημα των 9 περίπου μηνών, ενώ στο τέλος του 1^{ου} έτους βρίσκονται σε επίπεδα χαμηλότερα των αρχικών κατά 45% (S-OC) και 25% (S-B-SAP) χαμηλότερα (σχήμα 5.6). Η S-OC είναι πιο ευαίσθητη γιατί εμφανίζει μεγαλύτερη ελάττωση και πιο πρώιμη ανταπόκριση στην αγωγή [261]. Η καταστολή του οστικού μεταβολισμού συνοδεύεται από άμεση ελάττωση του ασβεστίου και αύξηση της παραθορμόνης και της καλτσιτριόλης στον ορό. Κατά τη διάρκεια της αγωγής οι παράγοντες αυτοί σταδιακά επανέρχονται στα αρχικά επίπεδα.

Η συνεχιζόμενη χορήγηση αλενδρονάτης σε γυναίκες με χαμηλή οστική πυκνότητα για διάστημα άνω των δύο ετών, δεν οδήγησε σε αντίστοιχη προοδευτική μείωση των βιοχημικών δεικτών οστικής εναλλαγής. Οι μέσες τιμές των δεικτών στο τέλος του 2^{ου} έτους δεν είχαν στατιστικά σημαντική διαφορά με τις αντίστοιχες στο τέλος του 3^{ου} έτους. Έτσι, δεν υπάρχει ένδειξη ότι η μακροχρόνια χορήγηση αλενδρονάτης σε δόση 10 mg/ημέρα, μπορεί να οδηγήσει σε παγωμένο οστό λόγω υπέρμετρης καταστολής της οστικής ανακατασκευής.



Σχήμα 5.6. Μέση μεταβολή (μέση τιμή ±SEM) από την αρχική τιμή των δεικτών οστικής εναλλαγής A. U-NTX, B) U-DPD, C) S-OC και D) S-BAP, σε γυναίκες που έλαβαν αλενδρονάτη ή placebo για 30 μήνες. (* $p < 0,05$, † $p < 0,01$, ‡ $p < 0,05$, § $p < 0,01$ αλενδρονάτη σε σύγκριση με placebo) (ανατύπωση από Greenspan et al. [150]).

Οι μεταβολές των βιοχημικών δεικτών αντανακλούν την αναμενόμενη ανταπόκριση στη χορήγηση αλενδρονάτης όπως αυτή διαμορφώνεται από την συμμόρφωση στην αγωγή και άλλους εξατομικευμένους παράγοντες όπως π.χ. τον προηγούμενο ρυθμό οστικής εναλλαγής, τη μετεμμηνοπαυσιακή ηλικία κá. Οι μεταβολές των δεικτών απορρόφησης σε 6 μήνες από την έναρξη της αγωγής συσχετίζονται με τις επικείμενες μακροπρόθεσμες αυξήσεις της οστικής πυκνότητας σε διάφορες ανατομικές περιοχές, με συντελεστές συσχέτισης r μεταξύ $-0,35$ και $-0,41$ ($p < 0,01$) [150]. Παρομοίως, οι άμεσες μεταβολές της S-B-ALP έχουν καλή συσχέτιση με τις απώτερες αυξήσεις της οστικής πυκνότητας ($r = -0,22$ έως $-0,52$, $P < 0,05$). Λόγω της ικανότητάς τους να μεταβάλλουν τις συγκεντρώσεις τους στον ορό και τα ούρα σε σύντομο χρονικό διάστημα μετά την έναρξη της αγωγής, και της καλής συσχέτισης των πρώιμων αυτών μετρήσεων με την μελλοντική αύξηση της BMD, οι παραπάνω δείκτες οστικής εναλλαγής χρησιμεύουν ως δείκτες παρακολούθησης του θεραπευτικού αποτελέσματος της αλενδρονάτης (βλ. Κεφάλαιο 3. σελ 43).

Η κύρια δράση της αλενδρονάτης είναι η καταστολή της οστεοκλαστικής δραστηριότητας, η οποία αντανακλάται στην άμεση ελάττωση των δεικτών οστικής απορρόφησης στα ούρα. Η καθυστερημένη κατάσταση των επιπέδων των δεικτών

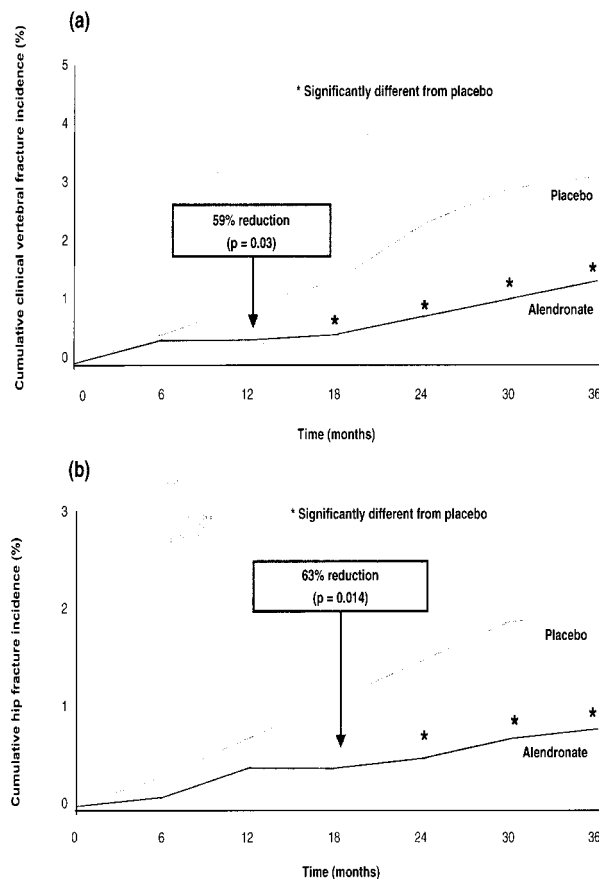
οστικής σύνθεσης, αποδίδεται γενικά στους αυτορρυθμιστικούς μηχανισμούς της σύζευξης των δύο φάσεων ανακατασκευής. Είναι γνωστό ότι η αλενδρονάτη δρα στην οστεοβλαστογένεση και τροποποιεί την παραγωγή μεσολαβητών που ρυθμίζουν την οστική ανακατασκευή. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η ιστομορφομετρική ανάλυση βιοψιών λαγονίου από 231 ασθενείς των μελετών 3^{ης} φάσης, συνηγορούν υπέρ της εγκατάστασης ενός θετικού ισοζυγίου οστικής εναλλαγής με την χορήγηση αλενδρονάτης [253]. Δυστυχώς δεν υπάρχουν μελέτες οι οποίες να ελέγχουν αν στις μεταβολές των βιοχημικών δεικτών αντανάκλαται διαταραχή του ισοζυγίου, με τη χορήγηση αλενδρονάτης.

5.6.3. ΕΠΙΔΡΑΣΗ της ΑΛΕΝΔΡΟΝΑΤΗΣ στη ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ ΚΑΤΑΓΜΑΤΩΝ

Η γενική πεποίθηση ότι η αλενδρονάτη μειώνει τη συχνότητα των οστεοπορωτικών καταγμάτων, στηριζόταν αρχικά στην ευεγερτική επίδρασή της στην οστική πυκνότητα και το ρυθμό της εναλλαγής. Όμως, η αύξηση της BMD σχετίζεται έμμεσα μόνον με τη μείωση της συχνότητας των καταγμάτων όπως έχει φανεί στο παρελθόν από τη χρήση παραγόντων που ενώ προκαλούσαν σημαντικές αυξήσεις στην οστική πυκνότητα, δεν πετύχαιναν μείωση της συχνότητας των καταγμάτων π.χ. φθόριο. Για την τεκμηρίωση της αντικαταγματικής δράσης της αλενδρονάτης σχεδιάστηκαν ειδικές πολυκεντρικές μελέτες που έχουν ως πρωτεύοντα στόχο την επίπτωση καταγμάτων.

Η *Fracture Intervention Trial (FIT)* είναι η 1^η γιγαντιαία μελέτη που μελετά και τεκμηριώνει την άμεση αντικαταγματική δράση ενός αντιοστεοκλαστικού παράγοντα, μετρώντας απευθείας τη μείωση της συχνότητας των καταγμάτων που προκύπτει από τη χορήγησή του. Περιέλαβε περισσότερες από 6000 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με χαμηλή οστική πυκνότητα ($< -1,6$ SD T-score), το ένα τρίτο των οποίων είχαν υποστεί ήδη ένα κάταγμα πριν την έναρξη της μελέτης, οι οποίες μετά την τυχαιοποίηση προσέλαβαν καθημερινά 5mg αλενδρονάτης επί 2 έτη και 10mg για ένα έτος ακόμη μαζί με συμπλήρωμα ασβεστίου, ή placebo. Ο σχεδιασμός της μελέτης [271] έγινε από το πανεπιστήμιο Καλιφόρνιας, Σαν Φρανσίσκο, σε συνεργασία με το κέντρο ερευνών της Merck και άλλα 11 κέντρα στις Η.Π.Α. Το ένα σκέλος της μελέτης FIT, το οποίο εκτιμούσε την επίδραση της αλενδρονάτης σε γυναίκες με προϋπάρχοντα μορφομετρικά κατάγματα ΣΣ (*Vertebral deformity Study*), έδειξε ότι η καθημερινή χορήγηση ΑΛΝ σε γυναίκες υψηλού κινδύνου προκάλεσε ελάττωση κατά 53% του κινδύνου μορφομετρικού κατάγματος, κατά 45% του κινδύνου κλινικού σπονδυλικού κατάγματος, κατά 49% του κινδύνου κατάγματος ισχίου και κατά 52% του κινδύνου κατάγματος καρπού [272]. Το άλλο σκέλος της FIT που περιελάμβανε γυναίκες με χαμηλή οστική πυκνότητα ($< -1,6$ SD T-score) χωρίς μορφομετρικά κατάγματα στη σπονδυλική στήλη (*Clinical Fracture*

Study), απέτυχε να δείξει στατιστικά σημαντική ελάττωση στην επίπτωση των κλινικών καταγμάτων παρά τη χορήγηση αλενδρονάτης [273]. Ωστόσο επιβεβαίωσε προηγούμενες μελέτες που ανέφεραν ελάττωση της συχνότητας των καταγμάτων κατά 44% σε γυναίκες με σοβαρή οστεοπόρωση ($< -2,5$ SD T-score) [264]. Επίσης η αγωγή προκάλεσε ελάττωση της συχνότητας των ακτινογραφικά διεγνωσμένων (ελάττωση του ύψους του σπονδυλικού σώματος κατά 20% ή 4mm) σπονδυλικών καταγμάτων κατά 50% περίπου σε σύγκριση με το placebo [273]. Στη μελέτη FIT, η μείωση της συχνότητας των καταγμάτων έγινε ορατή σύντομα μέσα στα πρώτα 1-2 έτη της αγωγής (βλέπε σχήμα 5.6). Παρόμοια, σημαντική και άμεση μείωση των μη σπονδυλικών καταγμάτων έχει αναφερθεί σε γυναίκες με οστεοπόρωση (BMD $< -2,5$ SD σε T-score), από το πρώτο κιόλας έτος της αγωγής [274].



Σχήμα 5.6. Αθροιστικό ποσοστό γυναικών με νέο κλινικό κάταγμα σπονδυλικής στήλης (α) και νέο κάταγμα ισχίου (β) σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με ιστορικό κατάγματος και BMD $< -2,5$ Sd T-score, που τυχαίοποιημένα πήραν αλενδρονάτη ή placebo (ανατύπωση από T. Schintzer [275]).

Η υψηλή αξιοπιστία της FIT έγκειται κυρίως στο ότι η συχνότητα των καταγμάτων αποτελεί προκαθορισμένο πρωτεύοντα στόχο. Στη μελέτη FIT γίνεται διάκριση μεταξύ παραμορφώσεων σπονδυλικών σωμάτων που εκτιμώνται *μορφομετρικά* και

σπονδυλικών καταγμάτων τα οποία διαπιστώνονται κλινικά. Έχουν περιγραφεί διάφορες δόκιμες **μορφομετρικές μέθοδοι** για τη διάγνωση “σπονδυλικών καταγμάτων” που αναγνωρίζουν δυσανάλογες σχέσεις στη μορφολογία των σπονδυλικών σωμάτων, μεταξύ πρόσθιου, κεντρικού και οπίσθιου σπονδυλικού ύψους και μεταξύ παρατηρούμενου οπίσθιου σπονδυλικού ύψους και αναμενόμενου από τις μετρήσεις γειτονικών σπονδύλων.

Η σχέση των σπονδυλικών παραμορφώσεων με την οστεοπόρωση δεν είναι διευκρινισμένη. Ήπιες παραμορφώσεις δηλ. ελάττωση του ύψους του σώματος μεταξύ -2 και -2,99 SD [276] από το μέσο ύψος πληθυσμού αναφοράς ή μικρότερη από 15% (Melton), είναι αρκετά συχνές στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες αλλά δεν σχετίζονται με ελαττωμένη οστική πυκνότητα και πρόκειται για ανατομικές παραλλαγές ή σφάλματα της μεθόδου [276,277]. Επίσης έχει αναφερθεί το φαινόμενο καταγεγραμμένες σπονδυλικές παραμορφώσεις να μην εντοπίζονται σε επανέλεγχο, πράγμα το οποίο μπορεί να αποδοθεί σε σφάλμα των επικρατούντων μορφομετρικών μεθόδων. Είναι ωστόσο πιθανό να πρόκειται για ελαστικές παραμορφώσεις [278] οι οποίες ανατάσσονται αυτόματα και ανακατασκευάζονται σύμφωνα με τις αρχές του *οστικού modeling*. Πειραματικά δεδομένα υποστηρίζουν ότι είναι δυνατή η επανάκτηση του μεγαλύτερου μέρους του ύψους σπονδυλικών σωμάτων μετά από συμπίεση και παραμόρφωση έως 50% του αρχικού ύψους *in vitro* [279]. Έτσι δεν είναι γνωστό εάν η παρουσία μιας σπονδυλικής παραμορφώσεως αρκεί για να ταξινομηθούν οι γυναίκες αυτές ως υψηλού κινδύνου για οστεοπορωτικό κάταγμα. Πάντως, σε άτομα με περισσότερες από δύο παραμορφώσεις, η οστική πυκνότητα βρέθηκε χαμηλότερη σε σχέση με τους μάρτυρες [276]. Απ’ αυτή την άποψη ίσως είναι προτιμότερη η χρήση του «*δείκτη σπονδυλικών καταγμάτων*» (*Spinal fracture Index*) που περιγράφει την αθροιστική παραμόρφωση της σπονδυλικής στήλης. Ο δείκτης αυτός σχετίζεται με μερικά κλινικά χαρακτηριστικά της οστεοπόρωσης χωρίς όμως οι συσχετισμοί να είναι πολύ ισχυροί [280]. Τα πλεονεκτήματα της χρήσης μορφομετρικών μεθόδων για την εκτίμηση της συχνότητας καταγμάτων στις κλινικές μελέτες είναι ότι έχουν καλή επαναληψιμότητα, παρέχουν δεδομένα σε συνεχή κλίμακα με μεγαλύτερες δυνατότητες στατιστικής επεξεργασίας και απαιτούν μικρότερα δείγματα καθώς εντοπίζουν περισσότερα “κατάγματα” απ’ ότι η κλινική μέθοδος. Η ταξινόμηση των σπονδυλικών καταγμάτων με μορφομετρικές μεθόδους και κριτήριο 15% ελάττωση δίνει επίπτωση “καταγμάτων” περίπου 50% μεγαλύτερη από ότι η διερεύνηση με γυμνό μάτι. Το κριτήριο 20% που χρησιμοποιήθηκε στη μορφομετρική μέθοδο της μελέτης FIT δίνει αποτελέσματα πολύ κοντά στην ακτινολογική διάγνωση με γυμνό μάτι [278].

Η μείωση του σχετικού κινδύνου κλινικών σπονδυλικών καταγμάτων είναι σημαντικό κριτήριο για την εκτίμηση της δράσης της αλενδρονάτης, γιατί τα κλινικά κατάγματα σε αντίθεση με τις σπονδυλικές παραμορφώσεις προκαλούν πόνο, έχουν θεραπευτικό κόστος στον τρόπο ζωής του ασθενούς και μπορεί να οδηγήσουν σε μόνιμη λειτουργική ανεπάρκεια. Η επίπτωση των οστεοπορωτικών καταγμάτων σε έναν πληθυσμό εξαρτάται από τον τρόπο καταγραφής και ταξινόμησης του κατάγματος, και τα κριτήρια επιλογής του δείγματος όπως η γεωγραφική προέλευση, η ηλικία και η οστική πυκνότητα. Ο υπολογισμός της επίπτωσης καταγμάτων εκτός σπονδυλικής στήλης σε προοπτικές μελέτες είναι εξαιρετικά δύσκολος, γιατί απαιτεί μεγάλο πλήθος δείγματος και μακροχρόνια παρακολούθηση. Δεδομένα από τη *Study for Osteoporotic Fractures* έχουν δείξει ότι για να ανιχνευθεί μια μείωση της επίπτωσης καταγμάτων ισχίου κατά 30%, με ισχύ μεθόδου 80% σε υγιείς ηλικιωμένες γυναίκες, απαιτείται δείγμα μεγέθους 2200 ατόμων και 5ετής τουλάχιστον παρακολούθηση [281]. Με τις συνθήκες στις οποίες διεξάγεται, η FIT έχει 90% ισχύ για να ανιχνεύσει μείωση 25% στην επίπτωση όλων μαζί των οστεοπορωτικών καταγμάτων (pooled), με την παραδοχή ότι η επίπτωση στους μάρτυρες είναι 4% ανά έτος [271].

Πίνακας 5.2. Σχετική μείωση κινδύνου κατάγματος ανάλογα με τον τύπο του κατάγματος και τον πληθυσμό ασθενών

πληθυσμός ασθενών	μέτρηση της αντικαταγματικής δράσης	χρονικό διάστημα	% μείωση	βιβλ.
μετεμνηνοπαυσιακές γυναίκες	ακτινολογικά κατάγματα (συμπ.κλινικά)	3-4,5	48%	[285]
με οστεοπόρωση (BMD T-score<-2,5 ή παρουσία σπονδυλικού κατάγματος)	πολλαπλά ακτινολογικά κατάγματα	3-4,5	87%	[285]
	κλινικά κατάγματα	3-4,5	45%	[285]
	κατάγματα ισχίου	3-4,5	53%	[285]
	μη σπονδυλικά κατάγματα	3-4,5	36%	[285]
	μη σπονδυλικά κατάγματα	1	47%	[274]
μετεμνηνοπαυσιακές γυναίκες με χαμηλή BMD (<-1,6) χωρίς κάταγμα	ακτινολογικά κατάγματα (συμπ.κλινικά)	4,5	44%	[273]
μετεμνηνοπαυσιακές γυναίκες με οστεοπενία (BMD> -2,5 & <-1,6)	κλινικά κατάγματα	3-4,5	60%	[286]
άνδρες με οστεοπόρωση (BMD<-2,5 ή παρουσία σπονδυλικού κατάγματος)	ακτινολογικά κατάγματα	2	89%	[287]
	απώλεια ύψους	2	75%	[287]

Αντίθετα με το Clinical Fracture τμήμα της FIT, η μελέτη *Fosamax International Trial (FOSIT)* που περιέλαβε 1908 γυναίκες με οστεοπόρωση (BMD<-2,5 SD, T-score),

αναφέρει ελάττωση των κλινικών καταγμάτων των άκρων κατά 47% σε 1 έτος [274]. Για να δικαιολογηθούν τα αποτελέσματα της FIT σύμφωνα με τα οποία σε μη οστεοπορωτικές γυναίκες δεν μειώνεται σημαντικά ο κίνδυνος κλινικού κατάγματος με τη χορήγηση ΑΛΝ, οι συγγραφείς επικαλούνται την πιθανή ύπαρξη κριτικού επιπέδου (κατώφλι) οστικής πυκνότητας κάτω από το οποίο συμβαίνουν κατάγματα. Όμως μάλλον είναι αποτέλεσμα του περιορισμού που επιβάλλει στη μελέτη ο μικρός σχετικός κίνδυνος κατάγματος που διατρέχουν οι υγιείς νέες γυναίκες.

Οι γυναίκες οι οποίες στα πλαίσια της μελέτης FIT πήραν αλενδρονάτη, είχαν 63% λιγότερες ημέρες παραμονής στο κρεβάτι λόγω άλγους στη ΣΣ, σε σύγκριση με τους μάρτυρες [282]. Το ποσοστό των γυναικών που χρειάστηκαν περισσότερες από 7 ημέρες κλινικοστατισμού λόγω άλγους ΣΣ ελαττώθηκε κατά 56% [282]. Ο πίνακας 5.2. συνοψίζει τα αποτελέσματα των πιο σημαντικών μελετών της αντικαταγματικής δράσης της αλενδρονάτης, ανάλογα με τον πληθυσμό και το τρόπο καταγραφής των καταγμάτων. Συστηματική μετα-ανάλυση των διπλών τυφλών, τυχαιοποιημένων, placebo-ελεγχόμενων πολυκεντρικών μελετών που ελέγχουν την αντικαταγματική δράση της ΑΛΝ σε απώτερα μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με χαμηλή BMD (συμπεριλαμβανομένων των μελετών 3^{ης} φάσης), συμπεραίνει ότι ο κίνδυνος κατάγματος ισχίου μειώνεται κατά 29% σε 2-3 έτη [283]. Δεδομένου ότι ο σχετικός κίνδυνος που διατρέχει εφ'όρου ζωής μια γυναίκα ηλικίας 60 ετών, με οστική πυκνότητα <-2 SD και να πάθει ένα κάταγμα ισχίου είναι 21% περίπου, απαιτείται η χορήγηση αλενδρονάτης για 2-3 χρόνια σε περίπου 16 τέτοιες γυναίκες για να προληφθεί ένα κάταγμα ισχίου [284].

5.7. ΑΛΕΝΔΡΟΝΑΤΗ και ΠΡΟΛΗΨΗ ΜΕΤΕΜΜΗΝΟΠΑΥΣΙΑΚΗΣ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗΣ

Μεγάλες προοπτικές μελέτες εμφανίστηκαν μεταξύ 1998 και 2000 οι οποίες δείχνουν ότι η αλενδρονάτη αυξάνει την οστική πυκνότητα και προστατεύει από την οστική απώλεια άμεσα μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες οστεοπόρωση [148,288]. Η μια από αυτές τις μελέτες (*EPIC*) συγκρίνει δύο δοσολογικά σχήματα αλενδρονάτης 2,5 και 5 mg με δύο τύπους ορμονικής υποκατάστασης [148]. Η BMD αυξήθηκε κατά 4% στη ΣΣ και 3% περίπου στο ισχίο μετά από 4 έτη χορήγησης 5mg αλενδρονάτης σε σύγκριση με αντίστοιχες μειώσεις 3% και 2% στους μάρτυρες.

Άλλες εφαρμογές της αντιοστεοκλαστικής δράσης της αλενδρονάτης

Το ευεργετικό αποτέλεσμα της αλενδρονάτης στην οστική εναλλαγή και την οστική πυκνότητα, έχει αποδειχθεί σε άνδρες με οστεοπόρωση [287], ασθενείς που λαμβάνουν κορτικοστεροειδή [289], και σε παιδιά με ρευματοειδή αρθρίτιδα [290].

ΚΥΚΛΙΚΗ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΑΛΕΝΔΡΟΝΑΤΗΣ

Σύμφωνα με τη θεωρία της στοιχειώδους οστικής ανακατασκευής, η οστική σύνθεση διαδέχεται την οστική απορρόφηση. Οι δύο αυτές φάσεις οστικής ανακατασκευής συνδέονται μεταξύ τους και μέσω διαφόρων τοπικών παραγόντων επηρεάζεται η μία από την άλλη. Δεν είναι γνωστό με ποιο τρόπο επιτυγχάνεται η χωροταξική και χρονική αλληλουχία των κυτταρικών γεγονότων. Είναι όμως γνωστό ότι οι διάφορες ορμόνες οι οποίες είναι υπεύθυνες για την οστική απορρόφηση που επιτυγχάνεται μέσω των οστεοκλαστών, δρουν παράλληλα στα κύτταρα της οστεοβλαστικής σειράς, τα οποία με τη σειρά τους προάγουν την ενεργοποίηση των οστεοκλαστών και την οστεοκλαστογένεση. In vitro μελέτες που ασχολήθηκαν με την οστεοκλαστική απορρόφηση, έδειξαν ότι η παρουσία οστεοβλαστών ήταν απαραίτητη για να εκδηλωθεί η οστεολυτική δράση διαφόρων παραγόντων, όπως π.χ. η PTH, PTHrP, 1,25(OH)₂VitD₃, TNFa, TNFb [291,292]. Όπως επίσης έχει προαναφερθεί, είναι επίσης πλέον γνωστό ότι τα αμινοδιφωσφονικά επιδρούν τόσο στους οστεοκλάστες [200] όσο και στους οστεοβλάστες [246, 247] in vitro.

Στην πράξη, επειδή υπό φυσιολογικές συνθήκες οι δύο φάσεις οστικής ανακατασκευής βρίσκονται στενά συνδεδεμένες και εξισορροπημένες, επεμβαίνοντας με τη χορήγηση κάποιου παράγοντα στην οστική απορρόφηση, σχεδόν πάντοτε επηρεάζεται και η οστική σύνθεση προς την ίδια κατεύθυνση [293]. Αυτό έγινε πλήρως αντιληπτό με τη χρήση των βιοχημικών δεικτών οστικής εναλλαγής, οι οποίοι αντανακλούν την συνολική μεταβολή στην οστική απορρόφηση και σύνθεση στο σύνολο των μονάδων οστικής ανακατασκευής. Κατά τη διάρκεια συνεχούς χορήγησης κάποιου αντιοστεολυτικού παράγοντα π.χ. αλενδρονάτης, παρατηρείται άμεση μείωση των επιπέδων των δεικτών απορρόφησης η οποία ακολουθείται από *αντισταθμιστική ελάττωση* των συγκεντρώσεων των δεικτών σύνθεσης [261,262,263].

Σε κάθε χρονική στιγμή σε μια οστική επιφάνεια παρατηρείται ένας αριθμός βασικών μονάδων οστικής ανακατασκευής οι οποίες βρίσκονται σε διαφορετική φάση. Ορισμένη ποσότητα οστίτη ιστού έχει απομακρυνθεί συνολικά από τους οστεοκλάστες χωρίς να έχει προλάβει να αναπληρωθεί από τους οστεοβλάστες. Ο κενός αυτός χώρος ονομάζεται *χώρος ανακατασκευής (remodeling space)*. Το μέγεθός του εξαρτάται από τον αριθμό των ενεργών θέσεων οστικής εναλλαγής (συχνότητα ενεργοποίησης), το βάθος και την πρόοδο απορρόφησης. Η χορήγηση αλενδρονάτης έχει σαν αποτέλεσμα τη γρήγορη συρρίκνωση του χώρου ανακατασκευής (remodeling transient) κατά το πρώτο έτος θεραπείας. Το φαινόμενο αυτό αντικατοπτρίζεται τόσο στις μεταβολές των συγκεντρώσεων των δεικτών οστικής εναλλαγής στον ορό ή τα ούρα, όσο και στις

μεταβολές της οστικής πυκνότητας που είναι μικρότερες μετά το 1^ο έτος θεραπείας [266].

Η κυκλική χορήγηση ενός αντιοστεολυτικού παράγοντα, έχει σαν στόχο το *συγχρονισμό των μονάδων ανακατασκευής* και την επιλεκτική καταστολή της απορρόφησης, αφήνοντας «ανεπηρέαστη» τη φάση της οστικής σύνθεσης. Επειδή ο μηχανισμός της παροδικής ανακατασκευής (remodeling transient) λειτουργεί και προς τις δύο κατευθύνσεις με τον ίδιο τρόπο, το χρονικό διάστημα που ακολουθεί τη σύντομη χορήγηση και είναι ελεύθερο οστεοκλαστικής καταστολής, νέες θέσεις ενεργοποίησης εμφανίζονται και ο χώρος ανακατασκευής εκπύσσεται. Έτσι στο νέο κύκλο αγωγής η σύνθεση αναμένεται να προχωρά σε μεγαλύτερο χώρο ανακατασκευής με πιθανό αποτέλεσμα ένα θετικό ισοζύγιο σύνθεσης σε κάθε κύκλο [294]. Σύμφωνα με αυτή τη θεωρία, από την άποψη των δεικτών οστικής εναλλαγής, η καμπύλη μείωσης των δεικτών σύνθεσης που εμφανίζει καθυστέρηση σε σχέση με την απορρόφηση, αναμένεται να ανακάμπτει κατά το ελεύθερο αγωγής διάστημα. Από την άποψη της οστικής πυκνότητας αναμένεται η αύξηση στο τέλος του πρώτου έτους να είναι μικρότερη σε σχέση με τη συνεχή χορήγηση, καθώς η παροδική ανακατασκευή προχωρά και προς τις δύο κατευθύνσεις σε όλη τη διάρκεια του 1^{ου} κύκλου remodeling.

Ειδικές στερεολογικές τεχνικές έχουν αναπτυχθεί ώστε να επιτυγχάνεται ο υπολογισμός του καθαρού ισοζυγίου σύνθεσης-απορρόφησης για κάθε κύκλο οστικής εναλλαγής, με βάση ιστομορφομετρικές παραμέτρους [295]. Θεωρητικά, ένα μαθηματικό μοντέλο με ιστομορφομετρικές παραμέτρους θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για να προσομοιάσει την κυκλική χορήγηση. Στην πραγματικότητα δεν είναι γνωστό πως και αν επηρεάζεται η σύνδεση απορρόφησης-σύνθεσης με την κυκλική χορήγηση ή πόσο πρέπει να διαρκούν τα διαστήματα σύντομης χορήγησης και τα ελεύθερα διαστήματα που εναλλάσσονται. Επίσης είναι άγνωστο αν τα σχήματα αυτά υπερτερούν της συνεχόμενης χορήγησης σχετικά με τη μείωση των οστεοπορωτικών καταγμάτων. Θεωρητικά, ο κίνδυνος *διάτρησης οστικών δοκίδων* που αποτελεί έναν σημαντικό παράγοντα που επηρεάζει την αντοχή των οστών, δεν αναμένεται να μειώνεται με τη διακεκομμένη χορήγηση αντιοστεολυτικής αγωγής. Διάτρηση συμβαίνει όταν σε μια βασική μονάδα ανακατασκευής που εντοπίζεται πάνω σε μια λεπτή δοκίδα, το βάθος απορρόφησης υπερβαίνει το πάχος της δοκίδας. Είναι μια μη αναστρέψιμη διαδικασία γιατί οι οστεοβλάστες αδυνατούν να γεφυρώσουν το χάσμα. Ο κίνδυνος διάτρησης αυξάνεται είναι ανάλογα με την αύξηση της συχνότητας ενεργοποίησης.

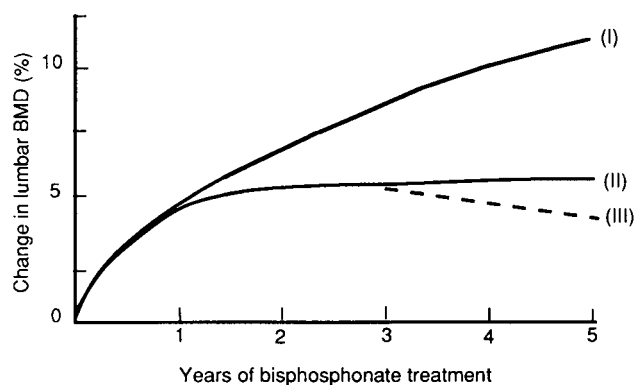
Η καλσιτονίνη και η ετιδρονάτη έχουν δοκιμασθεί σε σχήματα κυκλικής χορήγησης κυρίως για να ξεπεραστούν τα προβλήματα της μείωσης της ανταπόκρισης και της προσβολής της επιμετάλλωσης που εμφανίζονται αντιστοίχως με τη συνεχή χορήγησή

τους. Η κυκλική χορήγηση καλσιτονίνης (2/1 μήνες ή 3/3 μήνες) για ένα έτος, φαίνεται ότι παρέχει ικανοποιητική προστασία από την οστική απώλεια σε άμεσα μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με χαμηλή οστική μάζα [296], γυναίκες με ωθηκεκτομή [297] και μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με σοβαρή οστεοπόρωση [298].

Η κυκλική χορήγηση διφωσφονικών παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον γιατί πρόκειται για συνθετικούς παράγοντες οι οποίοι έχουν μεγάλο χρόνο ημίσειας ζωής με αποτέλεσμα να κατακρατούνται ενταφιασμένοι στα οστά με δυνατότητα επανενεργοποίησης αν ωστόσο αποκαλυφθούν από μια νέα θέση απορρόφησης. Η αποτελεσματικότητα της διακεκομμένης χορήγησης ετιδρονάτης έχει μελετηθεί εκτενώς. Δύο μεγάλες διπλές-τυφλές, placebo-ελεγχόμενες μελέτες έδειξαν ότι η εναλλαγή 2 εβδομάδων καθημερινής χορήγησης με 11-13 εβδομάδες ελεύθερο διάστημα, είχε σαν αποτέλεσμα την αύξηση της οστικής πυκνότητας της οσφυϊκής μοίρας της σπονδυλικής στήλης κατά 4,2-5% σε 2-3 χρόνια [299,300]. Η μεγαλύτερη αύξηση επιτυγχάνεται κατά το πρώτο έτος χορήγησης και μετά επέρχεται σταθεροποίηση, όπως γίνεται και με τη συνεχή χορήγηση οιστρογόνων ή καλσιτονίνης. Τα νέα επίπεδα οστικής πυκνότητας διατηρούνται για όσο διάστημα συνεχίζεται η αγωγή (έως 5 έτη) [300,301], παρότι η ιστομορφομετρική ανάλυση βιοψιών λαγονίου δείχνει ότι ο ρυθμός οστικής εναλλαγής επανέρχεται στα αρχικά επίπεδα μετά το 3ο έτος χορήγησης [300]. Σε διάφορες μικρότερες μελέτες ελέγχεται η αποτελεσματικότητα της διακεκομμένης χορήγησης άλλων ισχυρότερων διφωσφονικών από το στόμα. Με την κλοδρονάτη [302] και την παμιδρονάτη [303,304] επιτυγχάνεται αύξηση της οστικής μάζας παρόμοια με αυτήν που αποφέρει η ετιδρονάτη, με τη διαφορά ότι διαφαίνεται μια τάση μείωσης μετά τα πρώτα έτη (βλ. Σχ.6.1). Η μελέτη των βιοχημικών δεικτών οστικής εναλλαγής δείχνει ότι τα διακεκομμένα σχήματα ετιδρονάτης, ή ριζενδρονάτης ή παμιδρονάτης ενδοφλέβια, προκαλούν άμεση πτώση των δεικτών απορρόφησης, που μέσα σε λίγες εβδομάδες ακολουθείται από αργή αύξηση που ενίοτε φθάνει την αρχική τιμή πριν το 2^ο κύκλο χορήγησης, ανάλογα με την ισχύ του διφωσφονικού και τη διάρκεια του ελεύθερου αγωγής διαστήματος. Η μείωση των δεικτών σύνθεσης είναι μικρότερη και πιο αργή και έχει μικρές αποκλίσεις μετά από μερικούς κύκλους χορήγησης [306].

Δεδομένα για τα αποτελέσματα των κυκλικών σχημάτων χορήγησης αντιστοστεολυτικών παραγόντων στην επίπτωση των *οστεοπορωτικών καταγμάτων* υπάρχουν μόνον για την ετιδρονάτη και αποδεικνύουν ότι η κυκλική χορήγηση ετιδρονάτης μειώνει την επίπτωση νέων σπονδυλικών καταγμάτων, μείωσης σωματικού ύψους και εμφάνισης παραμορφώσεων της σπονδυλικής στήλης [300], ειδικά σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες μεγαλύτερης ηλικίας με σοβαρή οστεοπόρωση και

πιθανόν αυξημένη οστική εναλλαγή που διατρέχουν αυξημένο κίνδυνο καταγμάτων [301].



Σχήμα 6.1 Σχηματική απεικόνιση των μακροπρόθεσμων μεταβολών της οστικής πυκνότητας της οσφυϊκής μοίρας της σπονδυλικής στήλης σε οστεοπορωτικούς ασθενείς ο οποίοι λαμβάνουν θεραπευτική αγωγή με διφωσφονικά. Η απεικόνιση αυτή συνοψίζει τα αποτελέσματα διαφόρων μελετών. (I) Προοδευτική αύξηση με συνεχή χορήγηση χαμηλών δόσεων αμινοδιφωσφονικών, (II) Πρώιμη αύξηση και μετέπειτα σταθεροποίηση με επιδρονάτη διακεκομμένα και (III) Άμεση αύξηση, σταθεροποίηση και τάση για απώτερη μείωση με άλλα διακεκομμένα σχήματα από στόματος (ανατύπωση από Delmas P [305]).

Σχετικά με την διακεκομμένη χορήγηση αλενδρονάτης υπάρχουν ελάχιστα δεδομένα. Έχει αναφερθεί ότι χορηγούμενη ενδοφλέβια σε δόσεις 5mg την ημέρα επί 2 συνεχείς ημέρες κάθε 3 μήνες προκαλεί μεγάλη αύξηση της οστικής πυκνότητας κατά 9% περίπου σε ένα έτος [306]. Στις πειραματικές προκλινικές μελέτες όπου η χορήγηση αλενδρονάτης γινόταν ενδοφλέβια κάθε 2 εβδομάδες, επετεύχθησαν δοσοεξαρτώμενες αυξήσεις της οστικής πυκνότητας ποντικών [217] ή μπαμπούνινων πιθήκων με ωοθηκεκτομή [220]. Φαίνεται μάλιστα, ότι για τέτοια μικρά και συχνά σχήματα με ελεύθερα διαστήματα μικρότερα των 2 εβδομάδων έχει μεγαλύτερη σημασία η αθροιστική δόση παρά η συχνότητα χορήγησης της δραστικής ουσίας.

Πρόσφατα κυκλοφόρησε σκεύασμα αλενδρονάτης 70 mg για άπαξ εβδομαδιαία χορήγηση από το στόμα. Τα σχήματα εβδομαδιαίας/70mg και συνεχόμενης/10mg χορήγησης, είναι ισοδύναμα ως προς την αύξηση της οστικής πυκνότητας και τη μείωση των επιπέδων των δεικτών οστικής εναλλαγής σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με σοβαρή οστεοπόρωση [275]. Η λογική της εβδομαδιαίας χορήγησης αλενδρονάτης στηρίζεται κυρίως στην φαρμακοκινητική συμπεριφορά της ουσίας και λιγότερο στη θεωρία του συγχρονισμού των μονάδων οστικής ανακατασκευής. Στοχεύει στην κατακράτηση μεγαλύτερης ποσότητας του φαρμάκου η οποία αντίστοιχα θα καταλάβει μεγαλύτερη έκταση ενεργών θέσεων απορρόφησης, με αποτέλεσμα να προκαλέσει παρατεταμένη μείωση του συνολικού ρυθμού απορρόφησης [24]. Αυτή η προσέγγιση είναι διαφορετική από την κυκλική χορήγηση γιατί το ελεύθερο διάστημα είναι μικρότερο

από το χρόνο που διαρκεί η φάση της απορρόφησης (2-3 εβδομάδες) και έτσι η καταστολή της απορρόφησης είναι συνεχόμενη.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αλενδρονάτη (ΑΛΝ), όπως έχει φανεί από τις μελέτες που αναφέρθηκαν στο γενικό μέρος, είναι ένας ισχυρός αντιοστεοκλαστικός παράγοντας που χορηγούμενος από του στόματος καθημερινά, προκαλεί μείωση του ρυθμού οστικής εναλλαγής σε προεμμηνοπαυσιακά επίπεδα [261] και οδηγεί σε σημαντική (7,4-9,6% σε ΟΜΣΣ και 3,5-5,8% σε αυχένα μηριαίου σε 3 έτη [261,262,263,264]) και προοδευτική [265] αύξηση της οστικής πυκνότητας, μειώνοντας παράλληλα κατά 50% περίπου [264,274]) τον κίνδυνο οστεοπορωτικών καταγμάτων σε απώτερα μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με οστεοπόρωση. Έχει εκλεκτική δράση της στο σκελετό, τεκμηριωμένη καλή ανοχή και ασφάλεια.

Η μελέτη αυτή σχεδιάστηκε για να αξιολογήσει τα αποτελέσματα χορήγησης ΑΛΝ από του στόματος για την *θεραπεία της μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης και την πρόληψη της μετεμμηνοπαυσιακής οστικής απώλειας*. Στηριζόμενοι όμως στη φυσιολογία της οστικής ανακατασκευής και κυρίως σε συγκεκριμένες ιδιότητες της ΑΛΝ, υποθέσαμε ότι ένας πιο επιτηδευμένος τρόπος χορήγησης όπως η *διακεκομμένη χορήγηση, μπορεί να έχει πολύ καλά αποτελέσματα με μικρότερες αθροιστικές δόσεις*. Η υπόθεσή μας στηρίζεται στα εξής: α) Θεωρητικά, η κυκλική χορήγηση μιας οποιασδήποτε αντιοστεοκλαστικής αγωγής μπορεί να επηρεάσει θετικά το ισοζύγιο απορρόφησης—σύνθεσης (βλ.σελ. 74). β) Ειδικά τα διφωσφονικά όπως η ΑΛΝ, έχουν την ιδιότητα να κατακρατούνται στο οστόν όπου πιθανόν να ασκούν αντιοστεοκλαστική δράση όταν επανέρχονται στην επιφάνεια, όπως υποδεικνύεται από την διατήρηση της αύξησης της οστικής πυκνότητας και από την παραμονή των δεικτών οστικής εναλλαγής σε χαμηλότερα επίπεδα σε σχέση με μάρτυρες αρκετό διάστημα μετά τη διακοπή της αγωγής [149,151,311,312]. Επιπλέον, καθώς η καταστολή των δεικτών απορρόφησης προηγείται της σύνθεσης, η εναλλαγή περιόδων καταστολής με ελεύθερα αγωγής διαστήματα, πιθανό να οδηγεί στη δημιουργία ενός παραθύρου κατά το οποίο το ισοζύγιο σύνθεσης-απορρόφησης. Τα παραπάνω υποστηρίζονταν από μελέτες οι οποίες είχαν ήδη δείξει ότι μερικά διακεκομμένα σχήματα διφωσφονικών που χορηγούμενα από του στόματος π.χ. επιδρονάτη [299,300,301], κλοδρονάτη [302,309], ή ενδοφλέβια π.χ. παμιδρονάτη [303 και τιλουδρονάτη [310, αυξάνουν την BMD και μειώνουν σημαντικά τους δείκτες οστικού μεταβολισμού. Χορηγήσαμε λοιπόν ένα κυκλικό διακεκομμένο σχήμα 10mg ΑΛΝ ημερησίως από του στόματος. Η περίοδος του

διακεκομμένου κυκλικού σχήματος επιλέχθηκε να είναι 2 μήνες γιατί: α) Όφειλε να είναι μεγαλύτερη από το διάστημα που διαρκεί η φάση της απορρόφησης (περίπου 3-4 εβδομάδες), β) εφόσον με τη συνεχή χορήγηση ALN οι δείκτες οστικής απορρόφησης φθάνουν το ναδίρ τους σε 1-3 μήνες, και οι δείκτες σύνθεσης καθυστερούν φθάνοντας το ναδίρ τους σε 6-9 μήνες, η έναρξη του ελεύθερου διαστήματος κατά το διάστημα κατάσπασης των δεικτών απορρόφησης, θεωρήθηκε ότι θα είχε σαν αποτέλεσμα οι δείκτες σύνθεσης να αρχίζουν να αυξάνονται από υψηλότερο επίπεδο πριν ακόμη μειωθούν σημαντικά και γ) παρόμοια χρονοδιαγράμματα προηγούμενα δοκιμασμένων σχημάτων κυκλικής χορήγησης καλσιτονίνης [296,297,299] είχαν καλά αποτελέσματα. Για την αξιολόγηση και σύγκριση των αποτελεσμάτων συνεχούς ή διακεκομμένης χορήγησης αλενδρονάτης, στην πρόληψη μετεμμηνοπαυσιακής οστικής απώλειας και θεραπεία της οστεοπόρωσης, χορηγήθηκε αλενδρονάτη σε τρεις ομάδες μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών και αντίστοιχους παράλληλους μάρτυρες :

α) άμεσα μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (ΑΜΕΠ) με $BMD < -1,5 SD$ T-score (πρόληψη οστεοπόρωσης)

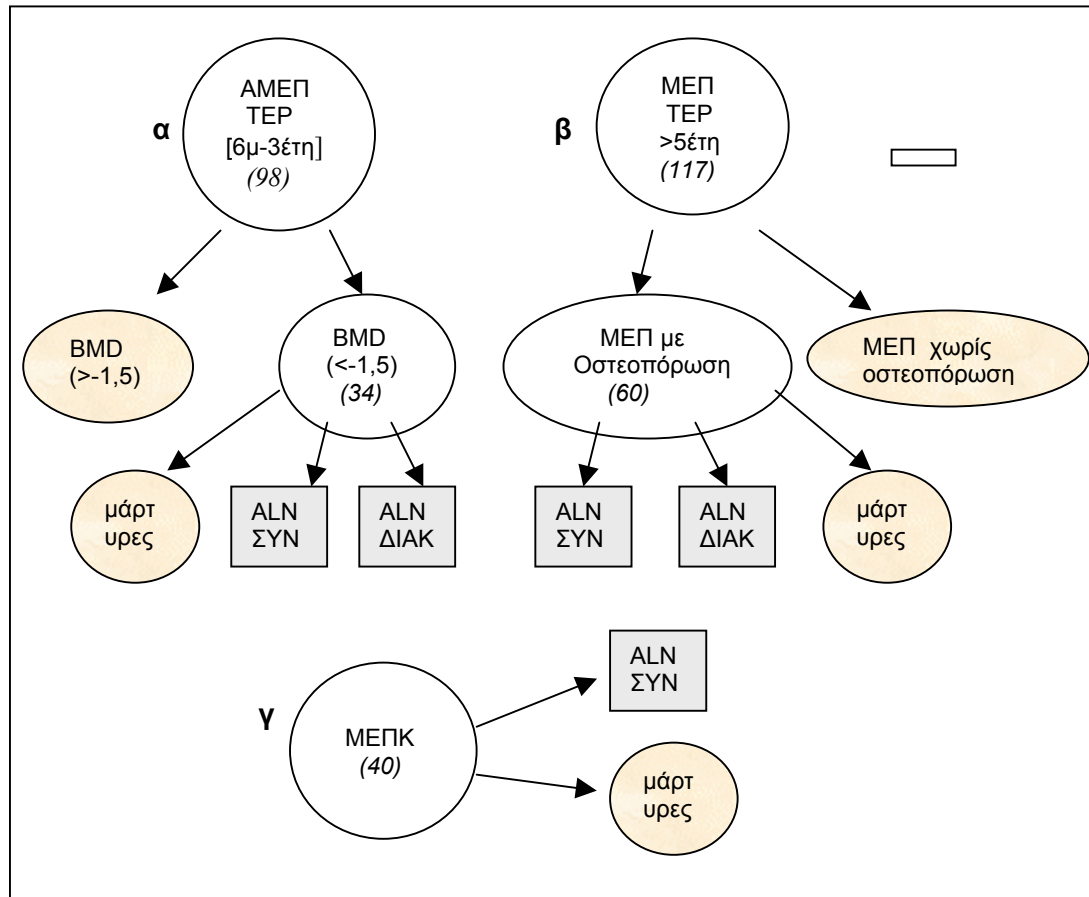
β) απώτερα μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (ΜΕΠ) με οστεοπόρωση ($BMD < -2,5 SD$ T-core), χωρίς κλινικά κατάγματα (θεραπεία οστεοπόρωσης)

γ) μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με οστεοπορωτικό κάταγμα (ισχίου) (ΜΕΠΚ) και οποιαδήποτε BMD (θεραπεία οστεοπόρωσης).

Στις δύο πρώτες ομάδες ΜΕΠ γυναικών χορηγήθηκαν τυχαίοποιημένα 10mg ALN σε συνεχές ή διακεκομμένο σχήμα, και συγκρίθηκαν τα αποτελέσματα μεταξύ των δύο σχημάτων και με παράλληλους μάρτυρες. Η αποτελεσματικότητα της αγωγής αξιολογήθηκε με βάση τις μεταβολές που προκάλεσαν α) στην BMD στην ΟΜΣΣ και στον αυχένα του μηριαίου και β) στα επίπεδα των νεώτερων βιοχημικών δεικτών οστικής εναλλαγής στον ορό και τα ούρα. Στη γ ομάδα (ΜΕΠΚ) το διακεκομμένο σχήμα δεν χορηγήθηκε γιατί δεν υπήρχαν βιβλιογραφικά δεδομένα σχετικά με την επίδραση της διακεκομμένης χορήγησης στον κίνδυνο καταγμάτων ασθενών με σοβαρή οστεοπόρωση.

Για την επιλογή των ατόμων που συμμετείχαν στη μελέτη, εξετάστηκε ένας μεγάλος αριθμός γυναικών που προσήλθαν οικειοθελώς ανταποκρινόμενες στις μεθόδους επιστράτευσης που χρησιμοποιήσαμε. Από το σύνολο των γυναικών αυτών εξαιρέθηκαν όσες αποδείχθηκε ότι είχαν κάποιο παθολογικό πρόβλημα π.χ. ενδοκρινολογικό. Οι γυναίκες που είχαν τελευταία έμμηνου ρύση (ΤΕΡ) 6 μήνες – 3 έτη νωρίτερα και $BMD < -1,5 SD$, αποτέλεσαν την ομάδα Α και αυτές με ΤΕΡ >5 ετών και $BMD < -2,5 SD$, την ομάδα Β. Όλες οι γυναίκες συνολικά δηλ. είτε μπήκαν σε μια από τις δύο ομάδες είτε όχι, αποτέλεσαν έναν πληθυσμό κατάλληλο για να μελετηθεί η σχέση του οστικού

μεταβολισμού με διάφορες επιδημιολογικές παραμέτρους π.χ. το σωματικό βάρος. Οι γυναίκες με τα κατάγματα ήταν ασθενείς που προσκομίστηκαν για αντιμετώπιση στην Ορθοπαιδική κλινική του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ηρακλείου.



Σχήμα 1. Ταξινόμηση των επιστρατευμένων γυναικών σε ομάδες.

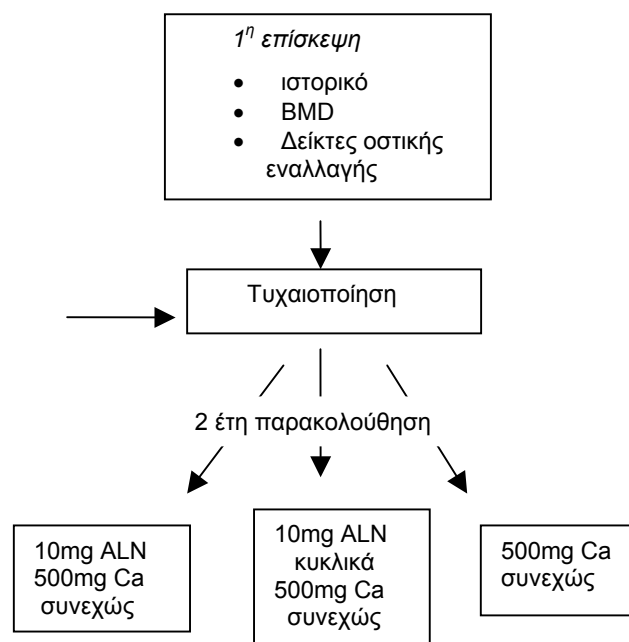
1.2. ΜΕΘΟΔΟΙ

Η επιστράτευση των υποψηφίων για τα σκέλη α και β, έγινε από το γενικό πληθυσμό με διαφημιστικές μεθόδους και κλήση από τα δημοτολόγια του Δήμου Ηρακλείου. Για να συμμετάσχει στη μελέτη μια γυναίκα έπρεπε να είναι 48-80 ετών, με καλή γενική υγεία, τουλάχιστον 6 μήνες μετεμμηνοπαυσιακή και να μην έχει πάρει ποτέ φάρμακα που να παρεμβαίνουν στον οστικό μεταβολισμό. Η επιλογή των ατόμων που συμμετείχαν έγινε με τη χρήση συγκεκριμένων κριτηρίων αποκλεισμού τα οποία περιγράφονται στον πίνακα 1.1. Απαραίτητη ήταν η συγκατάθεση του ατόμου μετά από την πληροφόρησή του σχετικά με τους σκοπούς της μελέτης. Τελικά η πλειονότητα των επιλεγμένων γυναικών ήταν μη καπνίστριες, κάτοικοι αγροτικών περιοχών με μεσογειακή διατροφή, εμπλουτισμένη με αρκετό κρέας και γαλακτοκομικά προϊόντα.

Κριτήρια αποκλεισμού

1. σοβαρά προβλήματα υγείας π.χ. καρδιακή ανεπάρκεια, σοβαρή αρτηριακή υπέρταση, νεφρική ανεπάρκεια (κρεατινίνη>1
2. γαστροδωδεκαδακτυλικό έλκος, πρόσληψη αντιόξινων συστηματικά
3. διαταραχές μεταβολισμού π.χ. υπερ / υπο-θυρεοειδισμός, σακχαρώδης διαβήτης, υπερπαραθυρεοειδισμός
4. Ορμονική υποκατάσταση ή πρόσληψη καλσιτονίνης, διφωσφονικών ή κορτιζόνης στο παρελθόν
5. Πρόσφατες μεταβολές σωματικού βάρους> 10% του ιδανικού
6. κατάχρηση αλκοόλ

Στην τυχαιοποίηση συμπεριλήφθηκαν οι άμεσα και απώτερα υγείς μετεμνηνοπαυσιακές γυναίκες, με χαμηλή BMD ($< -1,5$ SD T-score) ή οστεοπόρωση (BMD $< -2,5$ SD T-score) αντίστοιχα στην ΟΜΣΣ ή τον αυχένα του μηριαίου. Η πρώτη εκτίμηση των γυναικών που συμμετείχαν περιελάμβανε ενημέρωση, συλλογή ανθρωπομετρικών στοιχείων όπως σωματικό βάρος, ύψος και μέτρηση της οστικής πυκνότητας σε Ο1-4 σπονδύλους ΟΜΣΣ, και Δεξί ισχίο και συλλογή δειγμάτων αίματος για έναν βασικό έλεγχο με σκοπό τον αποκλεισμό υποψηφίων με προβλήματα υγείας και διαταραχές μεταβολισμού. Παράλληλα γίνονταν οι προσδιορισμοί των βιοχημικών δεικτών οστικής εναλλαγής σε ορό και ούρα. Αργότερα οι γυναίκες εντάχθηκαν τυχαία σε τρεις ομάδες, έτσι ώστε να λαμβάνουν 10mg αλενδρονάτης κάθε ημέρα και συνεχώς (ομάδα Α) , 10mg αλενδρονάτης καθημερινά για διάστημα δύο μηνών με παρεμβολή διαστήματος δύο μηνών χωρίς αγωγή και επανάληψη του κύκλου (ομάδα Β), και ομάδα μαρτύρων (ομάδα C).



Σχήμα 1.2. Σχεδιασμός των σκελών α, β της μελέτης

Η χορήγηση της αλενδρονάτης γινόταν το πρωί τουλάχιστον μισή ώρα πριν τη λήψη οποιασδήποτε υγρής ή στερεής τροφής. Όλες οι γυναίκες που συμμετείχαν ελάμβαναν 500mg ανθρακικού ασβεστίου καθημερινά και χωρίς διακοπή (σχήμα 1.1). Η χορήγηση του ασβεστίου γινόταν 2 ώρες μετά το βραδινό γεύμα χωρίς παράλληλη πρόσληψη στερεής ή υγρής τροφής για να εξασφαλιστεί η καλύτερη απορρόφηση. Σε όλες τις γυναίκες (ομάδα α και β) πριν την έναρξη της αγωγής έγινε προσδιορισμός βιοχημικών δεικτών οστικής εναλλαγής στον ορό και τα ούρα. Το διάστημα που μεσολαβούσε μεταξύ της μέτρησης της οστικής πυκνότητας και της τυχαιοποίησης δεν ήταν μεγαλύτερο των δύο μηνών.

Η παρακολούθηση διήρκεσε 2 έτη και περιέλαβε τα εξής: σε 3 μήνες από την έναρξη της αγωγής προσδιορισμό δεικτών οστικής εναλλαγής σε όλες τις γυναίκες εκτός από τους μάρτυρες, σε 6 μήνες προσδιορισμό δεικτών και στις τρεις ομάδες, σε 1 έτος και σε 2 έτη νέα μέτρηση οστικής πυκνότητας και δεικτών οστικής εναλλαγής και στις τρεις ομάδες. Έτσι έγινε δυνατή η *προοπτική* εκτίμηση των αποτελεσμάτων της συνεχούς ή κυκλικής χορήγησης αλενδρονάτης στην οστική εναλλαγή και την οστική απώλεια μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών με χαμηλή οστική πυκνότητα.

Τα άτομα της ομάδας (γ) συλλέχθηκαν από την Ορθοπαιδική Πανεπιστημιακή Κλινική, όπου νοσηλεύονταν για αντιμετώπιση του κατάγματος ισχίου που είχαν υποστεί. Επιλέχθηκαν άτομα, με καλή νοητική λειτουργία και καλή προηγούμενη κινητική κατάσταση που μπορούσαν να κάθονται κατά την έξοδό τους από την κλινική σε καρέκλα και να βαδίζουν με τη βοήθεια περιπατητήρα. Ο σκοπός της επιλογής ήταν να εξασφαλιστεί η συνεργασία των ασθενών και να ελαχιστοποιηθεί η πιθανότητα πρόκλησης οισοφαγίτιδας λόγω γαστροοισοφαγικής παλινδρόμησης που επιδεινώνεται με την κατάκλιση.

1.3. ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΣΤΙΚΗΣ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑΣ

Η οστική πυκνότητα μετρήθηκε με τη μέθοδο διπλής απορροφησιομετρίας με ακτίνες X, και τη συσκευή QDR 1000 (Hologic, Inc), στο δεξί ισχίο και την ΟΜΣΣ. Οι μετρήσεις έγιναν όλες από τον ίδιο χειριστή, με σταθερή μέθοδο για την τοποθέτηση των συμμετεχόντων, την επιλογή των περιοχών ενδιαφέροντος (ROI) και την ανάλυση των δεδομένων. Για τον ποιοτικό έλεγχο της συσκευής η χειρίστρια προέβαινε σε καθημερινή ρύθμιση με τη χρήση σταθερού ανθρωπομετρικού ομοιώματος.

Η οστική πυκνότητα των γυναικών μετρήθηκε αρχικά πριν την τυχαιοποίηση σε ομάδες, και πάλι ένα και 2 έτη μετά την έναρξη της αγωγής. Στους ασθενείς με κατάγματα η 2^η μέτρηση έγινε ένα έτος μετά. Η BMD στην ΟΜΣΣ μετρήθηκε προσθοπίστια, στους σπονδύλους Ο1-Ο4. Η *μακροπρόθεσμη επαναληψιμότητα*

(precision) in vitro υπολογίστηκε βάσει 125 μετρήσεων BMD που έγιναν σε διάστημα 2 ετών, και βρέθηκε (CV) = 0,29%. Η βραχυπρόθεσμη επαναληψιμότητα in vivo, υπολογίστηκε κάνοντας δύο μετρήσεις με ενδιάμεση επανατοποθέτηση σε 6 άτομα ($CV\% = \frac{\sqrt{\sum(a-b)^2}}{2n} \times 100 / (\bar{a} + \bar{b} / 2)$, n=6). Με βάση η μακροπρόθεσμη επαναληψιμότητα in vivo, υπολογίζεται να είναι περίπου 0,97% ($\sqrt{0,29^2 + 0,9^2}$) και 1,23% ($\sqrt{0,29^2 + 1,2^2}$), για την ΟΜΣΣ και τον αυχένα αντίστοιχα. Η μέτρηση οστικής μάζας περιελάμβανε και τη μέτρηση του μήκους του άξονα του μηριαίου αυχένα (HAL) με ειδικό προγραμματισμό του Hologic.

1.4. ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΣΤΙΚΟΥ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΥ

Η εκτίμηση του μεγέθους της επίδρασης που έχει η αλενδρονάτη τον οστικό μεταβολισμό, έγινε με τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων δεικτών οστικής απορρόφησης και σύνθεσης.

Για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων των δεικτών οστικής σύνθεσης στον ορό, συλλέχθηκαν πρωινά δείγματα αίματος μετά από 12ωρη ολονύκτια νηστεία. Όμοια, συλλέχθηκαν ούρα 24ώρου για να μετρηθούν τα επίπεδα των δεικτών οστικής απορρόφησης, αποφεύγοντας την διακύμανση που οφείλεται στο ρυθμό διούρησης και τον κικάρδιο κύκλο. Η απέκκριση των δεικτών απορρόφησης διορθώθηκε ως προς την απέκκριση κρεατινίνης. Όλοι οι βιοχημικοί προσδιορισμοί έγιναν στο εργαστήριο Κλινικής Χημείας-Βιοχημείας του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Ηρακλείου, με τη χρήση των ακολούθων αναγνωρισμένων εμπορικών δοκιμασιών:

Η Οστεοκαλσίνη ορού (S-OC) μετρήθηκε με μια συναγωνιστική ανοσοαντίδραση (NovoCalcin[®], Metra Biosystems, USA) η οποία χρησιμοποιεί μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού και πολυκλωνικό αντίσωμα κουνελιού που αναγνωρίζουν μόνο το ακέραιο (intact) κλάσμα ανθρώπινης οστεοκαλσίνης. Ο αναλυτικός και αναλογικός συντελεστής μεταβλητότητας (intra- και inter-assay coefficient of variation) ήταν μικρότερος του 5%.

Το C-προπεπτιδίο προκολλαγόνου τύπου I ορού (S-PICP) μετρήθηκε με την EIA (Procollagen-C[®], Metra Biosystems, USA) που χρησιμοποιεί μονοκλωνικό και πολυκλωνικό αντίσωμα εναντίον του PICP που προέρχεται από τους ανθρώπινους ινοβλάστες. Το όριο ανίχνευσης ήταν 1.0 ng/ml. Ο αναλυτικός και αναλογικός συντελεστής μεταβλητότητας ήταν μικρότερος του 5%.

Η ειδική οστική αλκαλική φωσφατάση ορού (S-B-ALP) μετρήθηκε με την EIA (Alkphase-B[®], Metra Biosystems, USA) που χρησιμοποιεί μονοκλωνικό αντίσωμα επίμυος, το οποίο αναγνωρίζει εκλεκτικά το οστικό ισοένζυμο της ALP, ενώ αντιδρά ασθενώς με το ηπατικό ισοένζυμο και σχεδόν καθόλου με το εντερικό. Ο αναλυτικός και αναλογικός συντελεστής μεταβλητότητας ήταν μικρότερος του 5%.

Η ελεύθερη δεοξυπυριδινολίνη ούρων (U-DPD) μετρήθηκε με την EIA (Pyrilinks[®]-D, Metra Biosystems, USA) με μονοκλωνικό αντίσωμα εναντίον της ελεύθερης πυριδινολίνης. Ο αναλυτικός και αναλογικός συντελεστής μεταβλητότητας ήταν μικρότερος του 5%.

Οι πυριδινολίνες ούρων (U-PYD) μετρήθηκαν αντίστοιχα με την EIA (Pyrilinks[®], Metra Biosystems, USA) που χρησιμοποιεί μονοκλωνικό αντίσωμα με μεγάλη συγγένεια για την ελεύθερη πυριδινολίνη και δεοξυπυριδινολίνη. Ο αναλυτικός και αναλογικός συντελεστής μεταβλητότητας ήταν μικρότερος του 10%.

Το αζωτοτελικό διασταυρούμενο τελοπεπτιδίο του κολλαγόνου I ούρων (U-NTX-I) μετρήθηκε με την EIA (Osteomark[®], Ostex International, USA), που χρησιμοποιεί μονοκλωνικό αντίσωμα επίμυος εναντίον του NTX-I. Ο αναλυτικός και αναλογικός συντελεστής μεταβλητότητας ήταν μικρότερος του 5%.

Το καρβοξυτελικό διασταυρούμενο τελοπεπτιδίο του κολλαγόνου I ούρων (U-CTX-I) μετρήθηκε με δοκιμασία την EIA (CrossLapsEIA, CIS Biointernational, France) που χρησιμοποιεί ένα αντίσωμα που αναγνωρίζει επιλεκτικά την αλληλουχία ¹²⁰⁷EKAHD-β-GGR¹²¹⁴ (8 AA), του καρβοξυτελικού τελοπεπτιδίου της αλυσίδας 1 του κολλαγόνου I, όπου η Asp μπορεί να βρίσκεται με τη μορφή α ή β ισομερούς. Ο αναλυτικός και αναλογικός συντελεστής μεταβλητότητας ήταν μικρότερος του 9,5%. Στη χρήση της ονοματολογίας και του συνοπτικού συμβολισμού των βιοχημικών δεικτών, εφαρμόστηκαν οι οδηγίες των Delmas et al 2000 [313], όπως τροποποιήθηκαν από την Επιστημονική Επιτροπή του Διεθνούς Ιδρύματος για την οστεοπόρωση (IOF) [314].

1.5.ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Η ποσοστιαία μεταβολή υπολογίστηκε αναλογικά επί της αρχικής τιμής, από τη διαφορά τελικής από την αρχική τιμή. Όμοια υπολογίστηκαν και οι ποσοστιαίες μεταβολές των βιοχημικών δεικτών. Όλες οι μεταβλητές ελέγχθηκαν για την κανονική τους κατανομή με stem and leaf διαγράμματα και τη δοκιμασία Lilliefors. Για τη στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν παραμετρικές δοκιμασίες. Οι μεταβλητές περιγράφονται με τις μέσες τιμές +/- τη σταθερή απόκλιση. Για τη σύγκριση των μέσων τιμών της οστικής πυκνότητας και των δεικτών οστικής εναλλαγής μεταξύ των τριών ομάδων εφαρμόστηκε ανάλυση της μεταβλητότητας κατά μια κατεύθυνση (ANOVA) και posthoc ανάλυση με Student Neumann Keuls test για τον εντοπισμό των διαφορών μεταξύ των ομάδων. Η σύγκριση των τελικών τιμών με τις αρχικές έγινε με paired t-test. Η ομοιογένεια του βαθμού διασποράς ελέγχθηκε με το Levene's Test for Homogeneity of Variance. Όλες οι δοκιμασίες έγιναν με επίπεδο P δύο κατευθύνσεων το 0,05.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ- Η ΣΧΕΣΗ ΣΩΜΑΤΙΚΟΥ ΔΕΙΚΤΗ ΜΕ ΤΟ ΡΥΘΜΟ ΟΣΤΙΚΗΣ ΕΝΑΛΛΑΓΗΣ ΣΤΙΣ ΜΕΤΕΜΗΝΟΠΑΥΣΙΑΚΕΣ ΓΥΝΑΙΚΕΣ

2.1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός αυτής της μελέτης ήταν να εκτιμηθεί ο σωματικός δείκτης (BMI) ως ανθρωπομετρικός παράγοντας που σχετίζεται με το ρυθμό οστικής εναλλαγής και το ισοζύγιο οστικής εναλλαγής κατά την εμμηνόπαυση. Για τον σκοπό αυτό υπολογίστηκε ο BMI, στο σύνολο των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών (n=130) που συμμετείχαν στη μελέτη είτε είχαν χαμηλή είτε φυσιολογική οστική πυκνότητα. Σε όλες τις γυναίκες είχε γίνει μέτρηση οστικής πυκνότητας σε ΟΜΣΣ (BMD_{SP}) και αυχένα του μηριαίου (BMD_{FN}), όπως και των βιοχημικών δεικτών οστικής εναλλαγής S-OC, S-B-ALP, S-PICP, U-DPD, U-PYD, U-NTX-I και U-CTX-I. Υπολογίστηκαν οι δείκτες οστικού ισοζυγίου, αφαιρώντας τα z-scores των δεικτών απορρόφησης από τα z-scores των δεικτών σύνθεσης, ώστε να εκτιμηθεί το ισοζύγιο οστικής εναλλαγής. Οι συγκεντρώσεις του S-PICP ($r = -0,297$, $P = 0,002$) και της S-OC ($r = -0,173$, $P = 0,05$), και οι δείκτες ισοζυγίου ($zPICP - zDPD$) και ($zPICP - zPYD$) συσχετίζονταν αρνητικά με το BMI ($r = -0,25$, $P = 0,01$ και $r = -0,21$, $P = 0,037$), και με την BMD_{SP} ($r = -0,196$, $P = 0,032$, $r = -0,275$, $P = 0,022$ αντίστοιχα). Ανάλογα με το BMI οι γυναίκες χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες: Φυσιολογικές ($BMI < 25 \text{ kg/m}^2$), υπέρβαρες ($BMI = 25 - 30 \text{ kg/m}^2$) και παχύσαρκες ($BMI > 30 \text{ kg/m}^2$). Οι υπέρβαρες και παχύσαρκες είχαν χαμηλότερα επίπεδα S-PICP κατά 30% περίπου σε σύγκριση με τις φυσιολογικές ($68,11 \pm 24,85 \text{ ng/ml}$ και $66,41 \pm 24,93 \text{ ng/ml}$ έναντι $97,47 \pm 23,36 \text{ ng/ml}$, $P = 0,0001$). Οι δείκτες ισοζυγίου που υπολογίστηκαν με βάση το S-PICP, ($zPICP - zDPD$, $zPICP - zPYD$, $zPICP - zCTX-I$), ήταν επίσης σημαντικά μειωμένοι στις παχύσαρκες σε σύγκριση με τις φυσιολογικές γυναίκες ($P = 0,027$, $P = 0,0028$, $P = 0,02$).

Με βάση τα δεδομένα αυτά, μπορούμε να συμπεράνουμε ότι στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, ο σωματικός δείκτης συσχετίζεται αρνητικά με τα επίπεδα S-PICP. Οι παχύσαρκες γυναίκες εμφανίζουν μειωμένη σύνθεση κολλαγόνου I σε σχέση με την αποδόμηση. Επειδή όμως το εύρημα αυτό δε συνοδεύεται από αντίστοιχη μείωση της οστικής πυκνότητας, φαίνεται ότι ο υψηλός BMI επηρεάζει με διαφορετικό τρόπο την εξωσκελετική και την οστική ανακατασκευή κολλαγόνου I.

2.2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Σημαντικό μέρος της βιβλιογραφίας υποστηρίζει την υπόθεση ότι το αυξημένο σωματικό βάρος προδιαθέτει σε υψηλότερη οστική πυκνότητα και προστατεύει από την οστική απώλεια. Αυτό επιβεβαιώνεται από πολλές δημοσιευμένες μελέτες οι οποίες βρίσκουν σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ σωματικού βάρους [319,320,321] ή αύξησης βάρους [322] με μετρήσεις οστικής πυκνότητας ή με το ρυθμό οστικής απώλειας [323, 324] σε υγιείς και σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Επιπλέον πολλοί συγγραφείς υποστηρίζουν ότι η προστατευτική δράση του αυξημένου σωματικού βάρους επιτείνεται και έχει ιδιαίτερη σημασία σε περιβάλλον οιστρογονικής ανεπάρκειας όπως π.χ. κατά την εμμηνόπαυση [324,325].

Η μειωμένη σχετικά οστική απώλεια των παχύσαρκων γυναικών έχει αποδοθεί στους χαμηλούς ρυθμούς οστικής εναλλαγής. Πράγματι, παλαιότερες μελέτες υποστηρίζουν ότι η οστική απορρόφηση, όπως αντανakλάται στους προσδιορισμούς ασβεστίου/κρεατινίνη ούρων [324,325, 326], τείνει να μειώνεται καθώς το σωματικό βάρος αυξάνεται. Οι ελάχιστες πρόσφατες μελέτες που μετράνε το ρυθμό οστικής εναλλαγής με νεώτερους βιοχημικούς δείκτες, αναφέρουν ότι ο BMI συσχετίζεται αρνητικά με κάποιους από τους δείκτες αυτούς π.χ. S-PINP, S-OC, U-NTX-I, με δείκτη συσχέτισης r μεταξύ 0,12 και 0,34 [118, 327].

Ορισμένοι συγγραφείς παρατηρούν ότι η σχετιζόμενη με το σωματικό βάρος επιβράδυνση του μεταβολισμού αφορά μόνον την φάση της οστικής απορρόφησης, και τείνουν να πιστέψουν ότι καθώς αυξάνεται η ποσοστιαία διαφορά από το ιδανικό βάρος, η σύζευξη μεταξύ σύνθεσης και απορρόφησης διαταράσσεται [326]. Πράγματι, υπάρχουν ενδείξεις ότι οι γυναίκες με σοβαρή απόκλιση του βάρους τους από το μέσο BMI, παρουσιάζουν διαταραχές του οστικού ισοζυγίου. Για παράδειγμα τόσο γυναίκες με νευρική ανορεξία [328], όσο και πολύ παχύσαρκες γυναίκες με ανδροειδή φαινότυπο [329], εμφανίζουν μια σχετική αύξηση της οστικής απορρόφησης σε σχέση με τη σύνθεση. Γι αυτό η σχέση μεταξύ του BMI και της οστικής εναλλαγής δεν είναι πλήρως διευκρινισμένη. Είναι πιθανόν γυναίκες με αυξημένο σωματικό βάρος να εμφανίζουν διαταραχές της οστικής εναλλαγής και της σύζευξης μεταξύ σύνθεσης και απορρόφησης.

Σε αυτή τη μελέτη, εκτιμάται η επίδραση του BMI στον οστικό σχηματισμό και απορρόφηση και τη σύζευξή τους σε περιβάλλον οιστρογονικής ανεπάρκειας, δηλ σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Η αρχική μας υπόθεση ήταν ότι σε υγιείς μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, ο BMI επηρεάζει αρνητικά το ρυθμό οστικής εναλλαγής και το οστικό ισοζύγιο. Γυναίκες δηλ. με υψηλό BMI θα μπορούσαν να έχουν μικρότερους ρυθμούς οστικής σύνθεσης, χωρίς ταυτόχρονη επιβράδυνση της οστικής απορρόφησης. Για το λόγο αυτό διερευνήσαμε τη σχέση BMI με τους δείκτες οστικής

σύνθεσης και απορρόφησης και την οστική πυκνότητα στην ΟΜΣΣ και αυχένα του μηριαίου σε 130 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που συμμετείχαν στη μελέτη. Επιπλέον για να μελετηθεί η επίδραση του BMI στο οστικό ισοζύγιο, υπολογίσαμε τους δείκτες ισοζυγίου σύμφωνα με τους Eastell et al [78] Rogers et al [118], από τα z-scores της S-OC, S-PICP και των δεικτών απορρόφησης.

2.3. ΜΕΘΟΔΟΙ

Ο σωματικός δείκτης υπολογίστηκε από το σωματικό βάρος και το ύψος κατά τη διάρκεια της μέτρησης της οστικής πυκνότητας.

Οι δείκτες οστικής εναλλαγής εκφράστηκαν ως αποκλίσεις από τη μέση τιμή (z-score) για να μπορούν να συγκριθούν και υπολογίστηκαν οι δείκτες ισοζυγίου ως διαφορές των z-score των δεικτών σύνθεσης από τους δείκτες απορρόφησης.

Όλες οι μεταβλητές ελέγχθηκαν ως προς την κανονική τους κατανομή με stem and leaf διαγράμματα και τη δοκιμασία Lilliefors για την κανονικότητα της κατανομής τους. Οι μέσες τιμές, τα 95% διαστήματα αξιοπιστίας τους και οι σταθερές αποκλίσεις δίνονται για κάθε μεταβλητή. Για να μετρηθεί ο βαθμός συσχέτισης μεταξύ των δεικτών οστικής εναλλαγής, σωματικού δείκτη, ηλικίας και δεικτών ισοζυγίου, υπολογίστηκε ο δείκτης συσχέτισης Pearson (r) με δύο κατευθύνσεων επίπεδο $P < 0,05$. Τεχνικές μερικής συσχέτισης (partial correlation coefficient) χρησιμοποιήθηκαν για να εκτιμηθεί η συσχέτιση μεταξύ των δεικτών οστικής εναλλαγής και BMI μετά από διόρθωση ως προς την οστική πυκνότητα και την ηλικία. Γραμμική παλίνδρομη ανάλυση εφαρμόστηκε για να περιγραφεί η σχέση μεταξύ BMI και PICP σύμφωνα με το γραμμικό μοντέλο, μετά από έλεγχο για παραβίαση των παραδοχών για παραμετρικές δοκιμασίες.

Μονοδρομική ανάλυση μεταβλητότητας (ANOVA) χρησιμοποιήθηκε για να συγκριθούν οι μέσες τιμές των δεικτών σύνθεσης και απορρόφησης, τα z-scores τους, οι δείκτες οστικού ισοζυγίου, η ηλικία, τα έτη από την τελευταία έμμηνο ρύση και η BMD, ανάμεσα στις τρεις ομάδες. Πολλαπλές συγκρίσεις μεταξύ των ομάδων (post hoc) έγιναν με τη βοήθεια της δοκιμασίας Scheffé.

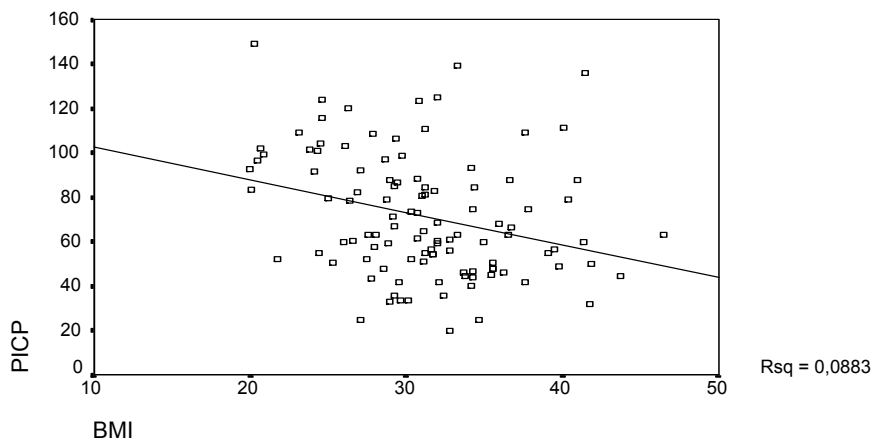
2.4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα δεδομένα μας σχετικά με τους δείκτες οστικής εναλλαγής, όπως φάνηκε μετά τις σχετικές δοκιμασίες, προέρχονται από κανονική κατανομή ($P < 0,022$). Τα περιγραφικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού φαίνονται στον πίνακα 2.1. Ο μέσος BMI ήταν $28,34 \text{ kg/m}^2$, περίπου 20% των γυναικών είχαν $\text{BMI} < 25 \text{ kg/m}^2$, 35% μεταξύ 25 και 30 kg/m^2 , 38% μεταξύ 30 και 40 kg/m^2 και 7% $> 40 \text{ kg/m}^2$.

Πίνακας 2.1. Περιγραφικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού (N=130)

	Μέση τιμή	SEM	SD	95Pct CI για τη μέση τιμή
ΗΛΙΚΙΑ(έτη)	55,49	0,63	8,17	54,24-56,73
BMI(kgr/m ²)	28,34	0,54	6,09	30,32-32,65
Έτη από ΤΕΡ	8,81	0,95	8,9	6,93-10,68
B-ALP(u/L)	21,09	0,66	6,88	19,78-22,41
OC(ng/ml)	10,7	0,44	3,59	9,82-11,57
PICP(ng/ml)	73,36	2,84	21,48	68,73-75,97
D-PYR(nM/nMCreat)	8,12	0,33	3,39	7,47-8,78
PYR(nM/nMCreat)	30,95	1,43	9,23	27,9-33,61
NTx(BCE/nmole Cr)	75,07	4,28	22,72	66,72-82,77
CTx (μg/mMCreat)	282,37	18,26	74,86	243,46-315,29
BMDspine(gms/cm ²)	0,736	0,011	0,113	0,715-0,758
BMDneck(gms/cm ²)	0,873	0,014	0,146	0,845-0,901

Στον πίνακα 2.2. αναφέρονται οι διμερείς (bivariate) δείκτες συσχέτισης (Pearson's) για τους βιοχημικούς δείκτες οστικής σύνθεσης (S-B-ALP, S-OC, S-PICP) και απορρόφησης (U-PYD, U-DPD, U-NTX-I, U-CTX-I) και BMI στα δεδομένα μας. Οι γυναίκες με υψηλότερο BMI είχαν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα S-PICP ($r = -0,297$, $P = 0,002$).



Σχήμα 2.1. Γραφική παράσταση της σχέσης S-PICP με BMI, σύμφωνα με το γραμμικό μοντέλο

Στο σχήμα 2.1. παριστάνεται γραφικά η συσχέτιση S-PICP και BMI σύμφωνα με το γραμμικό μοντέλο ($P = 0,0017$, $R^2 = 0,088$, $B = -1,47$, 95% CI για το B [-2,38, -0,56]). Η S-OC εμφάνισε σημαντική συσχέτιση με το BMI, μόνον μετά από διόρθωση ως προς την ηλικία ($r = -0,185$, $P = 0,048$). Οι δείκτες συσχέτισης μεταξύ του S-PICP και των υπόλοιπων δεικτών οστικής σύνθεσης (S-OC και S-B-ALP), δεν βελτιώθηκαν μετά από διόρθωση ως προς το BMI, πράγμα που σημαίνει ότι το BMI δεν επηρεάζει τις συγκεντρώσεις του PICP ορού μέσω π.χ. αύξησης της κάθαρσής του.

Πίνακας 2.2. Δείκτες διμερούς συσχέτισης μεταξύ των βιοχημικών δεικτών οστικής εναλλαγής, Σωματικού δείκτη και ηλικίας

	OC	PICP	D-PYR	PYR	NTx	CTx	AGE	BMI
B-SAP	$r=0,258$ $P=0,002$	$r=0,215$ $P=0,01$	$r=0,039$ $P=0,656$	$r=0,128$ $P=0,16$	$r=0,365$ $P=0,000$	$r=0,27$ $P=0,002$	$r=0,195$ $P=0,021$	$r= - 0,054$ $P=0,574$
OC		$r=0,122$ $P=0,147$	$r=0,102$ $P=0,241$	$r=0,136$ $P=0,135$	$r=0,363$ $P=0,000$	$r=0,42$ $P=0,000$	$r=0,159$ $P=0,078$	$r= - 0,173$ $P=0,05$
PICP			$r=0,854$ $P=0,336$	$r=0,217$ $P=0,017$	$r=0,153$ $P=0,091$	$r=0,292$ $P=0,001$	$r= - 0,027$ $P=0,776$	$r= - 0,297$ $P=0,002$
D-PYR				$r=0,56$ $P=0,000$	$r=0,369$ $P=0,001$	$r=0,287$ $P=0,002$	$r= - 0,05$ $P=0,57$	$r= - 0,058$ $P=0,551$
PYR					$r=0,153$ $P=0,185$	$r=0,234$ $P=0,013$	$r= - 0,07$ $P=0,391$	$r= - 0,049$ $P=0,676$
NTx						$r=0,676$ $P=0,000$	$r=0,118$ $P=0,275$	$r= - 0,167$ $P=0,176$
CTx							$r=0,0283$ $P=0,754$	$r= - 0,22$ $P=0,17$
AGE								$r=0,127$ $P=0,157$

Οι δείκτες οστικού ισοζυγίου υπολογίστηκαν βάσει των z-scores των δεικτών οστικής απορρόφησης και των z-scores της S-OC και των S-PICP. Στον πίνακα 2.3 αναφέρονται οι μερικοί συντελεστές συσχέτισης μεταξύ των δεικτών ισοζυγίου και του BMI μετά την διόρθωση για την ηλικία. Όπως φαίνεται στον πίνακα 2.4., οι δείκτες ισοζυγίου που σχετίζονται σημαντικά με το BMI είναι μεταξύ αυτών που εμφανίζουν και την καλύτερη συσχέτιση με την οστική πυκνότητα στην ΟΜΣΣ. Απεναντίας δεν παρουσιάζουν σημαντική συσχέτιση με την BMD στον αυχένα του μηριαίου.

Με σκοπό να περιοριστεί η επίδραση της ηλικίας και της οστικής μάζας στους δείκτες οστικής εναλλαγής και το BMI, όπως και η τεχνική επίδραση του σωματικού βάρους στη BMD, χρησιμοποιήσαμε τεχνικές μερικής συσχέτισης με διόρθωση ως προς τους παράγοντες αυτούς. Έτσι, μετά από διόρθωση τόσο για την ηλικία όσο και για την BMD_{SP} , τα επίπεδα ορού PICP ήταν ο μοναδικός δείκτης που επέμενε να εμφανίζει σημαντική συσχέτιση με το BMI (3^{ης} τάξης $r= - 0,207$, $P= 0,04$). Αυτό το εύρημα δείχνει με σαφήνεια ότι και μεταξύ των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών με όμοια ηλικία και οστική πυκνότητα, οι γυναίκες με μεγαλύτερο BMI έχουν χαμηλότερους ρυθμούς σύνθεσης κολλαγόνου τύπου I. Με πολλαπλή παλίνδρομη ανάλυση

Πίνακας 2.3. Μερικοί συντελεστές συσχέτισης μεταξύ BMI και δεικτών ισοζυγίου, μετά από διόρθωση ως προς την ηλικία (N=130)

Δείκτες ισοζυγίου	BMI
zOC-zDPD	$r = -0,172$ ($P=0,081$)
zOC-zPYD	$r = -0,14$ ($P=0,17$)
zOC-zNTX-I	$r = 0,02$ ($P=0,84$)
zOC-zCTX-I	$r = -0,007$ ($P=0,94$)
zPICP-zDPD	$r = -0,26$ ($P=0,01$)
zPICP-zPYD	$r = -0,21$ ($P=0,037$)
zPICP-NTX-I	$r = 0,18$ ($P=0,88$)
zPICP-zCTX-I	$r = -0,11$ ($P=0,32$)

συσχέτισης, και περιλαμβάνοντας την ηλικία, BMD_{SP} , BMD_{FN} , S-PICP, και τελικά την S-OC, η BMD_{FN} και η ηλικία αποδείχθηκαν οι καλύτεροι προγνωστικοί παράγοντες του BMI ($B=24,16$, $P<0,0001$ and $B=0,23$, $P=0,0012$) και μετά ακολούθησε το S-PICP ($B=-0,035$, $P=0,047$).

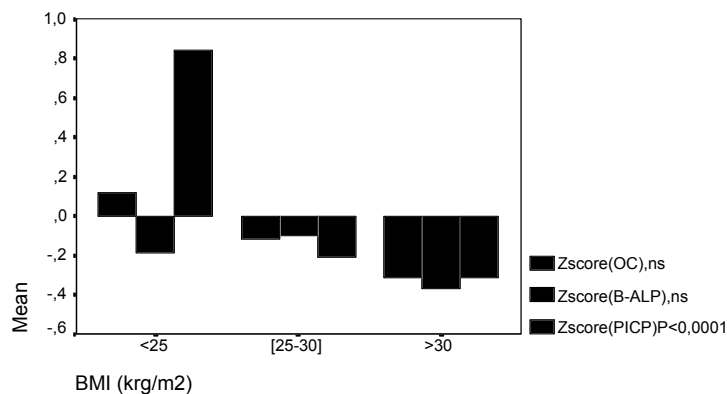
Πίνακας 2.4. Συντελεστές συσχέτισης (Spearman's rank) μεταξύ BMD και δεικτών οστικού ισοζυγίου (N=130)

	zOC-zDPD	zOC-zPYD	zOC-zNTX-I	zOC-zCTX-I	zPICP-zDPD	zPICP-zPYD	zPICP-zNTX-I
BMDSP	$r = -0,16$ $P=0,072$	$r = -0,2$ $P=0,03$	$r = -0,071$ $P=0,515$	$r = -0,037$ $P=0,68$	$r = -0,196$ $P=0,032$	$r = -0,28$ $P=0,022$	$r = -0,059$ $P=0,59$
BMDFN	$r = -0,039$ $P=0,675$	$r = -0,03$ $P=0,75$	$r = -0,032$ $P=0,778$	$r = -0,046$ $P=0,625$	$r = -0,066$ $P=0,48$	$r = -0,11$ $P=0,257$	$r = -0,039$ $P=0,733$

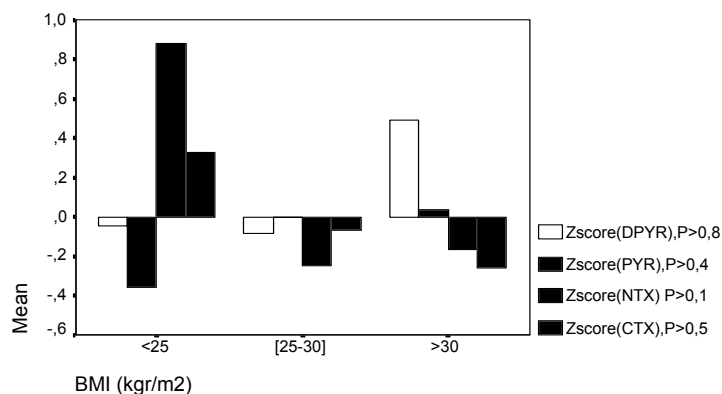
Οι γυναίκες χωρίστηκαν σε τρεις ομάδες ανάλογα με το BMI. Η ομάδα A περιέλαβε τις γυναίκες με $BMI < 25 \text{ kg/m}^2$ (φυσιολογικές), η ομάδα B αυτές με $BMI 25-30 \text{ kg/m}^2$ (υπέρβαρες) και η ομάδα C αυτές με $BMI > 35 \text{ kg/m}^2$ (παχύσαρκες). Η μέση συγκέντρωση S-PICP ήταν 30% μικρότερη στις ομάδες B και C σε σύγκριση με την ομάδα A ($68,11 \pm 24,86$ και $66,41 \pm 26,22$ vs $97,47 \pm 23,36$, ANOVA: $P=0,0001$). Η ισχύς της δοκιμασίας που έγινε για τη σύγκριση ήταν περίπου 85% με πιθανότητα α λάθους 0,05. Καμία ομάδα δεν βρέθηκε να διαφέρει σημαντικά ($<0,05$) από κάποια άλλη όταν συγκρίθηκαν ως προς τις μέσες τιμές S-B-ALP, S-OC, U-PYD, U-DPD, U-NTX-I and U-CTX-I.

Τα z-scores των δεικτών οστικής εναλλαγής υπολογίστηκαν ως διαφορά των τιμών από τη μέση τιμή. Η μέση τιμή των z-scores των δεικτών απορρόφησης και σύνθεσης στις τρεις ομάδες αναπαριστάνεται σαν ιστόγραμμα στα σχήματα 2.2. και 2.3. Και οι τρεις ομάδες είχαν ίδια μέση ηλικία (ANOVA, $P=0,79$), και ίδια μέση εμμηνόπαυσιακή

ηλικία (ANOVA, $P=0,11$). Η ομάδα A είχε σημαντικά μεγαλύτερη μέση τιμή zPICP ($P=0,0001$), και μεγαλύτερη όχι όμως στατιστικά σημαντικά μέση τιμή zNTX-I ($P>0,1$) και zCTX-I ($P>0,5$). Οι μέσες τιμές (zPICP-zDPD), (zPICP-zCTX-I) και (zPICP-zPYD) ήταν σημαντικά μειωμένες στην ομάδα των παχύσαρκων γυναικών σε σχέση με τις φυσιολογικές ($P=0,072$, $P=0,02$, $P=0,0028$ αντίστοιχα). Σχετικά με την οστική πυκνότητα οι παχύσαρκες γυναίκες είχαν μεγαλύτερη BMD_{SP} από τις υπέρβαρες και τις φυσιολογικές ($0,909\pm 0,15$ gr/cm^2 vs $0,812\pm 0,106$ gr/cm^2 and $0,799\pm 0,12$ gr/cm^2 αντίστοιχα, ANOVA $P=0,0004$). Τα αποτελέσματα ήταν παρόμοια για την BMD_{FN} ($0,7881\pm 0,108$ gr/cm^2 vs $0,675\pm 0,078$ gr/cm^2 and $0,658\pm 0,105$ αντίστοιχα, ANOVA $P=0,000001$).



Σχήμα 2.2. Μέση τιμή zscores των δεικτών οστικής σύνθεσης στις τρεις ομάδες γυναικών



Σχήμα 2.3. Μέση τιμή zscores των δεικτών οστικής απορρόφησης στις τρεις ομάδες γυναικών

2.5.ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η ανάλυση των δεδομένων μας έδειξε με σαφήνεια ότι τα επίπεδα S-PICP συσχετίζονται αρνητικά με το σωματικό δείκτη μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών, με συντελεστή συσχέτισης r ίσο περίπου με 0,3. Η S-OC επίσης είχε μια τάση να μειώνεται καθώς ο BMI αυξάνεται, τάση η οποία έγινε εμφανής μετά τη διόρθωση για την ηλικία.

Μετρήσαμε 4 δείκτες οστικής απορρόφησης και δεν βρέθηκε καμία στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ αυτών και του BMI. Σύμφωνα με προηγούμενες μελέτες σε υγιείς μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, ο σωματικός δείκτης επηρεάζει την οστική εναλλαγή αρνητικά, δηλ. όσο υψηλότερος είναι ο BMI τόσο χαμηλότερα είναι τα επίπεδα ασβεστίου ούρων/κρεατινίνη [324,325,326], οστεοκαλσίνης ορού και NTX-I ούρων [118, 327]. Ωστόσο για τους υπόλοιπους δείκτες οστικής εναλλαγής όπως οι πυριδινολίνες και CTX-I ούρων ή S-BALP, δεν υπάρχουν δημοσιευμένες αναφορές. Εξάλλου υπάρχει διαφωνία σχετικά με τη σχέση S-PICP και BMI και έχει εκφρασθεί η άποψη ότι τα επίπεδα S-PICP δεν επηρεάζονται από τη παχυσαρκία και την απώλεια βάρους [330].

Επειδή βρήκαμε σημαντική συσχέτιση με το BMI μόνον με τους δείκτες οστικής σύνθεσης, τα αποτελέσματά μας θα μπορούσαν να ερμηνευθούν ως διαφορετική επίδραση του BMI στις δύο φάσεις της οστικής εναλλαγής. Όμως επειδή οι δείκτες απορρόφησης μετρώνται σε ούρα 24ώρου πιστεύουμε ότι η μεγαλύτερη ποικιλότητά τους σε σχέση με τις μετρήσεις του ορού έπαιξε ρόλο στο να μην βρίσκουμε σημαντική συσχέτιση μεταξύ των πρώτων και του BMI. Γι αυτό και η μέση τιμή z-scores U-NTX-I είχε την τάση να είναι μεγαλύτερη στην ομάδα A παρότι μη σημαντική.

Σε αυτή τη μελέτη, παρατηρούμε ότι ο δείκτης S-PICP είναι πιο ευαίσθητος στην επίδραση του BMI σε σχέση με την οστεοκαλσίνη ορού (S-OC) και την ειδική οστική αλκαλική φωσφατάση ορού (S-B-ALP). Τα κυκλοφορούντα επίπεδα PICP αντανακλούν την συνολική σύνθεση κολλαγόνου τύπου I από τους ινοβλάστες και τους οστεοκλάστες, ενώ η S-OC και η S-B-ALP είναι πιο ειδικές για τη οστική σύνθεση ειδικά, ενώ συνδέονται και με την επιμετάλλωση. Γενικά, το PICP ανταποκρίνεται στις διάφορες μεταβολικές διαταραχές προς την ίδια κατεύθυνση όπως και η OC ή η B-ALP. Ωστόσο αποκλίσεις μεταξύ του PICP και της OC ή B-ALP, έχουν παρατηρηθεί σε κλινικές καταστάσεις όπου η οστική σύνθεση είναι αυξημένη όπως π.χ. οστεοσκλήρυνση, ακρομεγαλία [88] και θεραπεία οστεοπορωτικών ασθενών με φθόριο [87]. Το PICP φαίνεται ότι αποτελεί πιο ευαίσθητο δείκτη της σωματικής μεταβολικής δραστηριότητας [91,331], και απαντά καλύτερα από την OC ή B-ALP στην χορήγηση σωματοτρόπων παραγόντων στους ενήλικες [331]. Γι'αυτό πιστεύουμε ότι τα δραματικά μειωμένα επίπεδα PICP ορού στις υπέρβαρες και παχύσαρκες μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, δείχνουν ότι οι γυναίκες με οιστρογονική ανεπάρκεια και υψηλό BMI έχουν μειωμένη σωματική μεταβολική δραστηριότητα, ίσως λόγω μεταβολών στον σωματοτρόπο άξονα. Για παράδειγμα η λεπτίνη ορού, ένας σωματοτρόπος παράγοντας που ενέχεται στη ρύθμιση της έκλυσης αυξητικής ορμόνης [331], είναι ανάλογη με το BMI και τη λιπώδη μάζα και αντιστρόφως ανάλογη με τα επίπεδα PICP ορού στους ενήλικες [332].

Πάντως θα μπορούσε ο σωματικός δείκτης να επηρεάζει την κάθαρση και όχι την παραγωγή του PICP, με τέτοιο τρόπο ώστε οι υπέρβαρες και παχύσαρκες γυναίκες να έχουν μεγαλύτερη κάθαρση και γρήγορη απομάκρυνση από τον ορό. Το PICP δεσμεύεται στο ήπαρ από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και μελέτες δείχνουν ότι η διαδικασία αυτή ρυθμίζεται από έναν υποδοχέα μανόζης. Η εγκυμοσύνη και η λήψη κορτικοειδών είναι γνωστό ότι επηρεάζουν τα επίπεδα κυκλοφορούντος PICP, μέσω αυτού του μηχανισμού [333]. Στα αποτελέσματά μας, οι δείκτες συσχέτισης μεταξύ του PICP και των υπολοίπων δεικτών οστικής σύνθεσης δεν βελτιώθηκαν μετά από διόρθωση ως προς το BMI, πράγμα που είναι εναντίον της υπόθεσης ότι το σωματικό βάρος επηρεάζει την κάθαρση του συγκεκριμένου πεπτιδίου.

Η ολική οστική μάζα και συνεπώς και η οστική πυκνότητα μπορεί να επηρεάζουν τις συγκεντρώσεις διαφόρων οστικών ενζύμων και προϊόντων όπως οι δείκτες οστικής εναλλαγής, διότι επηρεάζουν τη συνολική επιφάνεια ανακατασκευής. Ακόμη και μετά την επιπλέον διόρθωση ως προς την οστική πυκνότητα και την ηλικία, τα επίπεδα PICP ορού εξακολουθούσαν να σχετίζονταν ισχυρά με το BMI. Μ'αυτόν τον τρόπο επιβεβαιώνεται ότι μεταξύ μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών με όμοια οστική πυκνότητα και ηλικία, το επιπλέον σωματικό βάρος προδιαθέτει σε χαμηλότερους ρυθμούς σύνθεσης κολλαγόνου I. Συμπερασματικά τα αποτελέσματά μας δείχνουν με αξιοπιστία (<5% πιθανότητα λάθους τύπου I και <15% πιθανότητα λάθους τύπου II), ότι οι μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με υψηλό BMI έχουν χαμηλότερους ρυθμούς σύνθεσης εξωσκελετικού +/- σκελετικού κολλαγόνου τύπου I.

Η σχετικά αυξημένη οστική πυκνότητα που παρατηρείται στις υπέρβαρες γυναίκες αποδίδεται στην αυξημένη αρωματοποίηση των ανδρογόνων σε οιστρογόνα στο λιπώδη ιστό [334]. Οι γυναίκες με χαμηλό BMI έχουν χαμηλότερα επίπεδα κυκλοφορούντων στεροειδών φύλου, λόγω μικρότερης επινεφριδιακής παραγωγής ανδρογόνων και μικρότερου ποσοστού περιφερικής μετατροπής της ανδροστενδιόνης σε οιστρόνη στο λιπώδη ιστό (10-15%) και τους μυς (25-30%) [335]. Ο χρόνιος περιορισμός θερμιδικής πρόσληψης και η μείωση του λιπώδους ιστού σε παχύσαρκα άτομα έχει σαν αποτέλεσμα την επιτάχυνση της οστικής εναλλαγής, εν μέρει ρυθμιζόμενη από τις συγκεντρώσεις οιστρόνης ορού [336]. Ωστόσο η σχετική οιστρογονική ανεπάρκεια δεν μπορεί να εξηγήσει τη αυξημένη ευαισθησία του PICP ορού στις μεταβολές του BMI που παρατηρήσαμε σχετικά με την OC ή την B-ALP. Η επίδραση της οιστρογονικής ανεπάρκειας είναι πιο εμφανής στα οστά σε σύγκριση με το δέρμα και τους συνδέσμους, και η εμμηνόπαυση, το πιο τυπικό παράδειγμα οιστρογονικής ανεπάρκειας, προκαλεί μόνον μικρές μη σημαντικές αυξήσεις στα επίπεδα PICP, σε σύγκριση με την OC ή την B-ALP [337,338].

Ο δείκτης αποσύζευξης (*uncoupling index*) σαν τρόπος μέτρησης του οστικού ισοζυγίου, έχει εισαχθεί από τον Eastell και συν. [78] και έχει υιοθετηθεί και από άλλους ερευνητές [339]. Στη μελέτη μας, οι δείκτες ισοζυγίου zPICP-zDPD zPICP-zPYD εμφάνισαν σημαντική συσχέτιση με το BMI. Δεδομένων των διαφορών στην προέλευση των PICP, DPD και PYD, αυτό το εύρημα θα μπορούσε να αντανακλά είτε μια ανόμοια επίδραση του BMI στο εξωσκελετικούς και σκελετικούς ιστούς, είτε στο οστικό ισοζύγιο. Οι δείκτες ισοζυγίου οι οποίοι υπολογίστηκαν με βάση των πιο ειδικών για τα οστά δεικτών οστικής εναλλαγής όπως είναι π.χ. το DPD, NTX-I, CTX-I και OC, δεν φάνηκε να συσχετίζονται με το BMI ($P>0,1$). Γι'αυτό, πιστεύουμε ότι μετά την εμμηνόπαυση, η σύζευξη μεταξύ οστικής σύνθεσης και απορρόφησης δεν επηρεάζεται σε σχέση με το σωματικό βάρος, τουλάχιστον όσο το BMI παραμένει υψηλότερο του 18,5 [328] και χαμηλότερο του 40 kg/m² [329].

Οι παχύσαρκες γυναίκες, οι οποίες παρουσίαζαν χαμηλότερους δείκτες οστικού ισοζυγίου που υπολογίστηκαν με βάση το PICP (zPICP-zDPD zPICP-zPYD), δεν παρουσίασαν συγχρόνως μείωση της οστικής τους πυκνότητας όπως θα όφειλαν αν η σύνθεση ήταν μειωμένη έναντι της απορρόφησης. Επιπλέον οι δείκτες ισοζυγίου δεν είχαν καμία σχέση με την BMD_{AM}. Αυτές οι παρατηρήσεις συνηγορούν στο συμπέρασμα ότι η σχετιζόμενη με το σωματικό βάρος μείωση της σύνθεσης κολλαγόνου I είναι κυρίως εξωσκελετική και τα ώριμα οστά σε περιβάλλον οιστρογονικής ανεπάρκειας είναι ανθεκτικά στην επίδραση αυτή του BMI. Πράγματι ο οστικός μεταβολισμός δεν είναι πολύ ευαίσθητος σε μείωση του βάρους του σώματος. Οι ασθενείς με νευρική ανορεξία, δεν παρουσιάζουν σημαντικές μεταβολές στους δείκτες οστικής εναλλαγής, όσο το BMI παραμένει μεγαλύτερο του 18,5 kg/m² [330]. Και μέτρια απώλεια βάρους λόγω δίαιτας μπορεί επίσης να μην συνοδεύεται από σημαντικές μεταβολές στην οστική εναλλαγή [340,341]. Υπάρχουν επίσης ενδείξεις ότι η δράση των διαφόρων σωματοτρόπων παραγόντων που σχετίζονται με το BMI, π.χ. λεπτίνης, τροποποιείται από τις ορμόνες φύλου. Αν και στα ποντίκια η λεπτίνη αναστέλλει την οστική σύνθεση, μελέτες σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες δείχνουν ότι η λεπτίνη δεν επηρεάζει τον οστικό μεταβολισμό όπως αξιολογήθηκε με προσδιορισμό των S-B-ALP, S-OC, U-DPD, U-CTX-I ή οστικής πυκνότητας [342].

Συμπερασματικά, μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με υψηλότερο σωματικό βάρος έχουν χαμηλότερο ρυθμό σύνθεσης κολλαγόνου I, όπως μετράται με το PICP ορού. Δεν βρήκαμε καμία σημαντική ένδειξη ότι το BMI διαταράσσει την οστική σύζευξη και το ισοζύγιο μεταξύ σύνθεσης και απορρόφησης. Στις παχύσαρκες γυναίκες η ελάττωση του PICP και των δεικτών ισοζυγίου zPICP-zDPD zPICP-zPYD δεν συνοδεύεται από μείωση της οστικής πυκνότητας. Έτσι τα δεδομένα μας από μετρήσεις των δεικτών

ισοζυγίου σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες δείχνουν ότι το σωματικό βάρος μειώνει τη σύνθεση κολλαγόνου I μέσω κάποιου παράγοντα στον οποίο ο σκελετός εμφανίζει ανθεκτικότητα σε σχέση με τις εξωσκελετικές πηγές.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ της ΧΟΡΗΓΗΣΗΣ ΑΛΕΝΔΡΟΝΑΤΗΣ στη ΜΕΤΕΜΜΗΝΟΠΑΥΣΙΑΚΗ ΟΣΤΙΚΗ ΑΠΩΛΕΙΑ

3.α. ΑΛΕΝΔΡΟΝΑΤΗ ΣΤΗΝ ΠΡΟΛΗΨΗ ΟΣΤΙΚΗΣ ΑΠΩΛΕΙΑΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΑΜΕΣΗ ΜΕΤΕΜΜΗΝΟΠΑΥΣΙΑΚΗ ΠΕΡΙΟΔΟ

3.α.1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Για να ελεγχθεί η αποτελεσματικότητα της συνεχούς και διακεκομμένης χορήγησης αλενδρονάτης (ΑΛΝ) στην πρόληψη της οστικής απώλειας μετρήθηκε η επίδρασή της στην οστική πυκνότητα και την οστική εναλλαγή άμεσα μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών (ΑΜΕΠ) με χαμηλή οστική πυκνότητα, μετά από 2 έτη χορήγησης.

36 υγιείς γυναίκες που είχαν την τελευταία τους έμμηνο ρύση (ΤΕΡ) 6 μήνες έως 3 χρόνια πριν, και BMD σε ΟΜΣΣ ή αυχένα μηριαίου $<-1,5$ SD T-score, τυχαιοποιημένα προωθήθηκαν σε μια από τις παρακάτω ομάδες: Α) συνεχής χορήγηση 10mg ΑΛΝ, Β) κυκλική χορήγηση (2 μήνες κάθε 4 μήνες) 10mg ΑΛΝ, C) μάρτυρες. Όλες ελάμβαναν 500 mg ανθρακικού ασβεστίου καθημερινά. Η BMD_{ΟΜΣΣ} και αυχένα μηριαίου (BMD_{ΑΜ}) μετρήθηκε αρχικά και 1, 2 έτη μετά. Επίσης μετρήθηκαν οι συγκεντρώσεις των βιοχημικών δεικτών οστικής σύνθεσης (S-OC, S-BALP, S-PICP) και απορρόφησης (U-DPD, U-PYD, U-NTX-I, U-CTX-I) αρχικά και σε 3, 6, 12 και 24 μήνες.

Κατά το 1^ο έτος, η συνεχής και κυκλική χορήγηση ΑΛΝ, οδήγησαν σε στατιστικά σημαντική αύξηση της BMD_{ΟΜΣΣ} κατά $3,93\% \pm 1,86$ και $0,93\% \pm 2,01$ αντίστοιχα, σε σχέση με τους μάρτυρες ($-1,94\% \pm 1,73$, ANOVA $P=0,042$). Η BMD_{ΑΜ} αυξήθηκε σημαντικά μόνον στην ομάδα Α ($2,12\% \pm 1,93$ έναντι (Β) $0,31 \pm 1,77$ και (C) $-0,48 \pm 2,31$, ANOVA $P=0,029$). Το 2^ο έτος η ομάδα Α εμφάνισε μια μικρή αύξηση της BMD_{ΟΜΣΣ} περίπου $0,89\% \pm 1,62$. Κατά το 1^ο έτος, η S-OC, S-BALP, U-NTX-I, και U-CTX-I, σημείωσαν μείωση περίπου 50% με το συνεχές σχήμα που διατηρήθηκε κατά το μεγαλύτερο μέρος το 2^ο έτος. Στην ομάδα Β, η S-OC, U-DPD, και U-NTX-I βρέθηκαν σημαντικά μειωμένα σε σύγκριση με τους μάρτυρες (t-test $P<0,03$). Το 2^ο έτος υπήρξε τάση αναστροφής.

Η συνεχής χορήγηση αλενδρονάτης σε άμεσα μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με χαμηλή οστική πυκνότητας, καταστέλλει την οστική εναλλαγή και αυξάνει σημαντικά την οστική πυκνότητα. Όταν η ίδια ημερήσια δόση χορηγείται διακεκομμένα, κατά το πρώτο έτος, εμποδίζει την οστική απώλεια ή προκαλεί μικρή αύξηση στην οστική πυκνότητα στην ΟΜΣΣ, ενώ υπάρχουν σημαντικές ενδείξεις καταστολής του οστικού μεταβολισμού και κατά τα ελεύθερα αγωγής διαστήματα.

3.α.2. ΥΛΙΚΟ και ΜΕΘΟΔΟΣ

36 άμεσα μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με οστεοπενία ($<-1,5$ Tscore) ταξινομήθηκαν τυχαία στις ομάδες Α) συνεχές σχήμα ΑΛΝ, Β) διακεκομμένο σχήμα ΑΛΝ και Γ) μάρτυρες. Η $BMD_{OM\S\S\S}$ και BMD_{AM} μετρήθηκαν αρχικά και μετά από ένα έτος και 2 έτη παρακολούθησης. Ο βαθμός καταστολής του ρυθμού οστικού μεταβολισμού που επήλθε με το κάθε θεραπευτικό σχήμα, μετρήθηκε με βιοχημικούς προσδιορισμούς των συγκεντρώσεων των δεικτών οστικής εναλλαγής.

3.α.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

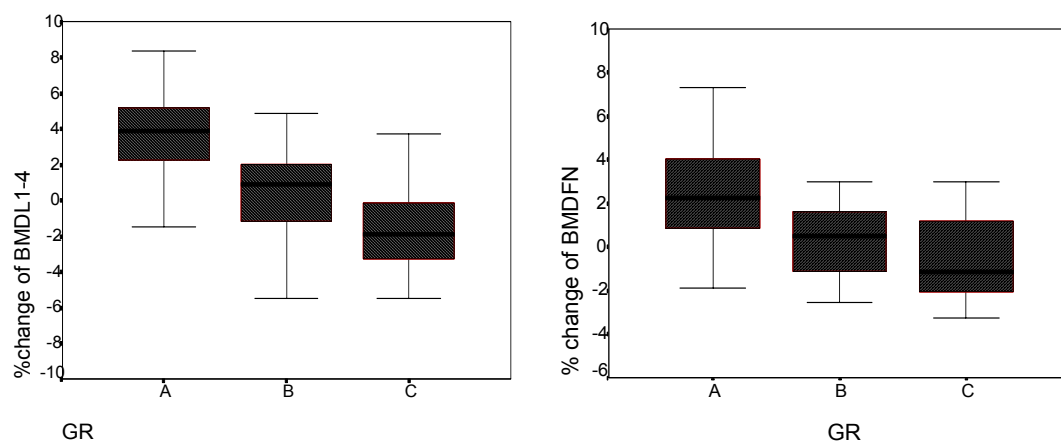
Οι τρεις ομάδες γυναικών Α,Β,Γ, δεν διέφεραν μεταξύ τους ως προς την ηλικία, την απόσταση από την εμμηνόπαυση, και τις αρχικές τιμές $BMD_{OM\S\S\S}$, BMD_{AM} και των δεικτών οστικής εναλλαγής (βλέπε πίνακα 3.α.1). Η μέση ηλικία των γυναικών ήταν $49,27 \pm 3,6$ έτη και απείχαν από την τελευταία έμμηνο ρύση $1,8 \pm 0,9$ έτη. Είχαν μέση $BMD_{OM\S\S\S}$ και BMD_{AM} $0,867 \pm 0,105$ και $0,682 \pm 0,069$ gr/cm^2 , που αντιστοιχεί σε T-score $-2,13 \pm 0,68$ και $-1,77 \pm 0,98$, αντίστοιχα. Μεταξύ των 36 γυναικών, 1 από την ομάδα Β, εγκατέλειψε τη μελέτη διότι εμφάνισε γαστρεντερικές διαταραχές.

Πίνακας 3.α.1. Περιγραφικά χαρακτηριστικά του πληθυσμού των άμεσα ΜΕΠ γυναικών με χαμηλή οστική πυκνότητα (N=36)

ηλικία	49,28+/-3,5
έτη από ΤΕΡ	1,67+/-0,98
BMI (kg/cm^2)	27,32+/-4,01
$BMD_{OM\S\S\S}$ (gr/cm^2)	0,867+/-0,105
SD T-score (OM\S\S\S)	-2,13 +/- 0,68
BMD_{AM} (gr/cm^2)	0,682+/-0,069
SD T-score (AM)	-1,77+/- 0,98
S-OC (ng/ml)	11,46 +/- 2,4
S-B-ALP (u/L)	23,12+/-7,3
S-PICP (ng/ml)	72,51+/-21,1
U-DPD (nM/nM Creat)	7,98+/-2,7
U-PYD (nM/nM Creat)	27,69+/-8,5
U-NTX-I (BCE/nM Creat)	77,87+/-32,6
U-CTX-I ($\mu g/mM$ Creat)	343,58+/-98,72

Στο τέλος του 1^{ου} έτους, η ομάδα Α παρουσίασε σημαντική αύξηση της BMD τόσο στην ΟΜΣΣ ($3,93\% \pm 1,86$ (paired t-test $P=0,022$) όσο και στον αυχένα του μηριαίου ($2,12\% \pm 1,9$, paired t-test $P=0,037$). Η ομάδα Β παρουσίασε μέση μεταβολή

0,93%±2,01 στην ΟΜΣΣ και 0,31%±1,77 στον αυχένα του μηριαίου η οποία δεν είχε στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς την αρχική BMD (paired t-test P=0,154 και P=0,543). Σε σύγκριση με τους μάρτυρες η ποσοστιαία αύξηση στην ΟΜΣΣ ήταν σημαντική (-1,94±1,73%, ANOVA P=0,042), ενώ στον αυχένα του μηριαίου δεν ήταν σημαντική (-0,48±2,31%, t-test P=0,45).



Σχήμα 3.α.1. Σχηματική απεικόνιση της κατανομής των τιμών της ποσοστιαίας μεταβολής της οστικής πυκνότητας στην ΟΜΣΣ και τον αυχένα του μηριαίου σε 1 έτος, στις τρεις ομάδες. Απεικονίζεται η μέση τιμή, η 25^η και 75^η εκατοστιαία τιμή και η ελάχιστη και μέγιστη τιμή.

Πίνακας 3.α.2. Οστική πυκνότητα και Δείκτες οστικής εναλλαγής σε 1 έτος (μέση τιμή± SD)

	ομάδα A n=17	ομάδα B n=13	μάρτυρες n=15
BMD_{LS} (gr/cm ²)	0,882±/0,12 ^a	0,871±/0,098 ^b	0,853±/0,065
BMD_{FN} (gr/cm ²)	0,699±/0,081 ^a	0,704±/0,11	0,656±/0,089
S-OC (ng/ml)	5,97±/2,41 ^a	9,91±/3,8 ^a	15,06±/1,2
S-B-ALP (u/L)	11,77±/2,6 ^a	20,11±/2,79	24,62±/3,4
S-PICP (ng/ml)	44,32±/9,83 ^a	70,1±/28,22	101,82±/16,96
U-DPD (nM/nM Creat)	5,89±/2,3 ^a	7,4±/1,1 ^b	9,6±/1,2
U-PYD (nM/nM Creat)	22,24±/7,24 ^a	31,77±/6,53	28,85±/6,3
U-NTX-I (BCE/nM Creat)	39,32±/19,96 ^b	43,66±/9,57 ^b	77,86±/31,71
U-CTX-I (μg/mM Creat)	124,2±/75,2	188,77±/105,2	194,47±/95,8

^a: P<0,01 σε σύγκριση με μάρτυρες

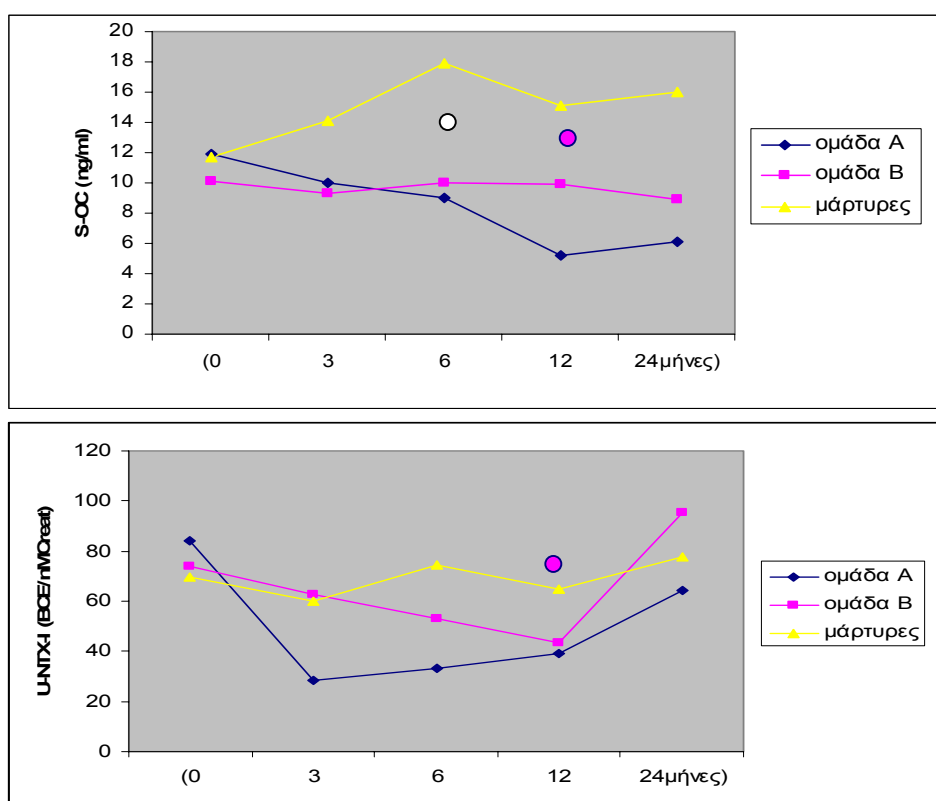
^b: P<0,05 σε σύγκριση με μάρτυρες

Κατά τη διάρκεια του 2ου έτους, η ομάδα A εμφάνισε μικρή αύξηση στην BMDOMSS σε σχέση με τους μάρτυρες (0,89%±1,62, P<0,047). Η ομάδα B δεν είχε διαφορά από τους μάρτυρες.

Οι γυναίκες που πήραν αλενδρονάτη συνεχώς παρουσίασαν σημαντική μείωση των περισσότερων δεικτών οστικής εναλλαγής σε σχέση με τις αρχικές τους τιμές. Στο τέλος του 1^{ου} έτους η S-OC και η S-B-ALP και τα U-DPD, U-NTX-I, U-CTX-I παρουσίασαν μέση μείωση περίπου 50%. Η αντίστοιχη μείωση στην ομάδα B ήταν περίπου 30%.

Επίσης οι δείκτες S-OC, τα U-DPD, U-NTX-I βρέθηκαν μειωμένοι στην ομάδα B σε σχέση με τους μάρτυρες. Στον πίνακα 3.α.2. αναφέρονται οι μέσες τιμές των συγκεντρώσεων των δεικτών οστικής εναλλαγής στο τέλος του 1^{ου} έτους, στις τρεις ομάδες. Κατά το 2^ο έτος εμφάνισαν τάση αναστροφής.

Στο σχήμα 3.α.2. απεικονίζεται γραφικά η μεταβολή σε S-OC και U-NTX-I στις τρεις ομάδες. Η S-OC στην ομάδα B δεν ακολουθεί την μεγάλη μείωση που παρουσιάζει γύρω στο τέλος του 1^{ου} έτους στην ομάδα A. Το U-NTX-I εμφανίζει το ναδίρ του στο τέλος του 1^{ου} έτους ενώ αυτό στην ομάδα A έχει συμβεί πρώιμα κατά τον 3^ο μήνα.



Σχήμα 3.α.2. Γραφική απεικόνιση των μεταβολών της μέσης τιμής οστεοκαλσίνης ορού και αζωτοτελοπεπτιδίου ούρων με την πάροδο του χρόνου.

3.α.4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η ανάλυση αυτού του τμήματος των δεδομένων δείχνει ότι η κυκλική χορήγηση 10mg αλενδρονάτης (δύο μήνες ALN και δύο μήνες χωρίς αγωγή εναλλάξ), καταστέλλει αποτελεσματικά την οστική εναλλαγή και εμποδίζει την οστική απώλεια. Στο τέλος του 1^{ου} έτους χορήγησης, οι συγκεντρώσεις των δεικτών οστικής απορρόφησης βρέθηκαν μειωμένοι κατά 30% περίπου σε σύγκριση με τις αρχικές τιμές. Επίσης η S-OC βρέθηκε μειωμένη σε σχέση με τους μάρτυρες παρότι ακολουθεί μια πιο σταθερή πορεία σε σχέση με το U-NTX-I. Η παρατήρηση μάλιστα ότι οι δείκτες βρέθηκαν μειωμένοι παρότι

μετρήθηκαν στο τέλος του ελεύθερου αγωγής διμήνου (12^{ος} μήνας), δείχνει ότι με τη διακεκομμένη χορήγηση αλενδρονάτης, ο οστικός μεταβολισμός παραμένει σε καταστολή ακόμη και κατά τα ελεύθερα αγωγής διαστήματα.

Τα αποτελέσματα της κυκλικής χορήγησης 10mg ήταν υποδεέστερα της συνεχούς χορήγησης ίδιας ημερήσιας δόσης αλενδρονάτης, ενώ ήταν συγκρίσιμα με αυτά της συνεχούς χορήγησης 5mg [288] που έχει εγκριθεί και κυκλοφορεί σε κάποιες χώρες για την πρόληψη της οστεοπόρωσης. Η συνεχής χορήγηση 5mg επί 5 έτη σε άμεσα μετεμνηνοπαυσιακές γυναίκες, προκάλεσε 2,5% αύξηση στην BMD_{OMSS} τα δύο πρώτα έτη που διατηρήθηκε τα επόμενα, και σταθεροποίησε την BMD_{AM} [315]. Η μικρή διαφορά που έχουν τα αποτελέσματά μας από μελέτες με συνεχή σχήματα ίσης αθροιστικής δόσης μπορούν να αποδοθούν στη διαφορετική συμμετοχή του remodeling transient [266]: κατά τη διακεκομμένη χορήγηση, ο χώρος εναλλαγής (remodeling space), αρχικά συρρικνώνεται και μετά κατά τη διάρκεια του ελεύθερου αγωγής διαστήματος διογκώνεται, γιατί το φαινόμενο αυτό δρα με τον ίδιο τρόπο και προς την αντίθετη κατεύθυνση. Το αποτέλεσμα είναι η αύξηση στην οστική μάζα που προκαλείται με την κυκλική χορήγηση ενός αντιοστεοκλαστικού παράγοντα στο τέλος του 1^{ου} έτους, να αντανakλά την καθαρή αύξηση του ισοζυγίου σύνθεσης-απορρόφησης, χωρίς την μετρούμενη αύξηση της επιμεταλλωμένης μεταβολής του χώρου εναλλαγής.

Σε άλλη μελέτη στην οποία χορηγήθηκαν 10mg ALN 1 μήνα κάθε 3 μήνες, μαζί με βιταμίνη D, σημειώθηκαν μεγαλύτερες αυξήσεις στην BMD (περίπου 2,5% σε OMSS και 1,5% σε AM) [316], παρότι η αθροιστική δόση ήταν μικρότερη από αυτή της δικής μας μελέτης (1200mg έναντι 1800mg αντίστοιχα). Επιπλέον, προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι η ενδοφλέβια χορήγηση 10mg ALN ενδοφλέβια κάθε 3 μήνες [307] οδηγεί σε αύξηση της BMD, ισοδύναμη με αυτή που προκαλεί η από του στόματος χορήγηση 10mg καθημερινά [260, 261, 274]. Φαίνεται λοιπόν ότι τα αποτελέσματα της κυκλικής χορήγησης αλενδρονάτης εξαρτώνται από τη δόση της ουσίας που δεσμεύεται στα οστά, άρα από την αθροιστική προσλαμβανόμενη δόση το ελεύθερο διάστημα που μεσολαβεί μεταξύ δύο κύκλων χορήγησης, και το συνολικό χρόνο που διαρκεί η αγωγή. Οι τελευταίοι παράγοντες επηρεάζουν τις εναπομένουσες θέσεις οστικής εναλλαγής.

Επειδή, ενδείξεις από μελέτες με ενδοφλέβια χορήγηση διφωσφονικών δείχνουν ότι οι δείκτες οστικής εναλλαγής αυξομειώνονται κατά το διάστημα που μεσολαβεί μέχρι την επόμενη έγχυση [317], και επειδή οι συγκεντρώσεις των δεικτών σχετίζονται απευθείας με τον κίνδυνο οστεοπορωτικών καταγμάτων [134,136], γεννώνται εύλογες αμφιβολίες σχετικά με την προστασία από κατάγματα που μπορεί να παρέχει ένα διακεκομμένο σχήμα. Πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι η διακεκομμένη από του στόματος χορήγηση ενός

άλλου αμινοδιφωσφονικού, της ιμπανδρονάτης, μαζί με βιταμίνη D, για 3 χρόνια, μείωσε τον κίνδυνο σπονδυλικού κατάγματος κατά 50%, σε σύγκριση με το placebo [318].

Από τα αποτελέσματά μας συμπεραίνουμε ότι η χορήγηση 10mg αλενδρονάτης σε άμεσα μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με οστεοπενία, καταστέλλει την οστική εναλλαγή και αυξάνει την οστική πυκνότητα σε βαθμό ανάλογο με το σχήμα χορήγησης. Στην ηλικία αυτή ο κίνδυνος κατάγματος είναι χαμηλός και στόχος της πρόληψης είναι η διατήρηση της οστικής μάζας και η οριακή καταστολή του οστικού μεταβολισμού. Η διακεκομμένη χορήγηση 10mg αλενδρονάτης από του στόματος ανά δύο μήνες, τουλάχιστον για 1 έτος, εκπληρώνει αυτό το στόχο και μπορεί να χρησιμοποιείται αντί των 5mg καθημερινά, που δεν κυκλοφορεί στην Ελλάδα.

3.β. ΣΥΝΕΧΗΣ ΚΑΙ ΔΙΑΚΕΚΟΜΜΕΝΗ ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΑΛΕΝΔΡΟΝΑΤΗΣ ΣΤΗΝ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΤΗΣ ΜΕΤΕΜΜΗΝΟΠΑΥΣΙΑΚΗΣ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗΣ (απώτερα μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με οστεοπόρωση)

3.β.1.ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός αυτής της μελέτης ήταν να συγκρίνει το θεραπευτικό αποτέλεσμα στην οστική πυκνότητα και την οστική εναλλαγή, της συνεχούς και διακεκομμένης χορήγησης αλενδρονάτης στη θεραπεία της μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης.

60 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (μέση ηλικία 64,35 έτη) με οστεοπόρωση (BMD <-2,5 SD T-score) ταξινομήθηκαν τυχαίοποιημένα στις ομάδες: A) 10mg αλενδρονάτης συνεχώς, B) 10 mg αλενδρονάτης διακεκομμένα ανά δύο μήνες και C) μάρτυρες. Όλοι ελάμβαναν συμπλήρωμα ασβεστίου 500mg καθημερινά.

Μετά από 2 έτη, η συνεχής χορήγηση αλενδρονάτης προκάλεσε αύξηση στην BMD_{ΟΜΣΣ} και αυχένα του μηριαίου (AM) (7,21±2,01 % και 2,64±2,01% αντίστοιχα). Η διακεκομμένη χορήγηση της μισής αθροιστικής δόσης αλενδρονάτης είχε σαν αποτέλεσμα την μέση αύξηση της BMD_{ΟΜΣΣ} κατά 5,02%±3,6 η οποία επετεύχθη κυρίως κατά το 1^ο έτος. Σταθεροποίηση σε σύγκριση με τους μάρτυρες παρατηρήθηκε στον αυχένα του μηριαίου όπου η αύξηση 2,08±2,01 δεν ήταν στατιστικά σημαντική ως προς τις αρχικές τιμές. Η συνεχής χορήγηση προκάλεσε σταθερή και άμεση καταστολή των δεικτών οστικής εναλλαγής σε επίπεδα χαμηλότερα κατά 30% περίπου στο τέλος 2^{ου} έτους (P< 0,038, paired t-test). Η διακεκομμένη χορήγηση είχε σαν αποτέλεσμα την καθυστερημένη μείωση των επιπέδων των δεικτών οστικής σύνθεσης και μεγαλύτερες διακυμάνσεις στα επίπεδα των δεικτών απορρόφησης, ενώ στο τέλος του 2^{ου} έτους η ελάττωση ήταν περίπου 10-20% και όχι πάντα στατιστικά σημαντική.

Άρα συμπεραίνουμε ότι το συνεχές σχήμα είναι πιο αποτελεσματικό και εξασφαλίζει προϋόουσα αύξηση της οστικής πυκνότητας. Ωστόσο η διακεκομμένη χορήγηση μικρότερης αθροιστικά δόσης αρκεί για να αποτρέψει την πρόοδο της μετεμμηνοπαυσιακής οστικής απώλειας και την καταστολή της οστικής εναλλαγής για μεγάλο χρονικό διάστημα.

3.β.2.ΥΛΙΚΟ και ΜΕΘΟΔΟΣ

Αρχικά εξετάστηκαν 117 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με τελευταία έμμηνο ρύση πριν από 5 τουλάχιστον χρόνια οι οποίες προσήλθαν με τους τρόπους που αναφέρθηκαν στην εισαγωγή και συμμετείχαν στη μελέτη. Από αυτές 60 είχαν οστεοπόρωση (BMD στον αυχένα του μηριαίου ή την ΟΜΣΣ <-2,5 SD T-score) και ταξινομήθηκαν τυχαία σε μια από τις τρεις ομάδες A) συνεχής χορήγηση 10mg ALN και 500μg ανθρακικού ασβεστίου καθημερινά , B) κυκλική χορήγηση 10mg ALN και 500μg ανθρακικού ασβεστίου καθημερινά, C) 500μg ανθρακικού ασβεστίου καθημερινά (μάρτυρες). Η διάρκεια της παρακολούθησης ήταν δύο έτη. Για την εκτίμηση του θεραπευτικού αποτελέσματος της αλενδρονάτης, μετρήθηκε η μεταβολή της οστικής πυκνότητας και η

μεταβολή των δεικτών οστικής εναλλαγής κατά τη συνεχή ή διακεκομμένη χορήγηση. Οι τρόποι μετρήσεων και οι στατιστικές μέθοδοι ανάλυσης των παρατηρήσεων είναι αυτοί που περιγράφονται αναλυτικά στην εισαγωγή του ειδικού μέρους.

Η οστική πυκνότητα στην ΟΜΣΣ και τον αυχένα μηριαίου μετρήθηκε αρχικά και μετά από ένα και δύο έτη παρακολούθησης. Η ποσοστιαία μεταβολή υπολογίστηκε αναλογικά επί της αρχικής τιμής, από τη διαφορά τελικής από την αρχική τιμή. Όμοια υπολογίστηκαν και οι ποσοστιαίες μεταβολές των βιοχημικών δεικτών.

3.β.3.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Οι τρεις ομάδες γυναικών δεν διέφεραν μεταξύ τους ως προς την ηλικία, τις αρχικές τιμές της BMDLS, BMDFN, και των δεικτών οστικής εναλλαγής ($P > 0,05$ ANOVA). Η μέση ηλικία των γυναικών ήταν $64,35 \pm 6,2$ έτη και είχαν μέση BMD_{OMSS} και BMD_{AM} , $0,768 \pm 0,04$ και $0,689 \pm 0,104$ g/cm^2 , που αντιστοιχεί σε T-score $-2,67 \pm 0,41$ και $-1,98 \pm 1,08$, αντίστοιχα (βλέπε πίνακα 3.β.1.). 11 από τις 60 γυναίκες δηλ. ένα υψηλό ποσοστό περίπου 20% εγκατέλειψε τη μελέτη σε διάφορες φάσεις. Μεταξύ όσων συμπλήρωσαν το διάστημα παρακολούθησης, μία γυναίκα εμφάνισε ως ανεπιθύμητη παρενέργεια από τη χορήγηση αλενδρονάτης, άλγη σε μικρές αρθρώσεις κατά την 3^η εβδομάδα χορήγησης και μια εγκατέλειψε μετά τη συμπλήρωση του 1^{ου} έτους λόγω γαστροοισοφαγικής παλινδρόμησης. Και οι δύο προέρχονταν από την ομάδα συνεχούς χορήγησης.

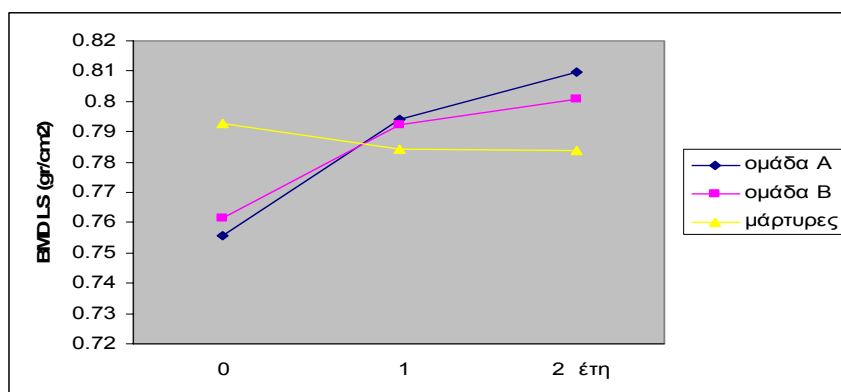
Στο τέλος του 2^{ου} έτους η ομάδα A παρουσίασε σημαντική αύξηση της BMD_{OMSS} κατά $7,26\% \pm 2,01$ (2-tailed $P < 0,0001$ paired t-test σε σύγκριση με αρχικές τιμές). Η μεγαλύτερη αύξηση παρατηρήθηκε τον πρώτο χρόνο (5,1% έναντι 2,26% το δεύτερο χρόνο). Η ανταπόκριση στην αγωγή ήταν εντυπωσιακή καθώς συνολικά περισσότερα των 94% των ατόμων παρουσίασαν αύξηση οστικής πυκνότητας μεγαλύτερη του 3%. Η ομάδα B εμφάνισε συνολική αύξηση της BMD_{OMSS} κατά $5,02\% \pm 3,6$ ($P = 0,017$, paired t-test), κυρίως κατά το 1^ο έτος (3,93%), ενώ κατά το 2^ο έτος παρέμεινε σχεδόν σταθερή (μεταβολή $+1,09\% \pm 2,4$, $P > 0,05$). Συνολικά 60% των ατόμων είχαν αύξηση μεγαλύτερη του 3%. Αντίθετα στους μάρτυρες η BMD_{OMSS} μειώθηκε συνολικά κατά $-1,17\% \pm 3,1$ στα δύο έτη σε σύγκριση με αρχικές τιμές ($P = 0,013$, paired t-test). Στο σχήμα 3.β.1. απεικονίζεται γραφικά η μεταβολή της μέσης τιμής της οστικής πυκνότητας σε ΟΜΣΣ στις τρεις ομάδες γυναικών. Η μέση ποσοστιαία αύξηση της BMD_{OMSS} ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στην ομάδα A και B σε σύγκριση με τους μάρτυρες ($P = 0,017$, ANOVA, potshoc analysis με Student-Neumann-Keuls Test).

των απώτερα ΜΕΠ γυναικών με χαμηλή οστική πυκνότητα
μέση τιμή +/- σταθ. απόκλ.

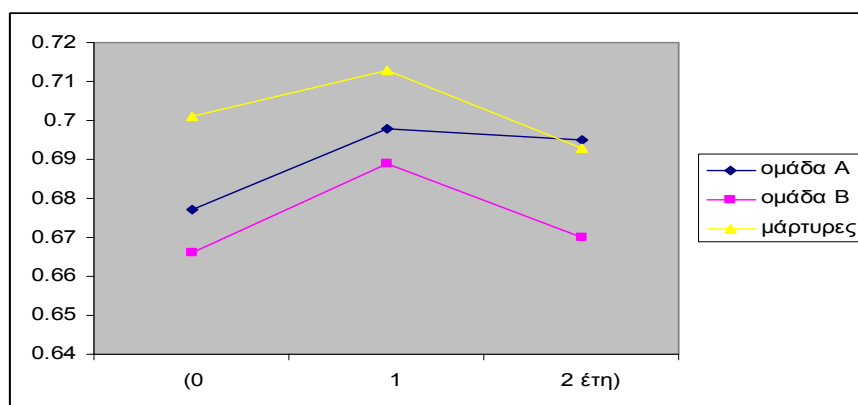
Ηλικία (έτη)	64,35+/-6,2
BMI (kg/cm^2)	29,72+/-3,29
BMD_{LS} (gr/cm^2)	0,768+/-0,072
SD T-score (LS)	-2,61 +/- 0,61
BMD_{FN} (gr/cm^2)	0,689+/-0,104
SD T-score (FN)	-1,98+/-1,08
S-OC (ng/ml)	11,19+/-4,57
S-B-ALP (u/L)	69,82+/-21,23
S-PICP (ng/ml)	22,43+/-6,9
U-DPD ($nM/nM Creat$)	8,17+/-3,09
U-PYD ($nM/nM Creat$)	29,4+/-11,45
U-NTX-I ($BCE/nM Creat$)	73,66+/-29,63
U-CTX-I ($\mu g/mM Creat$)	240,02+/-83,78

Η μέση ποσοστιαία μεταβολή της BMD_{AM} στα δύο έτη, ήταν περίπου 2,64%±2,43, 2,08%±2,1 και -1,18%±0,97 στις ομάδες συνεχούς, κυκλικής χορήγησης και μαρτύρων αντίστοιχα (P=0,036 ANOVA). Στο σχήμα 3.β.2. απεικονίζεται γραφικά η μεταβολή της μέσης τιμής της οστικής πυκνότητας στον αυχένα του μηριαίου στις τρεις ομάδες γυναικών. Σε σύγκριση με τις αρχικές μέσες τιμές, η ομάδα A παρουσίασε σημαντική αύξηση της BMD_{AM} (P=0,009 paired t-test).

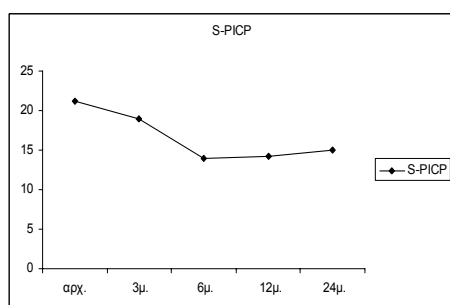
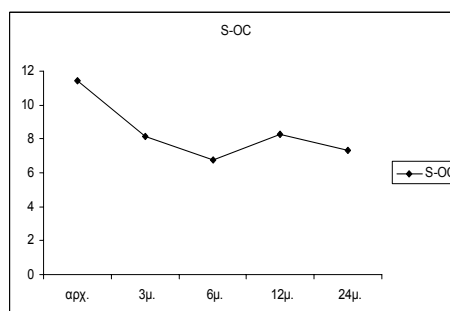
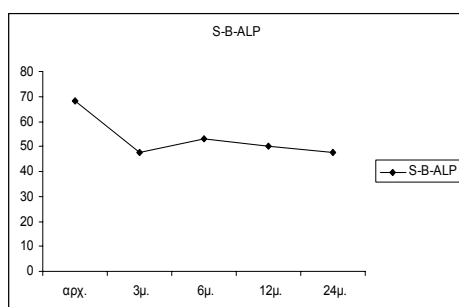
Η συνεχής χορήγηση αλενδρονάτης (ομάδα A) είχε σαν αποτέλεσμα την δραστική μείωση των δεικτών οστικής εναλλαγής (σχ.3.β.3., 3.β.4.). Τον 3^ο κιόλας μήνα, η S-B-ALP και η S-OC μειώθηκαν κατά 30% περίπου και το S-PICP κατά 10%, ενώ από τους δείκτες οστικής απορρόφησης οι πυριδινολίνες U-DPD και U-PYD μειώθηκαν κατά 30% και τα τελοπεπτιδία κολλαγόνου I U-NTx-I και U-CTX-I κατά 60% περίπου. Οι δείκτες οστικής σύνθεσης έφθασαν τις κατώτερες τιμές τους τον 6^ο μήνα και έκτοτε άρχισαν πάλι να αυξάνονται παραμένοντας όμως πάντα σε σημαντικά χαμηλότερες τιμές από τις αρχικές κατά 30-35% έως και το τέλος του 2^{ου} έτους (P< 0,02, paired t-test). Οι δείκτες απορρόφησης έφθασαν το ναδίρ τους τον 3^ο μήνα και έκτοτε αυξήθηκαν έως το 80% των αρχικών τιμών περίπου στο τέλος του 2^{ου} έτους (P<0,038) .



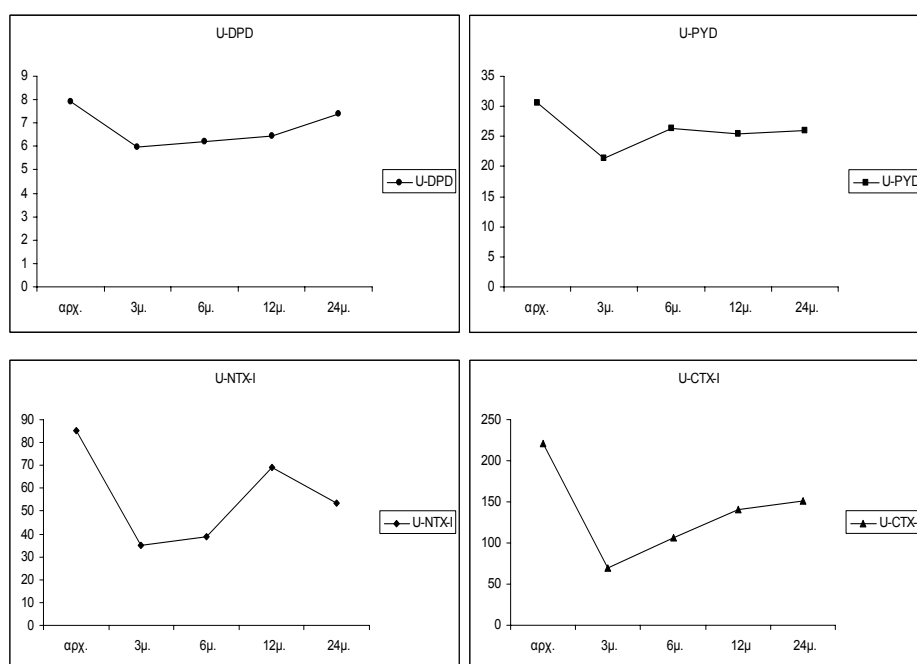
Σχήμα 3.β.1. Γραφική απεικόνιση των μεταβολών της οστικής πυκνότητας ΟΜΣΣ στις τρεις ομάδες γυναικών, σε 1 και 2 έτη από την έναρξη της αγωγής και της παρακολούθησης.



Σχήμα 3.β.2. Γραφική απεικόνιση των μεταβολών της οστικής πυκνότητας στον αυχένα του μηριαίου στις τρεις ομάδες γυναικών, 1 και 2 έτη από την έναρξη της αγωγής και της παρακολούθησης.



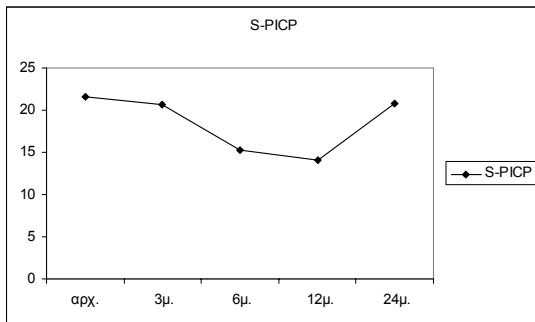
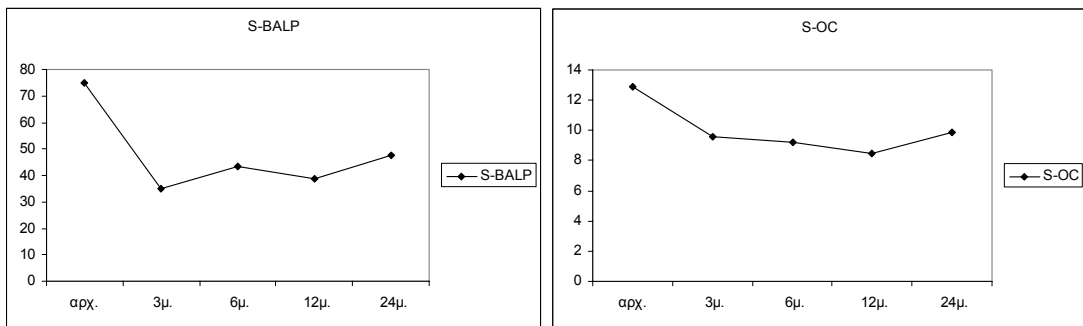
Σχήμα 3.β.3. Μεταβολές των δεικτών οστικής σύνθεσης κατά τη διάρκεια συνεχούς χορήγησης αλενδρονάτης (ομάδα Α).



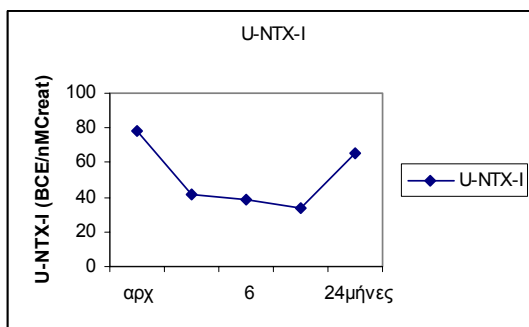
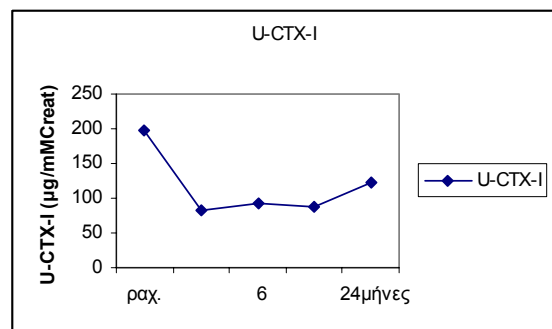
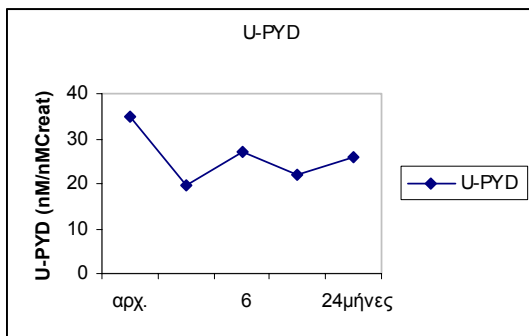
Σχήμα 3.β.4. Μεταβολές των συγκεντρώσεων των δεικτών οστικής απορρόφησης στα ούρα κατά τη συνεχή χορήγηση αλενδρονάτης (ομάδα Α).

Στην ομάδα Β οι δείκτες οστικής εναλλαγής παρουσίασαν μείωση που εξαρτάται από τη διάρκεια της αγωγής. Στο σχήμα 3.β.5. απεικονίζονται οι μεταβολές των δεικτών οστικής σύνθεσης στον ορό και στο σχήμα 3.β.6. τα αποτελέσματα των διαδοχικών μετρήσεων των δεικτών απορρόφησης στα ούρα στα άτομα που προσέλαβαν την αλενδρονάτη διακεκομμένα. Παρατηρούμε ότι οι δείκτες οστικής σύνθεσης (βλ. Σχήμα 3.β.5) αγγίζουν τις κατώτερες τιμές τους στο τέλος του 1^{ου} έτους, και το 2^ο έτος βρίσκονται σε 10-20% χαμηλότερα επίπεδα από τα αρχικά. Μεταξύ των δεικτών οστικής σύνθεσης, τόσο στην ομάδα Α όσο και στη Β, η οστική αλκαλική φωσφατάση, έχει την πιο γρήγορη ανταπόκριση στην αγωγή, φθάνοντας τα κατώτερα της επίπεδα από τον τρίτο κιάλας μήνα, και τη μεγαλύτερη ποσοστιαία μείωση στα 2 έτη.

Η ομάδα Β στο τέλος του 1^{ου} έτους εμφανίζει στατιστικά σημαντική μείωση ως προς τις αρχικές τιμές σε όλους τους δείκτες, ενώ στο τέλος του 2^{ου} έτους υπάρχει η τάση μείωσης, οι διαφορές όμως δεν είναι πάντα στατιστικά σημαντικές. Για παράδειγμα η οστεοκαλσίνη, το PICP και τα DPD που αποτελούν τους πιο αξιόπιστους δείκτες, δεν έχουν σημαντική μείωση ως προς τις αρχικές τους τιμές ($P > 0,2$, paired t-test).



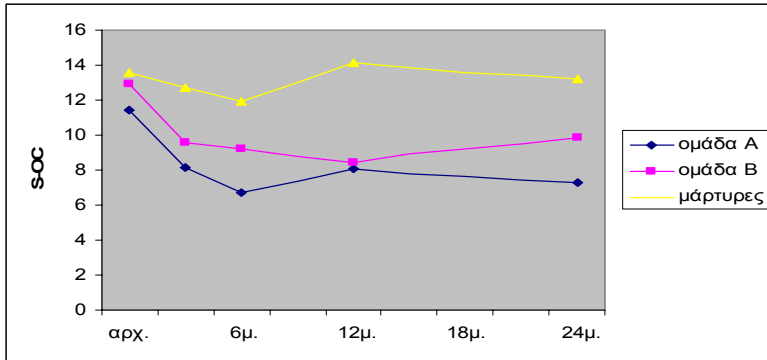
Σχήμα 3.β.5. Μεταβολές των δεικτών οστικής σύνθεσης σε ομάδα διακεκομμένης χορήγησης αλενδρονάτης



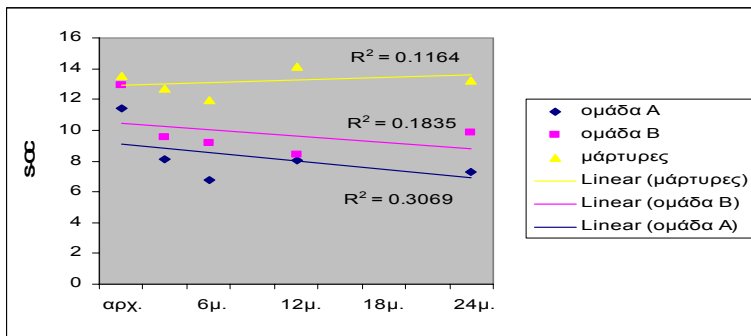
Σχήμα 3.β.6. Μεταβολές των δεικτών οστικής απορρόφησης σε ομάδα διακεκομμένης χορήγησης αλενδρονάτης

Στο σχεδιάγραμμα 3.β.7. απεικονίζονται συγκριτικά οι διαδοχικές μεταβολές της S-OC στην ομάδα A, B και τους μάρτυρες. Παρατηρείται ότι η κατάσταση της S-OC κατά τη συνεχή χορήγηση είναι μεγαλύτερη, το ναδίρ επιτυγχάνεται πρωιμότερα και η τελική μείωση είναι μεγαλύτερη, σε σύγκριση με την ομάδα B. Το σχεδιάγραμμα 3.β.8 περιλαμβάνει τις ίδιες πληροφορίες ενώ παράλληλα αποδίδεται και η γραμμή παλινδρόμησης που απεικονίζει την τάση μείωσης των επιπέδων οστεοκαλσίνης με την

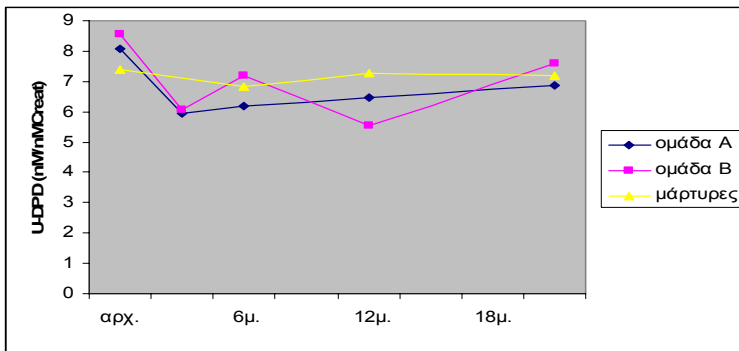
πάροδο του χρόνου στις τρεις ομάδες, σύμφωνα με το γραμμικό μοντέλο. Παρατηρούμε ότι η διασπορά των τιμών της ομάδας A έχει καλύτερο R^2 και η γραμμή παλινδρόμησης έχει ελαφρώς μεγαλύτερη κλίση σε σχέση με την ομάδα B.



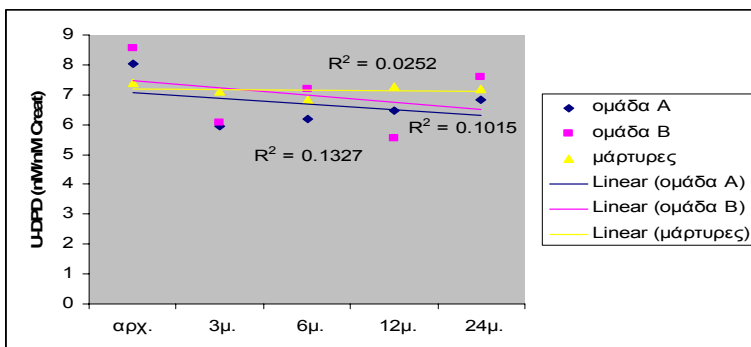
Σχήμα 3.β.7. Σύγκριση επιπέδων οστεοκαλσίνης ορού σε ομάδα A, B και μάρτυρες στις διαδοχικές μετρήσεις.



Σχήμα 3.β.8. Γραμμή παλινδρόμησης που αντιστοιχεί στις διαδοχικές τιμές επιπέδων οστεοκαλσίνης στις τρεις ομάδες



Σχήμα 3.β.9. Σύγκριση μεταβολών επιπέδων U-DPD στις τρεις ομάδες



Σχήμα 3.β.10. Γραμμή παλινδρόμησης που αντιστοιχεί στις διαδοχικές μετρήσεις των επιπέδων U-DPD στις τρεις ομάδες

Οι δείκτες οστικής απορρόφησης φαίνεται ότι κατά τη διακεκομμένη χορήγηση παρουσιάζουν μεγαλύτερες διακυμάνσεις. Αγγίζουν τις ελάχιστες τιμές τους τον 3^ο μήνα και τον 1^ο χρόνο και τον 2^ο χρόνο εμφανίζουν μικρότερη ποσοστιαία μείωση σε σχέση με την αρχική τιμή (σχ.3.β.9). Ωστόσο η γραμμή παλινδρόμησης δεν εμφανίζει σημαντικές διαφορές με τη συνεχή χορήγηση(σχ.3.β.10) .

Η ομάδα των μαρτύρων δεν παρουσίασε σημαντική διαφορά μεταξύ τελικών και αρχικών τιμών δεικτών οστικής εναλλαγής εκτός από την S-BALP, η οποία στο διάστημα των δύο ετών αυξήθηκε κατά 12% περίπου ($P=0,029$, paired t-test).

3.4.ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η εκτίμηση της επίδρασης της αλενδρονάτης στην οστική πυκνότητα και την οστική εναλλαγή όταν χορηγείται συνεχόμενα ή διακεκομμένα στη μετεμμηνοπαυσιακή οστεοπόρωση. Χορηγήθηκε η ίδια καθημερινή δόση, 10mg αλενδρονάτης για δύο έτη σε τρεις ομάδες μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών με οστεοπόρωση. Η χορήγηση αλενδρονάτης στο διακεκομμένο σχήμα έγινε για δύο μήνες καθημερινά (διάστημα περίπου διπλάσιο από τη διάρκεια της φάσης αποδόμησης που είναι 3 εβδομάδες) και το ελεύθερο αγωγής διάστημα ήταν όμοιο.

Το συμπέρασμα ήταν ότι τόσο η συνεχής χορήγηση όσο και η κυκλική χορήγηση αλενδρονάτης οδήγησε σε σημαντική αύξηση της οστικής πυκνότητας ΟΜΣΣ τον 1^ο χρόνο (περίπου 5,19% και 3,93%), η οποία με το συνεχές σχήμα συνεχίστηκε τον 2^ο χρόνο, ενώ με το διακεκομμένο περιορίστηκε σε σταθεροποίηση τον 2^ο χρόνο. Οι τιμές αυτές είναι παρόμοιες με αυτές που αναφέρονται σε άλλες μελέτες για τη συνεχή χορήγηση 10mg και 5mg αλενδρονάτης [262,263]. Δεν είναι γνωστό αν για την αποτυχία του κυκλικού σχήματος να αυξήσει προοδευτικά την BMD και κατά το 2^ο έτος, ευθύνεται η μικρότερη αθροιστική δόση ή η μεσολάβηση ελεύθερων αγωγής διαστημάτων. Πάντως από μελέτες καθορισμού επαρκούς δόσης για την αλενδρονάτη [262,263], έχει φανεί ότι η ελάχιστη δόση χορηγούμενη συνεχώς για την προοδευτική αύξηση μετά το 1^ο έτος ήταν τα 10mg. Στη μελέτη μας η καταστολή της οστικής εναλλαγής με το συνεχές σχήμα ήταν πιο άμεση και σταθερή καθώς οι δείκτες οστικής απορρόφησης και σύνθεσης συνέχισαν να είναι σημαντικά κατασταλμένοι και στο τέλος του 2^{ου} έτους. Κατά τη διακεκομμένη χορήγηση, οι δείκτες σύνθεσης έφθασαν τα κατώτερα όριά τους καθυστερημένα σε σχέση με τη συνεχή (6ο μήνα), στο τέλος του 1^{ου} έτους. Αντίστοιχα οι δείκτες απορρόφησης εμφάνισαν διακύμανση με τις μεγαλύτερες κατασπάσεις τον 3^ο μήνα και τέλος του 1^{ου} έτους, ενώ κατά το 2^ο έτος, αυξήθηκαν και πάλι σε επίπεδα σχεδόν προεμμηνοπαυσιακά αφού η μείωση ήταν μικρότερη του 30% από τις αρχικές τιμές.

Αυτή η μελέτη δεν μπορεί να διευκρινίσει αν με την κυκλική χορήγηση είναι δυνατόν να επηρεασθεί το ισοζύγιο των φάσεων ανακατασκευής όπως αναμένεται θεωρητικά. Δεν ξέρουμε δηλ. αν η κυκλική χορήγηση αλενδρονάτης, πλεονεκτεί έναντι της συνεχούς χορήγησης ίδιας αθροιστικής δόσης. Έδειξε όμως σαφώς ότι η αντιστεοκλαστική δράση συνεχίζεται και κατά το ελεύθερο αγωγής διάστημα, γιατί οι ελάχιστες συγκεντρώσεις των δεικτών εναλλαγής παρατηρήθηκαν σε χρονικές στιγμές που συνέπεφταν με ελεύθερα διαστήματα. Ενώ δηλ. όλες οι μετρήσεις εκτός από αυτήν του 6^{ου} μήνα, έγιναν κατά τα ελεύθερα αγωγής διαστήματα, το ναδίρ των δεικτών δεν αντιστοιχούσε με τον 6^ο μήνα. Αυτό το συμπέρασμα επιβεβαιώνει τα αποτελέσματα ορισμένων μελετών που πιστεύουν ότι η επίδραση της αλενδρονάτης στην οστική εναλλαγή παραμένει και μετά τη διακοπή της αγωγής [149, 311,312, 316].

Τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι ένα σχήμα διακεκομμένης χορήγησης αλενδρονάτης από στόματος, μειώνει την οστική εναλλαγή και προστατεύει από την οστική απώλεια αυξάνοντας μάλιστα για πολλούς μήνες την οστική πυκνότητα. Η διακεκομμένη χορήγηση διφωσφονικών 2^{ης} γενιάς, ενώ θεωρείται αυτονόητη και έχει αποδειχθεί αποτελεσματική για την ενδοφλέβια οδό [307,309, 310, 311,317], δεν έχει δοκιμασθεί με από του στόματος σκευάσματα διφωσφονικών παρά σε ελάχιστες μελέτες. Αυτές οι μελέτες ωστόσο, δείχνουν όπως και η δική μας, ότι η διακεκομμένη από του στόματος χορήγηση αλενδρονάτης σε αθροιστικές δόσεις μικρότερες από τις συνήθως χορηγούμενες συνεχόμενα, αρκούν για να εξασφαλίσουν προστασία από την μετεμνηνοπαυσιακή οστική απώλεια και καταστολή της οστικής εναλλαγής [304, 316].

Ο συνεχής τρόπος χορήγησης αλενδρονάτης είναι σαφώς πιο αποτελεσματικός, λόγω της σταθερής καταστολής που προκαλούν στην οστική εναλλαγή. Μελέτες σχετικά με την πιθανή διαφορετική επίδραση των δύο σχημάτων στην ποιότητα του οστίτη ιστού και τη συχνότητα καταγμάτων θα μας διαφωτίσουν σχετικά με τα πλεονεκτήματα της συνεχούς ή διακεκομμένης χορήγησης.

3.γ. ΧΟΡΗΓΗΣΗ ΑΛΕΝΔΡΟΝΑΤΗΣ ΣΕ ΜΕΤΕΜΜΗΝΟΠΑΥΣΙΑΚΕΣ ΓΥΝΑΙΚΕΣ ΜΕ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΤΙΚΑ ΚΑΤΑΓΜΑΤΑ ΙΣΧΙΟΥ

3.γ.1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η εκτίμηση της επίδρασης της αλενδρονάτης στην οστική απώλεια που ακολουθεί ένα κάταγμα ισχίου σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Για το σκοπό αυτό, μετρήθηκε η οστική πυκνότητα (BMD), ο σωματικός δείκτης (BMI), και το μήκος άξονα ισχίου (HAL), σε 78 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες 55-90 ετών με κάταγμα ισχίου. Από αυτές επιλέγησαν 50 με κριτήριο την ικανότητά τους να βαδίζουν με περιπατητήρα και τυχαιοποιημένα ταξινομήθηκαν είτε σε μια ομάδα που έλαβε 10mg αλενδρονάτης (ALN) και 500mg ασβεστίου συνεχώς επί ένα έτος είτε σε παράλληλους μάρτυρες (έλαβαν μόνον 500mg ασβεστίου καθημερινά επί ένα έτος) .

Τα αποτελέσματα των αρχικών μετρήσεων των ατόμων με κάταγμα συγκρίθηκαν με αυτά υγιών, μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών, αντίστοιχων ηλικιών και βρέθηκε ότι οι γυναίκες με κατάγματα είχαν σημαντικά χαμηλότερη $BMD_{ΟΜΣΣ}$ ($0,708 \pm 0,14 \text{go/cm}^2$ vs. $0,793 \pm 0,15 \text{go/cm}^2$, $P < 0,0001$), $BMD_{ΙΣΧΙΟΥ}$ ($0,674 \pm 0,13 \text{go/cm}^2$ vs. $0,796 \pm 0,93 \text{go/cm}^2$, $P < 0,0001$) και BMI ($26,29 \pm 4,9 \text{kg/m}^2$ vs. $30,44 \pm 4,9 \text{kg/m}^2$, $P < 0,0001$) και μικρότερο HAL ($9,45 \pm 0,71 \text{cm}$ vs. $10 \pm 0,98 \text{cm}$, $P < 0,0001$).

Ακολούθως, συγκρίθηκαν οι μεταβολές της οστικής πυκνότητας στις γυναίκες με κάταγμα που έλαβαν ALN και τους αντίστοιχους μάρτυρες (με κάταγμα ισχίου χωρίς ALN) και βρέθηκε ότι η συνεχής χορήγηση αλενδρονάτης προκάλεσε στατιστικά σημαντική αύξηση της οστικής πυκνότητας κατά $+3,2 \pm 0,8\%$ στην ΟΜΣΣ και $2,5 \pm 1,2\%$ στο ισχίο. Οι αντίστοιχες μεταβολές στους μάρτυρες ήταν $-2,3 \pm 0,93\%$ και $3,2 \pm 1,7\%$ ($P < 0,005$ και $P < 0,018$ t-test).

Συμπεραίνεται λοιπόν ότι η χαμηλή οστική πυκνότητα, ο χαμηλός σωματικός δείκτης και ο βραχύς HAL, αποτελούν πιθανούς παράγοντες κινδύνου για κάταγμα ισχίου στην μετεμμηνοπαυσιακή ηλικία. Επίσης, η συνεχής χορήγηση αλενδρονάτης προφυλάσσει τις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με κάταγμα ισχίου από τη γρήγορη οστική απώλεια που ακολουθεί το κάταγμα.

3.γ.2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ύπαρξη ενός κατάγματος ισχίου στο ατομικό ιστορικό αποτελεί ένα σημαντικό προδιαθεσικό παράγοντα για επόμενα οστεοπορωτικά κατάγματα. Αναδρομικές μελέτες δείχνουν ότι περίπου 7% των ασθενών με ένα κάταγμα ισχίου υφίστανται και δεύτερο στο ετερόπλευρο ισχίο, εντός μέσου χρονικού διαστήματος 3,3-7 ετών [142, 342, 343, 344]. Ένα από τα πιθανά αίτια είναι ότι η οστική πυκνότητα των ασθενών με κατάγματα

ισχίου συνήθως είναι ελαττωμένη σε σχέση με υγιείς μάρτυρες, όπως δείχνει μεγάλος αριθμός μελετών [345,346, 347]. Ορισμένες μελέτες διαπιστώνουν επιπλέον, ότι ένα κάταγμα ισχίου οδηγεί σε γρήγορη απώλεια της οστικής μάζας κατά 5% [348] έως 7% στο ισχίο [349], και 3% περίπου στη ΟΜΣΣ σε ένα έτος [348]. Η αυξημένη αυτή οστική απώλεια πιθανόν να οφείλεται σε μεταβολές του μεταβολισμού των οστών που συμβαίνουν μετά το κάταγμα. Πράγματι, οι περισσότεροι συγγραφείς συμφωνούν ότι μετά από ένα κάταγμα ισχίου παρατηρείται άμεση και σταθερή αύξηση των δεικτών οστικής απορρόφησης [139, 350, 351], ενώ οι γνώμες διίστανται σχετικά με τους δείκτες οστικής σύνθεσης καθώς κάποιοι αναφέρουν μείωση [137,138,139, 352] και άλλοι αύξηση [140,349] των επιπέδων τους, ανάλογα ίσως με τη χρονική στιγμή στην οποία γίνεται η μέτρηση.

Το ατομικό ιστορικό κατάγματος, η μειωμένη οστική πυκνότητα, και η ταχεία οστική απώλεια σχετίζονται ανεξάρτητα με τον κίνδυνο επόμενου κατάγματος. Επιβάλλεται λοιπόν, στους ασθενείς με κατάγματα ισχίου, η δευτερογενής πρόληψη με κάποιου είδους αντιοστεοκλαστική αγωγή [353]. Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η εκτίμηση της επίδρασης της αλενδρονάτης στην οστική απώλεια που ακολουθεί ένα κάταγμα ισχίου σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες.

3.γ.3. ΑΤΟΜΑ και ΜΕΘΟΔΟΣ

Κατά τη διάρκεια της μελέτης, μετρήθηκε η οστική πυκνότητα, BMD_{OMSS} και BMD του υγιούς ισχίου (BMD_{OI}), το σωματικό βάρος και ύψος σε 78 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, 55-90 ετών, με κάταγμα ισχίου. Η οστική πυκνότητα μετρήθηκε στην ΟΜΣΣ και το υγιές ισχίο. Με ειδικό software που υποστηρίζει η Hologic, μετρήθηκε το μήκος του μηριαίου άξονα (Hip Axis Length –HAL). Οι μετρήσεις έγιναν εντός 10 ημερών από την εισαγωγή. Από τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά, υπολογίστηκε ο δείκτης σωματικής μάζας (BMI). Τον πληθυσμό των μαρτύρων αποτέλεσαν 117 υγιείς γυναίκες, μετεμμηνοπαυσιακές επί τουλάχιστον 5 έτη, με μέση ηλικία 67 ± 5 έτη (βλ. Σελ.81). Για τη μελέτη των σημαντικών επιδημιολογικών παραγόντων, έγινε επιλογή και σύγκριση κατ'ηλικιακή αντιστοιχία (age-matching), 40 ατόμων από τον κάθε πληθυσμό.

Από τα 78 άτομα επιλέγηκαν 40 άτομα, με καλή νοητική λειτουργία και καλή προηγούμενη κινητική κατάσταση που μπορούσαν να κάθονται κατά την έξοδό τους από την κλινική σε καρέκλα και να βαδίζουν με τη βοήθεια περιπατητήρα. Ο σκοπός της επιλογής ήταν να εξασφαλιστεί η συνεργασία των ασθενών και να ελαχιστοποιηθεί η πιθανότητα πρόκλησης οισοφαγίτιδας λόγω γαστροοισοφαγικής παλινδρόμησης. Οι ασθενείς κατά την έξοδό τους από το νοσοκομείο, είτε ελάμβαναν οδηγίες για πρόσληψη ALN 10mg/ημέρα και ασβέστιο 500mg/ημέρα συνεχώς (20 άτομα) είτε μόνον για

πρόσληψη ασβεστίου 500mg/ημέρα. Ένα έτος αργότερα κλήθηκαν τηλεφωνικά οι ασθενείς για επαναμέτρηση της $BMD_{OM\S\S}$ και BMD_{OI} . Από την ομάδα A, 14 είχαν ακολουθήσει την αγωγή και 12 προσήλθαν για τον επανέλεγχο. Από την ομάδα των μαρτύρων προσήλθαν 9.

3.γ.4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ο πληθυσμός των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών με κατάγματα ισχίου είχε μέσο BMI $26,29\pm 4,9$ kg/m², μέση $BMD_{OM\S\S}$ $0,724\pm 0,13$ gr/cm² και BMD_{OI} $0,653\pm 0,12$ gr/cm². Η μέση τιμή του HAL ήταν $9,603\pm 0,569$ cm. Συγκρίνοντας τις κατ'ηλικιακή αντιστοιχία ομάδες των γυναικών με κατάγματα και των μαρτύρων, παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές και στις τέσσερις αυτές παραμέτρους (βλ.πίν. 5.1).

Πίνακας 3.γ.1. BMD , BMI και HAL σε 40 κατ'ηλικιακή αντιστοιχία άτομα, με κατάγματα ισχίου και χωρίς

	άτομα με κατάγματα	μάρτυρες	2-tailed P (t-test)
$BMD_{OM\S\S}$ (gr/cm ²)	0,708+/-0,14	0,793+/-0,15	$P<0,0001$
BMD_{OI} (gr/cm ²)	0,674+/-0,13	0,796+/-0,93	$P<0,0001$
BMI (kg/m ²)	26,29+/-4,9	30,44+/-4,9	$P<0,0001$
HAL (cm)	9,45+/-0,71	10+/-0,98	$P<0,0001$

Η μέση $BMD_{OM\S\S}$ και BMD_{OI} , στην ομάδα A στην οποία χορηγήθηκε αλενδρονάτη ήταν $0,710\pm 0,12$ gr/cm² και $0,692\pm 0,21$ αντίστοιχα. Η οστική πυκνότητα παρουσίασε αύξηση $3.2\pm 0,8\%$ στην $OM\S\S$ και $2,5\pm 1,2\%$ στο ισχίο, στο τέλος του 1^{ου} έτους. Η διαφορά σε σχέση με τις αρχικές τιμές ήταν στατιστικά σημαντική για την $OM\S\S$ (2 tailed $P < 0,02$) όχι όμως για το ισχίο ($P = 0,37$ Paired t-test). Η ομάδα των μαρτύρων παρουσίασε μείωση κατά $-2.3\pm 0,93\%$ στην $OM\S\S$ και $-3.2\pm 1,7\%$ στο ισχίο. Οι διαφορές με την ομάδα αγωγής ήταν στατιστικά σημαντικές ($P < 0,005$ και $P < 0,018$).

3.γ.5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα αποτελέσματα της μελέτης υποστηρίζουν την άποψη ότι οι ασθενείς με κάταγμα ισχίου, ωφελούνται από τη χορήγηση αντιοστεοκλαστικής αγωγής. Η μελέτη αυτή δεν σχεδιάστηκε για να εκτιμήσει την επίδραση της ΑΛΝ στη συχνότητα των οστεοπορωτικών καταγμάτων στους ασθενείς με κατάγματα ισχίου. Δεδομένου ότι είναι καλά τεκμηριωμένη η ικανότητα της αλενδρονάτης να μειώνει τον κίνδυνο οστεοπορωτικών καταγμάτων σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με προηγούμενα κατάγματα σπονδυλικής στήλης [264,272, 355], είναι πιθανόν να μειώνει τον κίνδυνο

επόμενου κατάγματος ισχίου, σαν αποτέλεσμα της αύξησης της οστικής πυκνότητας που προκαλεί.

Η κύρια παρατήρηση αυτής της μελέτης ήταν ότι η χορήγηση ALN 10mg/ημέρα επί ένα έτος, είχε σαν αποτέλεσμα σημαντική αύξηση της οστικής πυκνότητας στην ΟΜΣΣ (3.2%) στους ασθενείς με κάταγμα ισχίου. Η αύξηση αυτή ήταν μικρότερη της αύξησης που παρουσίασαν κατά το 1^ο έτος μετεμνηνοπαυσιακές γυναίκες με οστεοπόρωση χωρίς κάταγμα ισχίου (βλ. Κεφ.2.σελ.96). Μια πιθανή ερμηνεία είναι ότι ο ρυθμός οστικής εναλλαγής των ασθενών με κάταγμα ισχίου ίσως επηρεάζεται αρνητικά από την ακινητοποίηση και τη μετεγχειρητική έκπτωση της κινητικότητας. Επίσης καθώς οι γυναίκες με κατάγματα βρέθηκαν να έχουν χαμηλότερο BMI και BMD, πιθανόν να έχουν και υψηλότερο ρυθμό οστικής εναλλαγής σε σύγκριση με υγιείς μετεμνηνοπαυσιακές γυναίκες (βλ. κεφ.2 ειδικού μέρους). Επιπλέον, όπως έχει αποδειχθεί στους ασθενείς με κατάγματα ισχίου η επίπτωση οστεομαλακίας είναι μεγαλύτερη [354]. Ενώ λοιπόν όλοι οι παραπάνω λόγοι μπορούν να δικαιολογήσουν τη διαφορά που παρατηρείται στην αύξηση της BMD με την πρόσληψη ALN μεταξύ των μετεμνηνοπαυσιακών γυναικών με κατάγματα και χωρίς, δεν μπορούμε να αποκλείσουμε ότι η χαμηλή συμμόρφωσή στην αγωγή που παρατηρήθηκε σε αυτή τη μελέτη, έπαιξε επιπλέον κάποιο ρόλο.

Όπως αναφέρθηκε στη μελέτη αυτή βρέθηκε ότι τα άτομα με κάταγμα ισχίου έχουν μικρότερο BMI από τις αντίστοιχες υγιείς μετεμνηνοπαυσιακές γυναίκες. Το αποτέλεσμα αυτό βρίσκεται σε συμφωνία με διάφορες cross-sectional [356, 357,358] αλλά και προοπτικές μελέτες [359], που τεκμηριώνουν την αντιστρόφως ανάλογη σχέση μεταξύ σωματικού βάρους και κινδύνου κατάγματος ισχίου. Σχετικά με το HAL και τη σχέση του με τη συχνότητα καταγμάτων ισχίου, υπάρχουν αντικρουόμενα δεδομένα. Δεδομένα από πληθυσμούς Καυκάσιους ή Βορειοευρωπαίους δείχνουν ότι μικρό HAL, προδιαθέτει σε κάταγμα ισχίου [360], και είναι σε αντίθεση με την παρατήρησή μας. Η σύγκριση του HAL με την επίπτωση καταγμάτων σε πληθυσμούς διαφορετικής φυλετικής προέλευσης [361,362], δείχνει ότι η σχέση του παράγοντα αυτού με τον κίνδυνο για κάταγμα δεν είναι διευκρινισμένος.

Συμπερασματικά από τη μελέτη αυτή φάνηκε ότι η συνεχής χορήγηση ALN σε γυναίκες με οστεοπορωτικό κάταγμα ισχίου προφυλάσσει από την οστική απώλεια και οδηγεί σε αύξηση της οστικής πυκνότητας. Έτσι συνιστάται η χορήγηση ALN για την πρόληψη νέου κατάγματος.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η ανάπτυξη μεθόδων μέτρησης του ρυθμού οστικής εναλλαγής με εξειδικευμένους και ευαίσθητους βιοχημικούς δείκτες επέτρεψε α) τον εμπλουτισμό της γνώσης σχετικά με τη δράση των διφωσφονικών και β) την διευκρίνιση του ρόλου που παίζει ο αυξημένος ρυθμός εναλλαγής στην οστική απώλεια και τη συχνότητα των καταγμάτων (βλ. κεφ. 3). Η μελέτη μας προσφέρει νέα δεδομένα στον τομέα των δεικτών οστικής εναλλαγής, και τη σχέση τους με το σωματικό δείκτη (BMI) κατά την εμμηνόπαυση. Ειδικότερα, δείχνει με σαφήνεια ότι το *S-PICP σχετίζεται αρνητικά με το BMI*, σε αντίθεση με προηγούμενη αναφορά που υποστηρίζει ότι δεν επηρεάζεται από την παχυσαρκία και την απώλεια βάρους [330]. Η αυξημένη ευαισθησία του S-PICP στην επίδραση του BMI σε σχέση με τους υπόλοιπους δείκτες υποδεικνύει ότι η επίδραση του BMI είναι πιο έντονη στην εξωσκελετική κυρίως σύνθεση κολλαγόνου I και λιγότερο τον οστικό μεταβολισμό. Υπεύθυνη γι αυτό είναι η εξωσκελετική συμμετοχή στην παραγωγή του S-PICP. Η εξωσκελετική συμμετοχή αυτή ευθύνεται επίσης για την μικρότερη μείωση που εμφάνισαν τα επίπεδα του S-PICP σε σχέση με τους υπόλοιπους δείκτες οστικής σύνθεσης, όταν χορηγήσαμε αλενδρονάτη σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (βλ.κεφ.3β) για την πρόληψη ή θεραπεία της οστικής απώλειας. Οι δείκτες σύνθεσης και ειδικά η S-OC είχαν την τάση να μειώνονται καθώς αυξανόταν το BMI, ενώ μεταξύ των z-scores των δεικτών αποδόμησης, το DPD και PYD αυξάνονταν και τα NTX και CTx μειώνονταν. Ωστόσο τα δεδομένα μας δεν μπορούν να στηρίξουν την άποψη ότι οι αποκλίσεις του BMI πιθανόν να επηρεάζουν το οστικό ισοζύγιο αφού δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις μεταξύ BMI και δεικτών ισοζυγίου. Επειδή όμως καθώς αυξανόταν το BMI η S-OC και το S-PICP μειώνονταν σημαντικά, ενώ η BMD αυξανόταν όπως συμβαίνει και σε άλλες προηγούμενες μελέτες (B=24,16, P<0,0001), φαίνεται ότι το αυξημένο BMI επιδρά ευεργετικά στην οστική ανακατασκευή. Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώνονται και από σχετικές παρατηρήσεις μας στο κεφ.3.γ., όπου οι γυναίκες με κατάγματα ισχίου είχαν μικρότερο BMI και μικρότερη BMD από τις αντίστοιχες υγιείς μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες όμοιας ηλικίας [347], όπως και από παρόμοιες αναφορές άλλων ερευνητών [356-359]. Τα αποτελέσματά μας και από τα δύο τμήματα της μελέτης μας συνηγορούν με την άποψη ότι το χαμηλό BMI αποτελεί προδιαθεσικό παράγοντα για οστεοπόρωση και οστεοπορωτικά κατάγματα ισχίου και πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν κατά την εκτίμηση και αντιμετώπιση ασθενών με οστεοπόρωση. Δεδομένου λοιπόν ότι η αλενδρονάτη προστατεύει από τη

μετεμμηνοπαυσιακή οστική απώλεια, η χορήγησή της ίσως έχει ακόμη μεγαλύτερη σημασία για μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες χαμηλού σωματικού βάρους.

Η αλενδρονάτη τα τελευταία έτη αναγνωρίστηκε ευρέως ως αντιοστεοκλαστικός παράγοντας για την πρόληψη και την αντιμετώπιση της οστεοπόρωσης, καθώς μειώνει τον κίνδυνο οστεοπορωτικών καταγμάτων κατά 50% περίπου. Ωστόσο μόλις πρόσφατα άρχισαν να εμφανίζονται στη βιβλιογραφία δεδομένα από την επίδρασή της στον οστικό μεταβολισμό μετά από την διακοπή μακροχρόνιας χορήγησης [268,312]. Αυτά και δεδομένα από την πλούσια και πολύχρονη εμπειρία που υπάρχει στη χρήση των διφωσφονικών σε άλλες καταστάσεις αυξημένης οστικής αποδόμησης όπως π.χ. στη νόσο Paget και τις οστικές μεταστάσεις όπου έχουν χρησιμοποιηθεί εκτενώς η παμιδρονάτη και η κλοδρονάτη ενδοφλεβίως, δείχνουν ότι οι δυνατότητες της αλενδρονάτης δεν έχουν αξιοποιηθεί κατά τη χρήση της στην οστεοπόρωση. Καθώς λοιπόν η χρήση των δεικτών οστικής εναλλαγής επιτρέπει την «εξατομικευμένη» αντιμετώπιση της οστεοπόρωσης, τα σημαντικά ερωτήματα που απασχολούν σήμερα την επιστημονική γνώμη σε σχέση με τη χρήση των διφωσφονικών είναι: η επιλογή διακεκομμένου ή συνεχούς θεραπευτικού σχήματος, η ιδανική διάρκεια της αγωγής, η ενδοφλέβια ή εντερική οδός χορήγησης, ο συνδυασμός τους με άλλες δραστικές ουσίες, και η επέκταση της χρήσης τους σε παρόμοιες υπερμεταβολικές διαταραχές του σκελετού. Η συμβολή της μελέτη αυτής στα παραπάνω θέματα, αφορά στην μελέτη ενός διακεκομμένου σχήματος αλενδρονάτης από του στόματος, και στην επέκταση της χρήσης της αλενδρονάτης σε άμεσα μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες για πρόληψη της οστεοπόρωσης και σε γυναίκες με κατάγματα ισχίου.

Στη μελέτη αυτή και για τους λόγους που αναλύθηκαν προηγούμενα, υποθέσαμε ότι η διακεκομμένη χορήγηση 10mg αλενδρονάτης από του στόματος καθημερινά για δύο μήνες εναλλάξ με δύο μήνες χωρίς αγωγή, ήταν πιθανόν να έχει ευεργετική επίδραση στον οστικό μεταβολισμό ώστε να προστατεύει από την μετεμμηνοπαυσιακή οστική απώλεια και να αυξάνει την οστική πυκνότητα. Το σχήμα αυτό χορηγήθηκε παράλληλα με την κλασσική συνεχή χορήγηση και παράλληλα με ομάδα μαρτύρων, και μελετήθηκαν τα αποτελέσματα στην BMD και τους δείκτες οστικής εναλλαγής. Από τη μελέτη των μεταβολών των δεικτών εναλλαγής προέκυψαν τα εξής ενδιαφέροντα συμπεράσματα: α) έστω και αν υποθέσουμε ότι οι συγκεντρώσεις τους αυξομειώνονται συνεχώς μεταξύ των διαστημάτων χορήγησης και διακοπής της αγωγής, οι τιμές κατά το 12^ο μήνα (ελεύθερος αγωγής) είναι χαμηλότερες σε σύγκριση με τον 6^ο μήνα (μήνας χορήγησης). Άρα η αντιοστεοκλαστική δράση συνεχίζεται και κατά τα ελεύθερα αγωγής διαστήματα. β) με το διακεκομμένο σχήμα οι δείκτες οστικής σύνθεσης φθάνουν το ναδίρ τους καθυστερημένα κατά το 12^ο μήνα σε σύγκριση με το συνεχές (6^{ος} μήνας). γ) μόνον

το συνεχές σχήμα εξασφαλίζει προοδευτική αύξηση της οστικής πυκνότητας και παρατεταμένη καταστολή των δεικτών οστικής εναλλαγής μετά το 2^ο έτος. Λαμβάνοντας υπόψιν την φαρμακοκινητική της αλενδρονάτης υπάρχει μια ισορροπία ανάμεσα στη χορηγούμενη δόση, το ποσοστό που απεκκρίνεται, το ποσοστό που προσλαμβάνεται από τα οστά (που εξαρτάται από τη δόση και από το ρυθμό οστικής εναλλαγής), και το ρυθμό με τον οποίο αποκαλύπτεται η *παγιδευμένη αλενδρονάτη* στις οστικές επιφάνειες που εξαρτάται από το ρυθμό με τον οποίο προχωρά η οστική εναλλαγή παρά την καταστολή που έχει προκληθεί και από τη διάρκεια των ελεύθερων αγωγής διαστημάτων. Έτσι φαίνεται ότι κατά το 2^ο έτος χορήγησης του διακεκομμένου σχήματος που μελετήσαμε, ο ρυθμός απομάκρυνσης της αλενδρονάτης από το οστόν αυξάνεται τόσο ώστε η δράση της δεσμευμένης να μην αρκεί για να καταστέλλει την οστική εναλλαγή κατά τα ελεύθερα διαστήματα.

Στην ομάδα των άμεσα μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών η πανομοιότυπη χορήγηση αλενδρονάτης είχε σαν αποτέλεσμα μικρότερες ποσοστιαίες αυξήσεις της οστικής πυκνότητας. Αυτό εξηγείται από το ότι οι απώτερα μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες είχαν μικρότερη μέση οστική πυκνότητα ($-2,5$ SD vs $-1,5$ SD). Θα μπορούσε επίσης η διαφορά αυτή να οφείλεται σε ταχύτερο ρυθμό οστικής εναλλαγής που μπορεί να συνοδεύει την άμεση μετεμμηνοπαυσιακή ηλικία. Ωστόσο, οι αρχικές τιμές των δεικτών οστικής εναλλαγής στη μελέτη αυτή δεν παρουσίαζαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των άμεσα και απώτερα μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών, εκτός από την οστική αλκαλική φωσφατάση ($23,12 \pm 12,74$ με $69,82 \pm 21,23$, $P < 0,0001$) και το προπεπτιδίο του κολλαγόνου I ($72,51 \pm 21,1$ με $22,43 \pm 6,9$, $P < 0,0001$). Αξίζει εδώ να αναφερθεί ακόμη μια φορά η μελέτη των Mazzuoli et al [125], που δείχνει ότι ο ρυθμός οστικής εναλλαγής αυξάνεται κατά την άμεση μετεμμηνοπαυσιακή περίοδο και αμέσως ανακάμπτει για να ακολουθήσει νέα αύξηση 2-7 έτη αργότερα κατά την απώτερη μετεμμηνοπαυσιακή περίοδο. Σε μερικές χώρες του κόσμου τα 5mg αλενδρονάτης έχουν εγκριθεί για την πρόληψη της οστεοπόρωσης σε άμεσα μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Στη μελέτη αυτή δείξαμε ότι η διακεκομμένη χορήγηση 10mg ALN έχει παρόμοια αποτελέσματα με τα 5mg κατά το 1^ο έτος χορήγησης και θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί εναλλακτικά αντί για τα 5mg καθημερινά.

Τέλος όπως φάνηκε από τη μελέτη μας η συνεχής χορήγηση 10mg ALN σε γυναίκες με οστεοπορωτικά κατάγματα ισχίου, είχε υποδεέστερα αποτελέσματα στην αύξηση της οστικής πυκνότητας σε σύγκριση με παρόμοια χορήγηση σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με $BMD < -2,5SD$. Επειδή στις διαφορετικές ομάδες στις οποίες χορηγήσαμε αλενδρονάτη, τα αποτελέσματα ποικίλλουν πιστεύουμε ότι στη μελέτη αυτή διαφαίνεται η ανάγκη εξειδικευμένης χορήγησης και προσδιορισμού της

ιδανικής δόσης και τρόπου χορήγησης. Ωστόσο από τη μελέτη αυτή γίνεται σαφές ότι η συνεχής χορήγηση ALN προστατεύει από την μετεμμηνοπαυσιακή οστική απώλεια ή την οστική απώλεια που ακολουθεί ένα κάταγμα ισχίου. Επίσης φαίνεται ότι η διακεκομμένη χορήγηση ALN ανά δύο μήνες αρκεί για να αποτρέψει την μετεμμηνοπαυσιακή οστική απώλεια και να καταστείλει ικανοποιητικά το ρυθμό οστικής εναλλαγής κατά το πρώτο έτος χορήγησης.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Consensus Development Conference, prophylaxis and treatment of osteoporosis. *Am J Med* 90, 107-110, 1991
2. Wasnich RD, Ross PD, Heilbrun LK, Vogel JM. Prediction of postmenopausal fracture risk with use of bone mineral measurements. *Am J Obstet Gynecol* 153:745-751, 1985
3. Hui SL, Slemenda CW and Johnston CC. Baseline measurement of bone mass predicts fracture in white women. *Ann Intern Med* 111:355-361, 1989
4. Cummings SR, Black DM, Nevitt MC, Browner WS, Cauley JA, Genant HK, Mascioli SR, Scott JC, Seeley DG, Steiger P, Vogt T. for the SOF Research Group. Appendicular bone density and age predict hip fracture in women. *JAMA* 263:665-668, 1990
5. Melton III LJ, Atkinson EJ, O' Fallon WM, Wahner HW, Riggs BL. Long-term fracture prediction by bone mineral assessed at different skeletal sites. *J Bone Miner Res* 8:1227-1234, 1993
6. Kanis JA. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis: Synopsis of a WHO report. *Osteopor Int* 4:368-381, 1994
7. Riggs BL, Wahner HW, Seeman E, Offord KP, Dunn WI, Mazess RB, Johnson KA, Melton III LJ. Changes in bone mineral density of the proximal femur and spine with aging. Differences between the postmenopausal and senile osteoporosis syndromes. *J Clin Invest* 70:716-723, 1982
8. Garnero P, Hausherr E, Chapuy M.C. et al. Markers of bone resorption predict hip fracture in elderly women: the EPIDOS prospective study. *J Bone Miner Res* 11:1531-1538, 1996
9. Brunell JM, Baylink DJ, Chesnut CH III, Mathews MW, Teubner EJ. Bone matrix and mineral abnormalities in postmenopausal osteoporosis. *Metabolism* 31:113-1120, 1982
10. Crofts RD, Boyce TM, Bloebaum RD. Aging changes in osteon mineralization in the human femoral neck. *Bone* 15:147-152, 1994
11. Kleerekoper M, Villanueva AR, Stanciu J, Rao DS, Parfitt A.M. The role of three dimensional trabecular microstructure in the pathogenesis of vertebral compression fractures. *Calcif Tissue Int* 37:594-597, 1985
12. Recker RR. Architecture and vertebral fracture. *Calcif tissue Int* 53 (Suppl):S 139-142, 1993

13. Weinstein RS., Majumdar S. Fractal geometry and vertebral compression fractures. *J Bone Miner Res* 9:1797-1802, 1994
14. Frost H.M. Perspective: Defining osteopenias and osteoporoses. Another view (with insights from a new paradigm). *Bone* 20(5):385-391, 1997
15. Riggs BL, Melton LJ III. Evidence of two distinct syndromes of involutional osteoporosis. *Am J Med* 75:899-901, 1983
16. Frost H.M. Musculoskeletal system interactions. Proceedings of the 2nd International Seminar, In *Musculoskeletal interactions vol.2* (1998) Editor G.P. Lyritis, Hellenic Institution of osteoporosis, Athens
17. Burr D.B., Forwood M.R., Fythrie D.P., Martin R.B, Schaffler M.B., Turner C.H. Bone microdamage and skeletal fragility in osteoporotic and stress fractures. *J Bone Miner Res* 12:6-15, 1997
18. Kimmel D.B. A paradigm for skeletal strength homeostasis. *J Bone Miner Res* 8 (Suppl 2):515-522 , 1993
19. Parfitt A.M. The cellular basis of bone remodeling. The quantum concept re-examined in the light of recent advances in cell biology of bone. *Calcif tissue Int* 36:S37-45, 1984
20. Rodan G.A. Perspectives: Mechanical loading, estrogen deficiency and the coupling of bone formation to bone resorption. *J Bone Miner Res* 6:527-530, 1991
21. Partridge NC., Jeffrey JJ., Ehlich LS., Teitelbaum SL., Fliszar C, Welgus HG., Kahn AJ. Hormonal regulation of the production of collagenase and a collagenase inhibitor activity by rat osteogenic sarcoma cells. *Endocrinology* 120:1956-1962, 1987
22. Lian JB, Stein GS. Osteoblast biology In: *Osteoporosis*, ed. Marcus R., Feldman D, Kelsey J., Academic Press, 1996
23. Aarden EM, Burger HM, Nijweide PJ. Function of osteocytes in bone. *J Cell Biochem* 55:287-299, 1994
24. Chambers TJ, Fuller K. Bone cells predispose bone surfaces to resorption by exposure of mineral to osteoclastic attack. *J Cell Sci* 76:155-165, 1985
25. Gothlin G. and Erikson JLE. The osteoclast. Review of ultrastructure, origin and structure-function relationship. *Clin Orthop Rel Res* 120:201-231, 1976
26. Takahashi N, Akatsu T, Udagawa N, Sasaki T, Yamaguchi A, Moseley JM, Martin TJ, Suda T. Osteoblastic cells are involved in osteoclast formation. *Endocrinology* 123:2600-2602, 1988
27. Baron R, Neff L, Tran Van P, Nefussi JR, Vignery A. Kinetic and cytochemical identification of osteoclast precursors and their differentiation into multinucleated osteoclasts. *Am J Pathol* 122:363-378, 1986

28. Fisher JE, Caulfield MP, Sato M, Quatruccio HA, Gould RJ, Garsky VM, Rodan GA, Rosenblatt M. Inhibition of osteoclastic bone resorption in vivo by echistatin, an "arginyl-glycyl-aspartyl-" (RDG)-containing protein. *Endocrinology* 132:1411-13, 1993
29. Reinholt FP, Hultenby K, Oldberg A, Heinegard D. Osteopontin- a possible anchor of osteoclasts to bone. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:4473-75, 1990
30. Boyce BF, Yoneda T, Lowe C, Soriano P, Mundy GR. Requirement of pp60c-src expression of osteoclasts to form ruffled borders and resorb bone in mice. *J Clin Invest* 90:1622-1627, 1992
31. Lakkakorpi PT, Vaananen HK. Kinetics of the osteoclast cytoskeleton during the resorption cycle in vitro. *J Bone Miner Res* 6:817-826, 1991
32. Nakamura I, Sasaki T, Tanaka S, Takahashi N, et al. Phosphatidylinositol-3 kinase is involved in ruffled border formation in osteoclasts. *J Cell Physiol* 172: 230-23, 1997
33. Chellaiah M, Kizer N, Silva M et al. Gelsolin deficiency blocks podosome assembly and produces increased bone mass and strength. *J Cell Biol* 148(4): 665-678, 2000
34. Zhang D, Udagawa N, Nakamura I, Murakami H, et al. The small GTP-binding protein, rho p21, is involved in bone resorption by regulating cytoskeletal organization in osteoclasts. *J Cell Sci* 108: 2285-92, 1995
35. Blair HC, Teitelbaum SL, Ghiselli R, Gluck S. Osteoclastic bone resorption by a polarized vacuolar proton pump. *Science* 245:855-857, 1989
36. Eeckhout Y, Vaes G. Further studies on the activation of procollagenase, the latent precursor of bone collagenase . *Biochem J* 166:21-31, 1977
37. Blair HC, Teitelbaum SL, Schimke PA, Konsek JD, Koziol CM, Schlesinger PH. Receptor-mediated uptake of manose-6-phosphate bearing glycoprotein by isolated chicken osteoclasts. *J Cell Physiol* 137, 476-482, 1988
38. Sly WS, Hewett-Emmet D, Whyte MP, Yu Y, Tashian RE. Carbonic anhydrase II deficiency identified as the primary defect in the autosomal recessive syndrome of osteopetrosis with renal tubular acidosis and cerebral calcification. *Proc Natl Acad Sci USA* 80, 2752-56, 1983
39. Nicholson GC, Moseley JM., Sexton PM, Mendelsohn FAO, Martin TJ. Abundant calcitonin receptors in isolated rat osteoclasts. *J Clin Invest* 78:355-360, 1986
40. Chambers TJ, Magnus CJ. Calcitonin alters the behavior of isolated osteoclasts. *J Pathol* 136: 27-40, 1982
41. Hughes DE, MacDonald BR, Russell RGG, Gowen M. Inhibition of osteoclast-like cell formation by bisphosphonates in long-term cultures of human bone marrow. *J Clin Invest* 83: 1930-1935, 1989

- 42.Sahni M, Guenther HL, Fleisch H, Collin P, Martin TJ. Bisphosphonates act on rat bone resorption through the mediation of osteoblasts. *J Clin Invest* 91: 2004-2011, 1993
- 43.Hughes DE, Wright KR, Uy HL, Sasaki A et al. Bisphosphonates promote apoptosis in murine osteoclasts in vitro and in vivo. *J Bone Miner Res* 10: 1478-1487, 1995
- 44.Collucci S, Minielli V, Zamboni G, et al. Alendronate reduces adhesion of human osteoclast-like cells to bone and bone-protein coated surfaces. *Calcif Tissue Int* 63:230-235, 1998
- 45.Pacifici R. Review. Estrogen, cytokines, and pathogenesis of postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res* 11(8):1043-1051, 1996
- 46.Hughes D.E., Wiltschke K., Mundy G.R., Boyce B.F. Estrogen promotes osteoclast apoptosis in vitro and in vivo. *Bone* 16 (Suppl 1): 93 S, 1995
- 47.Eriksen EF, Hodgson SF, Eastell R, Cedel SL, O' Fallon WM, Riggs BL. Cancellous bone remodeling in type I (postmenopausal) osteoporosis: Quantitative assessment of rates of formation, resorption and bone loss at tissue and cellular levels. *J Bone Miner Res* 5: 311-319, 1990
- 48.Cohen-Solala M.E., Shih M-S., Lundy M.W., Parfitt A.M. A new method for measuring cancellous bone erosion depth: Application to the cellular mechanisms of bone loss in postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res* 6:1331-1318, 1991
- 49.Parfitt A.M., Mundy G.R., Roodman G.D., Hughes D.E., Boyce B. A new model for the regulation of bone resorption with particular reference to the effects of bisphosphonates. *J Bone Miner Res* 11(2):150-9, 1996
- 50.Manolagas S.C., Jilka R.L. Bone marrow, cytokines, and bone remodeling; emerging insights into the pathophysiology of osteoporosis. *N Engl J Med* 332: 305-311, 1996
- 51.Pfeilscher J, Diel I, Pilz U, Brunotte K, Naumann A, Zielger R. Mitogenic responsiveness of human bone cells in vitro to hormones and growth factors decreases with age. *J Bone Miner Res* 8:707-718, 1993
- 52.Langberg H, Skovgaard D, Petersen LJ, Bulow J, Kjaer HU. Type I collagen synthesis and degradation in peritendinous tissue after exercise determined by microdialysis in humans. *J Physiol* 521(1):299-306, 1999
- 53.Rennie MJ. Teasing out the truth about collagen. *J Physiol* 521(1): 1-2, 1999
- 54.Noda M, Yoon K, Rodan GA, Koppel DE. High lateral mobility of endogenous and transfected alkaline phosphatase: A phosphatidylinositol anchored membrane protein. *J Cell Biol* 105:1671-1677, 1989
- 55.Harris H. The human alkaline phosphatases: What we know and what we don't know. *Clin Chim Acta* 186:133-150, 1989

56. Weiss M.J., Cole D.E., Ray K., Whyte M.P., Lafferty M.A., Mulivor R.A., Harris H. A missense mutation in the human liver/bone/kidney alkaline phosphatase causing a lethal form of hypophosphatasia. *Proc Natl Acad Sci USA* 85:7666-69, 1989
57. Zimmerman B., Wachtel H.C., Vormann J. Kinetics of b-glycerophosphate -induced endochondral mineralization in vitro. Calcium accumulation, alkaline phosphatase activity and effects of levamisole. *Calcif Tissue Int* 51:54-61, 1992
58. Burch WM, Hammer G, Wuthier RE. Phosphotyrosine and phosphoprotein phosphatase activity of alkaline phosphatase in mineralized cartilage. *Metabolism* 34:169-175, 1985
59. Gomez B., Ardakani S, Ju J. et al. Monoclonal antibody assay for measuring bone - specific alkaline phosphatase activity in serum. *Clin Chem* 41:1560-1566, 1995
60. Garnero P, Shih WJ, Gineyts E, Karpf D, Delmas P. Comparison of new biochemical markers of bone turnover in late postmenopausal osteoporotic women in response to alendronate treatment. *J Clin Endocrinol Metab* 79 (6);1693-1700, 1994
61. Ebeling P, Atley LM, Guthrie JR, Burger HG, Dennerstein I, Hopper JL, Wark JD. Bone turnover markers and bone density across the menopausal transition. *J Clin Endocrinol Metab* 81(9);3366-71, 1996
62. Han ZH, Palnitkar S, Sudhaker D, Rao, Nelson D, Parfitt AM. Effects of ethnicity and age or menopause on the remodeling and turnover of iliac bone: implications for mechanisms of bone loss. *J Bone Miner Res* 12(4);498-508, 1997
63. Duda RJ Jr, O'Brien JF, Katzmann JA, Peterson JM, Mann KG, Riggs BL. Concurrent assays of circulating bone Gla-protein and bone alkaline phosphatase: effects of sex, age, and metabolic bone disease. *J Clin Endocrinol Metab* 66; 951-7, 1988
64. Thiede MA, Smock SL, Petersen DN, Grasser WA, Thompson DD, Nishimoto SK. Presence of messenger of ribonucleic acid encoding osteocalcin, a marker of bone turnover, in bone marrow megakaryocytes and peripheral blood platelets. *Endocrinology* 135, 929-937, 1994
65. Puchacz E, Lian JG, Stein GS, Wozney J, Huebner K, Croce C. Chromosomal localization of the human osteocalcin gene. *Endocrinology* 124:2648-2650, 1989
66. Kasai R, Bianco P, Gehron Robey P, Kahn AJ. Production and characterization of an antibody against the human bone GLA protein (BGP/osteocalcin) propeptide and its use in immunohistochemistry of bone cells. *Bone Miner* 25:167-182, 1994
67. Lian JB, Gundersen CM Osteocalcin- biochemical considerations and clinical applications. *Clin Orthop* 226, 267-291, 1988

68. Boskey AL, Wians FH Jr, Hauschka PV. The effect of osteocalcin on in vitro lipid-induced hydroxyapatite formation and seeded hydroxyapatite growth. *Calcif Tissue Int* 37: 57-62, 1985
69. Glowaski J, Lian JB. Impaired recruitment and differentiation of osteoclast progenitors of osteocalcin-depleted bone implants. *Cell Differ* 21:245-257, 1987
70. Pastoureau P, Vergnaud P, Meunier PJ, Delmas PD. Osteopenia and bone-remodeling abnormalities in warfarin-treated lambs. *J Bone Miner Res* 8:1417-1426, 1992
71. Delmas P.D., Christiansen C., Mann K.G., Price P.A. Bone gla-protein (osteocalcin) assay standardization report. *J Bone Miner Res* 1: 5-11, 1990
72. Gundberg CM, Markowitz ME, Mizruchi M, Rosen JF. Osteocalcin in human serum: a circadian rhythm. *J Clin Endocrinol Metab* 60:736-9, 1985
73. Delmas P.D., Malaval L., Arlot M.E., Meunier P.J. Serum bone gla-protein compared to bone histomorphometry in endocrine diseases. *Bone* 6:329-341, 1985
74. Eastell R, Delmas PD, Hodgson SF, Eriksen EF, Mann KG, Riggs BL. Bone formation rate in older women. Concurrent assessment with bone histomorphometry, calcium kinetics and biochemical markers. *J Clin Endocrinol Metab* 67:741-748, 1988
75. Johansen JS, Giwercman A, Hartwell D et al. Serum bone gla-protein as a marker of bone growth in children and adolescents: correlation with age, height, serum insulin-like growth factor I, and serum testosterone. *J Clin Endocrinol Metab* 67: 273-278, 1988
76. Delmas PD, Stenner D., Wahner HW, Mann KG, Riggs BL. Increases in serum bone gamma-carboxy-glutamic acid protein with aging in women: implications for the mechanism of age-related bone loss. *J Clin Invest* 71:1316-1321, 1983
77. Johansen JS, Riss BJ, Delmas PD, Christiansen C. Plasma BGP: An indicator of spontaneous bone loss and effect of estrogen therapy in postmenopausal women. *Eur J Clin Invest* 18:191-195, 1988
78. Eastell R, Robins SP, Colwell T, Assiri AMA, Riggs BL, Russel RGG. Evaluation of bone turnover in type I osteoporosis using biochemical markers specific for both bone formation and resorption. *Osteopor Int* 3:255-260, 1993
79. Delmas P.D. Biochemical markers of bone turnover. *J Bone Miner Res* 8(Suppl 2): S549-555, 1993
80. Delmas P.D. Biochemical markers of bone turnover for the clinical investigation of osteoporosis. *Osteopor Int* 3 (Suppl 1): 81-6, 1993

81. Plantalech L, Guillaumont M, Vergnaud P et al. Impairment of gamma carboxylation of circulating osteocalcin (bone Gla protein) in elderly women. *J Bone Miner Res* 6: 1211-16, 1991
82. Vergnaud P, Garnero P, Meunier PJ et al. Undercarboxylated osteocalcin measured with a specific immunoassay predicts hip fracture in elderly women: The EPIDOS study. *J Clin Endocrinol* 82: 719-24, 1997
83. Szulc P., Arlot M., Chapuy M.C., Duboeuf F., Meunier P.J., Delmas P.D. Serum undercarboxylated osteocalcin correlates with hip bone mineral density in elderly women. *J Bone Miner Res* 9(10):1591-95, 1994
84. D.J. Prockop, K.I. Kivirikko, L. Tuderman, N.A. Guzman. The biosynthesis of collagen and its disorders. *New Engl J Med* 301: 77-85, 1979
85. Trivedi BP, Risteli J, Risteli L, Hindmarsch PC., Brook CGD., Mowat AP. Serum concentrations of the type I and III procollagen propeptides as biochemical markers of growth velocity in healthy infants and children and in children with growth disorders. *Pediatr Res* 3:276-80 1991
86. Farloni A, Bini V, Cabiati G., Papi F., Arzano S., Celi F., Sanasi M. Serum levels of type I procollagen C-terminal propeptide, insulin-like growth factor- I (IGF-I), and IGF-binding protein-3 in obese children and adolescents: relationship to gender, pubertal development, growth, insulin nad nutritional status. *Metabolism* 46(8): 862-71, 1997
87. Ebeling P.R., Peterson J.M., Riggs BL. Utility of type I procollagen assays for assessing abnormalities in metabolic bone diseases. *J Bone Miner Res* 7(11): 1243-1250, 1992
88. Parfitt AM, Simon LS., Villanueva AR. et al. Procollagen type I carboxyterminal extension peptide in serum as a marker of collagen biosynthesis in bone. Correlation with iliac bone formation rates and comparison with total alkaline phosphatase. *J Bone Miner Res* 2: 427-36, 1987
89. Charles P, Mosekilde L, Risteli L, Risteli J, Eriksen EF. Assessment of bone remodeling using biochemical indicators of type I collagen synthesis and degradation: relation to calcium kinetics. *Bone Miner* 24(2): 81-94, 1994
90. Hassager C., Fabbri-Mabelli G., Christiansen C. The effect of menopause and hormone replacement therapy on serum carboxyterminal propeptide of type I collagen. *Osteopor Int* 3(1): 50-52, 1993
91. Mauras N., Doi S.Q., Shapiro J.R. Recombinant human insulin-like growth factor I, recombinant human growth hormone and sex steroids: effects on markers of bone turnover in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 81(6): 2222-6, 1996

92. Rauch F, Blum WF, Klein K, Allolio B, Schonau E. Does leptin have an effect on bone in adult women? *Calcif Tissue Int* 63(6): 453-5, 1998
93. Hasling C, Eriksen EF, Melkko J, Ristelli L, Charles P, Mosekilde L, Ristelli J. Effects of a combined estrogen-gestagen regimen on serum levels of the carboxy-terminal propeptide of human type I procollagen in osteoporosis. *J Bone Miner Res* 6:1295-1300, 1991
94. Schlemmer A, Hassager C, Jensen SB, Christiansen C. Marked diurnal variation in urinary excretion of pyridinium cross-links in premenopausal women. *J Clin Endocrinol metab* 74, 476-480, 1992
95. Seibel MJ, Robins SP, Bilezikian JP. Urinary pyridinium cross-links of collagen. *Trends Endocrinol Metab* 3: 263-270, 1992
96. Eyre DR, Koob TJ, Van Ness KP. Quantification of hydroxypyridinium crosslinks in collagen by high-performance liquid chromatography. *Anal Biochem* 137:380-388, 1984
97. Seyedin SM, Kumg VT, Daniloff YN, Hesley RP, Gomez B, Nielsen LA, Rosen HN, Zuk RF. Immunoassay for urinary pyridinoline: The new marker of bone resorption. *J Bone Mine Res* 5: 635-641, 1993
98. Robins SP, Woitge H, Hesley R, Ju J, Seyedin S, Seibel MJ. Direct enzyme-linked immunoassay for urinary deoxypyridinoline as a specific marker for measuring bone resorption. *J Bone Miner Res* 9 (10):1643-49, 1994
99. Delmas PD, Garnero P. Utility of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. In *Osteoporosis* p.1081, Ed. Marcus R., Feldman D., Kelsey J. Academic Press 1996
100. Del Campo MT, Gonzalez-Casaus ML, Aguado P, Bernad M, Carrera F, Martinez ME. Effects of age, menopause and osteoporosis on free, peptide-bound and total pyridinium crosslink excretion. *Osteopor Int* 9(5):449-454, 1999
101. Tobias J, Laversuch C, Wilson N et al. Neridronate preferentially suppresses the urinary excretion of peptide-bound deoxypyridinoline in postmenopausal women. *Calcif Tissue Int* 59: 407-9, 1996
102. Garnero P, Gineyts E, Arbault P et al. Different effects of bisphosphonate and estrogen therapy on free and peptide- bound bone cross-links excretion. *J Bone Miner Res* 10: 641-649, 1995
103. Robins S. Pyridinium cross-links as bone resorption markers. In *Bone Markers*. Ed. Eastell R, Bauman M, Hoyle N, Wiczorek L, Martin Dunitz, 2001, ISBN: 1-84184-067-X, p.52.

104. Beardsworth LJ, Eyre DR, Dickson IR. Changes with age in the urinary excretion of lysyl- and hydroxyllysylpyridinoline, two new markers of bone collagen turnover. *J Bone Miner Res* 5: 671-676, 1990
105. Uebelhart D, Schlemmer A, Johansen J, Gineyts E, Christiansen C, Delmas PD. Effect of menopause and hormone replacement therapy on the urinary excretion of pyridinium crosslinks. *J Clin Endocrinol Metab* 72:367-373, 1991
106. Schlemmer A, Hassager C, Delmas PD, Christiansen C. Urinary excretion of pyridinium cross-links in healthy women; the long-term effects of menopause and oestrogen/progesterone therapy. *Clin Endocrinol (Oxf)* 40(6):777-782, 1994
107. Fledelius C, Riis BJ, Overgaard K, Christiansen C. The diagnostic validity of urinary free pyridinolines to identify women at risk of osteoporosis. *Calcif tissue Int* 54:381-384, 1994
108. Hanson DA, Weis M-AE, Bollen A-M, 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* 7:1251-8, 1992
109. Apone S, Fevold K, Lee M, Eyre D. A rapid method for quantifying osteoclast activity in vitro. *J Bone Miner Res* 9 (Suppl 1):178, 1994
110. Eyre D.R. The specificity of collagen cross-links as markers of bone and connective tissue degradation. *Acta Orthop Scand* 66 (Suppl 266):166-170, 1995
111. Gertz BJ, Shao P, Hanson DA, Quan H, Harris ST, Genant HK, Chesnut CH III, Eyre DR. Monitoring bone resorption in early postmenopausal women by an immunoassay for cross-linked collagen peptides in urine. *J Bone Miner Res* 9(2): 135-142, 1994
112. Taguchi Y, Gorai I, Zhang MG, Chaki O, Nakayama M, Minaguchi H. Differences in bone resorption after menopause in Japanese women with normal or low bone mineral density; Quantitation of urinary cross-linked N-telopeptides. *Calcif Tissue Int* 62, 395-399, 1998
113. Rosen HN, Dresner-Pollak R, Moses AC, Rosenblatt M, Zeind AJ, Clemens JD, Greenspan SL. Specificity of urinary excretion of cross-linked N-telopeptides of type I collagen as a marker of bone turnover. *Calcif Tissue Int* 54: 26-9, 1994
114. Bonde M, Qvist P, Fledelius C, Riis BJ, Christiansen C. Immunoassay for quantifying type I collagen degradation products in urine evaluated. *Clin Chem* 40: 2022-25, 1994
115. Garnero P, Gineyts E, Riou JP, Delmas PD. Assessment of bone resorption with a new marker of collagen degradation in patients with metabolic bone disease. *J Clin Endocrinol Metab* 3:780-5, 1994

116. Antoniou J, Huk O, Zukor D, Eyre D, Alini M. Collagen crosslinked N-telopeptides as markers for evaluating particulate osteolysis: a preliminary study. *J Orthop Res* 18(1):64-7, 2000
117. Bonde M, Qvist P, Fledelius C, Riis BJ, Christiansen C. Applications of an enzyme immunoassay for a new marker of bone resorption (Cross-Laps): follow-up on hormone-replacement therapy and osteoporosis risk assessment. *J Clin Endocrinol Metab* 80:864-8, 1995
118. Rogers A, Hannon RA, Eastell R. Biochemical markers as predictors of rates of bone loss after menopause. *J Bone Miner Res* (2000) 15(7), 1398-1404
119. Garnero P, Sornay-Rendu E, Chapuy MC, Delmas PD. Increased bone turnover in late postmenopausal women is a major determinant of osteoporosis. *J Bone Miner Res* (1996) 11: 337-49
120. Hui S.L., Slemenda C.W., Johnston C.C., Appledorn C.R. Effects of age and menopause on vertebral bone density. *Bone Miner* (1987) 2, 141-146
121. Ribot C., Tremollieres F., Pouilles J.M., Louvet J.R., Guiraud R. Influence of the menopause and ageing on spinal density in French women. *Bone Miner* (1988) 5, 89-97
122. Herd Lund L.R., Gallaher J.C., The effect of age and menopause on bone mineral density of the proximal femur. *J Bone Miner Res* (1989) 4, 639-641
123. Pouilles J.M., Tremollieres F., Ribot C. The effects of menopause on longitudinal bone loss from the spine. *Calcif Tissue Int* 1993 52: 340-343
124. Mazzuoli G., Acca M., Pisani D. et al. Annual skeletal balance and metabolic bone marker changes in healthy early postmenopausal women: results of a prospective study. *Bone* 26(4) :381-386
125. Slemenda C., Longcope C, Peacock M, Hui S, Johnston CC. Sex steroids, bone mass and bone loss: a prospective study of pre-, peri- and postmenopausal women. *J Clin Invest* 97:14-21, 1996
126. Garnero P., Sornay-Rendu E., Duboeuf F., Delmas P. Markers of bone turnover predict postmenopausal bone loss over 4 years: the OFELY study. *J Bone Miner Res* (1999) 14(9): 1614-1621
127. Riis B.J., Overgard K., Christiansen C. The diagnostic validity of urinary free pyridinolines to identify women at risk of osteoporosis. *Calcif Tissue Int* (1994) 54:381-384
128. Chaki O., Yoshikata I., Kikuchi R., Nakayama M., Uchiyama Y., Hirahara F., Gorai I. The predictive value of biochemical markers of bone turnover and bone mineral

- density in postmenopausal Japanese women. *J Bone Miner Res* (2000) 15(8): 1537-1544
129. Cosman F, Nieves J, Wilkinson C, Schnering D, Shen V, Lindsay R. Bone density change and biochemical indices of skeletal turnover. *Calcif Tissue Int* (1996) 58: 236-243
130. Keen R.W., Nguyen T., Sobnack R., Perry L.A., Thompson P.W., Specror T.D. Can biochemical markers predict bone loss at the hip and spine? A 4-years prospective study of 141 early postmenopausal women. *Osteopor Int* (1996) 6:399-406
131. Beck-Jensen JE., Kollerup G., Sorenesn H.A., Pors Nielsen S., Sorensen O.H. A single measurement of bone turnover has limited utility in the individual person. *Scand J Clin Lab Invest* (1997) 57(4), 351-359
132. Blumsohn A., Herrington K., Hannon R.A., Shao P., Eyre D.R., Eastell R. The effect of calcium supplementation on the circadian rhythm of bone resorption. *J Clin Endocrinol Metab* (1994) 79: 730-735
133. Eastell R., Calvo M.S., Burritt M.F., Offord K.P., Russell R.G., Riggs B.L. Abnormalities in circadian patterns of bone resorption and renal calcium conservation in type I osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* (1992) 74: 487-494
134. Van Daele P.L.A., Seibel M.J., Burger H., Hofman A., Grobbee D.E., Van Leeuwen J.P., Birkenhager J.C., Pols H.A. Case-control analysis of bone resorption markers, disability and hip fracture: the Rotterdam study. *BMJ* (1996) 312:482-483
135. Garnero P., Dragent-Molina P., Hans D., Schott A.M., Bréart G., Meunier P.J., Delmas P.D. Do markers of bone resorption add to bone mineral density and ultrasonographic heel measurement for the prediction of hip fracture in elderly women? The EPIDOS prospective study. *Osteopor Int* (1998) 8:563-569
136. Ross PD, Kress BC, Parson RE et al. Serum bone alkaline phosphatase and calcaneus bone density predict fracture: a prospective study. *Osteoporos Int* 11:76-82, 2000
137. Lips P., Bouillon R., Jongen M.J.M., van Ginkel F.C., van der Vijgh W.J.F., Netelenbos J.C. The effect of trauma on serum concentrations of vitamin D metabolites in patients with hip fracture. *Bone* (1985) 6: 63-67
138. Cooper C., McClaren M., Wood P.J., Coulton L., Kanis J.A. Indices of calcium metabolism in women with hip fracture. *Bone Miner* (1989) 5:193-200
139. Åkesson K., Vergnaud P., Gineyts E., Delmas R.D., Obrant K.J. Impairment of bone turnover in elderly women with hip fracture. *Calcif Tissue Int* (1993) 53: 162-169

- 140.Slovick D.M., Gundberg C.M., Neer R.M., Lian J.B. Clinical evaluation of bone turnover by serum osteocalcin measurements in a hospital setting. *J Clin Endocrinol Metab* (1984) 59 (2): 228-230
- 141.Hedström M., Sjöberg K., Svenson J., Brosjö E., Dalén N. Changes in biochemical markers of bone metabolism and BMD during the first year after a hip fracture. *Acta Orthop Scand* (2001) 72(3):248-251
- 142.Dretakis EK, Dretakis KE, Papakitsou E, Psarakis S, Stergiopoulos K. Possible predisposing factors for the second hip fracture. *Calcif Tissue* (1998) 62:366-369
- 143.Jett S, Wu K, Frost HM. Tetracycline-based histological measurement of cortical - endosteal bone formation in normal and osteoporotic rib. *Henry Ford Hosp Med J* (1967) 15, 325-344
- 144.Eveton I., Frisch B, Cohen Z, Hammel I. Osteopenia, hematopoiesis, and bone remodeling in iliac crest and femoral biopsies: A prospective study of 102 cases of femoral neck fractures. *Bone* (1991) 12, 1-6
145. mineral density and bone markers. In "Bone markers" Ed. Eastell R, Baumann M, Hoyle NR, Miczoreck L. Martin Dunitz, London, 2001, p.198-199
- 146.Prestwood K.M., Pilbeam C.C., Burleson J.A., Woodiel F.N., Delmas P., Deftos L.J., Raisz L.G. The short-term effect of conjugated estrogen on bone turnover in older women. *J Clin Endocrinol Metab* (1994) 79(2): 366-371
- 147.Hannon R., Blumsohn A., Naylor K., Eastell R. Response of biochemical markers of bone turnover to hormone replacement therapy: impact of biological variability. *J Bone Miner Res* (1998) 13(7):1124-1133
- 148.Ravn P, Bidstrup M, Wasnisch RD et al. Alendronate and estrogen-progestin in the long-term prevention of bone loss; 4-year results from the early postmenopausal intervention cohort study. *Ann Intern med* 131; 935-42, 1999
- 149.Harris E.T., Gertz B.J., Genant H.K. et al. The effect of short-term therapy with alendronate on vertebral density and biochemical markers of bone remodeling in early postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* (1993) 76(6): 1399-1403
- 150.Greenspan SL, Parker RA, Ferguson L et al. Early changes in biochemical markers of bone turnover predict the long-term response to alendronate therapy in representative elderly women: a randomised clinical trial. *J Bone Miner Res* 13:1431-8, 1998
- 151.Rossini M, Gatti D, Zamberlan N, Braga V, Dorizzi R, Adami S. Long-term effects of a treatment course with alendronate of postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res* 9; 1833-7, 1994

152. Civitelli R, Gonnelli S, Zacchei F, Bigazzi S, Vettimo A, Avioli LV, Gennari C. Bone turnover in postmenopausal osteoporosis: effect of calcitonin treatment. *J Clin Invest* 82:1268-74, 1988
153. Lufkin EG, Wahner HW, O' Fallon WM, Hodgson SF, Kotowicz MA, Lane AW, Judd HL, Caplan RH, Riggs BL. Treatment of postmenopausal osteoporosis with transdermal estrogen. *Ann Int Med* 117: 1-9, 1992
154. Riis BJ, Overgaard K, Christiansen C. Biochemical markers of bone turnover to monitor the response to postmenopausal hormone replacement therapy. *Osteopor Int* 5:276-280, 1995
155. Machado BCA, Hannon R, Eastell R. Monitoring alendronate therapy for osteoporosis. *J Bone Miner Res* 14; 602-8, 1999
156. Ravn P, Hosking D, Thompson D et al. Monitoring of alendronate treatment and prediction of effect of bone mass by biochemical markers in the early postmenopausal intervention cohort study. *J Clin Endocrinol Metab* 84; 2363-8, 1999
157. Garnero P, Datre C, Delmas PD. A model to monitor the efficacy of alendronate treatment in women with osteoporosis using a biochemical marker of bone turnover. *Bone* 24; 603-9, 1999
158. Carter DR, Hayes WC. Bone compressive strength: The influence of density and strain rate. *Science* 194:1174-1175, 1976
159. Mosekilde L, Danielson CC. Biomechanical competence of vertebral trabecular bone in relation to ash density and age in normal individuals. *Bone* 8:79-85, 1987
160. Cody DD, Goldstein SA, Flynn MJ, Brown EB. Correlations between vertebral regional bone mineral density (rBMD) and whole bone fracture load. *Spine* 16:146-154, 1991
161. Moro M, Hecker AT, Bouxsein ML, Myers ER. Failure load of thoracic vertebrae correlates with lumbar bone mineral density measured by DXA. *Calcif Tissue Int* 56: 206-209, 1995
162. Wahner H.W. Use of densitometry in management of osteoporosis. In *Osteoporosis* (eds) Marcus R, Feldman D, Kelsey J. Academic Press 1996
163. McBroom RJ, Hayes WC, Edwards WT, et al. Prediction of vertebral body compressive fracture using quantitative computed tomography. *J Bone J Surg* 67A (8): 1206-1213, 1985
164. Riggs BL, Wahner HW, Dunn WL, Mazess RB, Offord KP, Melton LJ III. Differential changes in bone mineral density of the appendicular and axial skeleton with aging. *J Clin Invest* 67:328-335, 1981

165. Cummings S. Are patients with hip fractures more osteoporotic? *Am J Med* 78:487-494, 1985
166. Nakamura N, Kyou T, Takaoka K, Ohzono K, Ono K. Bone mineral density in the proximal femur and hip fracture type in the elderly. *J Bone Miner Res* 74:351-6, 1992
167. Karlsson MK, Johnell O, Nilsson BE, Sernbo I, Obrant KJ. Bone mineral mass in hip fracture patients. *Bone* 14: 161-5, 1993
168. Greenspan SL, Myers ER, Maitland LA, Resnick NM, Hayes WC. Fall severity and bone mineral density as risk factors for hip fracture in ambulatory elderly. *JAMA* 271: 128-33, 1994
169. Wasnich RD, Ross PD, Heirbrun LK, Vogel JM. Selection of the optimal site for fracture risk prediction. *Clin Orthop* 216: 262-8, 1987 .
170. Hui SL, Slemenda CW, Johnston CC. Age and bone mass as predictors of fracture in a prospective study. *J Clin Invest* 81:1804-09, 1988
171. Ross PD, Wasnich RD, Vogel JM. Detection of prefracture osteoporosis using bone mineral absorptiometry. *J Bone Miner Res* 3:1-11, 1988
172. Lester GE, Anderson JJB, Tylavsky FA, Sutton WR, Stinnett SS, Demasi RA et al. Update on the use of distal radial bone density measurements in prediction of hip and Colle's fracture risk. *J Orthop Res* 8:220-6, 1990
173. Porter RW, Miller CG, Grainger D, Palmer SB. Prediction of hip fracture in elderly women: a prospective study. *BMJ* 301: 638-41, 1990
174. Cleghorn DB, Polley KJ, Bellon MJ, Chatterton J, Baghurst PA, Nordin BEC. Fracture rates as a function of forearm mineral density in normal postmenopausal women: retrospective and prospective data. *Calcif Tissue Int* 49: 161-3, 1991
175. Gardsell P, Johnell O, Nilsson BE. Predicting various fragility fractures in women by forearm bone densitometry: a follow-up study. *Calcif Tissue Int* 52:348-53, 1993
176. Nguyen T, Sambrook P, Kelly P, Jones G, Freund J et al. Prediction of osteoporotic fractures by postural instability and bone density. *BMJ* 307: 1111-5, 1993
177. Nevitt MC, Johnell O, Black DM, Ensrud K, Genant HK, Cummings SR. Bone mineral density predicts fractures in edlerly women. *Osteopor Int* 4:325-31, 1994
178. Cheng S, Suominen H, Era P, Heikkinen E. Bone density of the calcaneus and fracture in 75- and 80- year old men and women. *Osteopor Int* 4: 48-54, 1994
179. Cummings SR, Black DM, Nevitt MC, et al. Bone density at various sites for the prediction of hip fractures. *Lancet* 341: 72-75, 1993
180. Marshall D, Johnell O, Wedel H. Meta-analysis of how well measures of bone mineral density predict occurrence of osteoporotic fractures. *BMJ* 312: 1254-59, 1996

181. Mazess RB, Barden HS. Interrelationships among bone densitometry sites in normal young women. *Bone Miner* 11: 347-356, 1990
182. Truscott JG, Olroyd B, Simpson M et al. Variation in lumbar spine and femoral neck bone mineral, measured by dual energy X-ray absorption: a study of 329 normal women. *British J Radiology* 66: 514-521, 1993
183. Rodin A, Murby B, Smith MA, Caleffi M, Fentiman I, Chapman MG et al. Premenopausal bone loss in the lumbar spine and neck of femur: a study of 225 Caucasian women. *Bone* 11: 1-5, 1990
184. Bonnicksen SL, Nichols DL, Sanborn CF, Lloyd K, Payne SG, Lewis L, Reed CA. Dissimilar spine and femoral z-scores in premenopausal women. *Calcif Tissue Int* 61: 263-65, 1997
185. Looker AC, Johnston CC, Wahner WH, Dunn WL, Calvo MS, Harris TB, Heyse SP, Lindsay RL. Prevalence of low femoral bone density in older U.S. women from NHANES III. *J Bone Miner Res* 10: 796-802, 1995
186. Slemenda CW, Reister TK, Longcope C, Peacock M, Johnston CC. Significant premenopausal bone loss from the hip: It's association with sex steroids. *J Bone Miner Res* 9: S272, 1994
187. Krolner B, Pors Nielsen S. Bone mineral content of the lumbar spine in normal and osteoporotic women: Cross-sectional and longitudinal studies. *Clin Sci* 62:329-336, 1982
188. Pouilles JM, Tremolieres F, Ribot C. The effects of menopause on longitudinal bone loss from the spine. *Calcif Tissue Int* 52: 340-343, 1993
189. Citron JT, Ettinger B, Genant HK. Spinal bone loss in estrogen-replete, calcium replete premenopausal women. *Osteoporos Int* 5:228-233, 1995
190. Garton M, Martin J, New S et al. Bone mass and metabolism in women aged 45-55. *Clin Endocrinol* 44:563-570, 1996
191. Hui SL, Slemenda CW, Johnston CC, Appledorn CR. Effects of age and menopause on vertebral bone density. *Bone Miner* 2:141-146, 1987
192. Hedlung LR, Gallagher JC. The effect of age and menopause on bone mineral density of the proximal femur. *J Bone Miner Res* 4:639-41, 1989
193. Nordin BEC, Need AG, Chatterton BE, Horowitz M, Morris HA. The relative contributions of age and years since menopause to postmenopausal bone loss. *J Clin Endocrinol Metab* 70: 83-88, 1989
194. H.W. Wahner, I Fogelman. Instruments and measurement techniques. In *The evaluation of osteoporosis: Dual energy X-ray absorptiometry in clinical practice.* Martin Dunitz Ltd, London, p.19, 1994

195. Genant HK, Block JE, Steiger P et al. Appropriate use of bone densitometry. *Radiology* 170: 817-22, 1989
196. Fleisch H. Bisphosphonates preclinical, In *Bisphosphonates in bone disease*. Ed Fleisch H, The Parthenon publishing group, London, p.32, 1997
197. Porras AG, Holland SD, Gertz BJ. Pharmacokinetics of alendronate. *Clin Pharmacokinet* 36(5): 315-28, 1999
198. Lin JH, Chen IW, deLuna FA. Nonlinear kinetics of alendronate. Plasma protein binding and bone uptake. *Drug Metab Dispos* 22(3): 400-5, 1994
199. Yates AJ, Rodan GA. Alendronate and osteoporosis. *DDT* 3(2):69-78, 1998
200. Sato M, Grasser W, Endo N, Akins R, Simmons H, Thompson D, Golub E, Rodan GA. Bisphosphonate action: Alendronate localization in rat bone and effects on osteoclast ultrastructure. *J Clin Invest* 88: 2095-2105, 1991
201. Breuil V, Cosman F, Stein L, Horbert W, Nieves J, Shen V, Lindsay R, Dempster DW. Human osteoclast formation and activity in vitro: Effects of alendronate. *J Bone Miner Res* 13 (11): 1721-1729, 1998
202. Apone S., Lee M.Y., Eyre D.R. Osteoclasts generate cross-linked collagen N-telopeptides (NTx) but not free pyridinolines when cultured on human bone. *Bone* 21 (2): 129-136, 1997
203. Zimolo Z, Wesolowski G, Rodan GA. Acid extrusion is induced by osteoclast attachment to bone. Inhibition by alendronate and calcitonin. *J Clin Invest* 96(5): 2277-83, 1995
204. Teronen O, Heikkila P, Konttinen YT, Laitinen M et al. MMP inhibition and downregulation by bisphosphonates. *Ann NY Acad Sci* 30; 878: 453-65, 1999
205. Stronski SA, Bettschen-Camin L, Wettewald A, Felix R, Trechel U, Fleisch H. Bisphosphonates inhibit 1,25-dihydroxyvitamin D₃ induced increase of osteocalcin in plasma of rats in vivo and in culture medium of rat calvaria in vitro. *Calcif Tissue Int* 42(4): 248-54, 1988
206. Van der Pluijm G, Lowik CW, de Groot H, Alblas MJ, van der Wee-Pals LJ, Bijvoet OL, Papapoulos S. Modulation of PTH-stimulated osteoclastic resorption by bisphosphonates in fetal mouse bone explants. *J Bone Miner Res* 6(11): 1203-10, 1991
207. Sanders J.L, Tarjan G, Foster S.A, Stern P.H. Alendronate/interleukin-1b cotreatment increases interleukin-6 in bone and UMR-106 cells: dose-dependence and relationship to the antiresorptive effect of alendronate. *J Bone Miner Res* 13(5):786-92, 1998

208. Dunn CJ, Galinet LA, Wu H, Nugent RA, Schlachter ST, Staite ND, Aspar DG, Elliot GA, Essani NA, Rohloff NA, Smith RJ. Demonstration of novel anti-arthritic and anti-inflammatory effects of diphosphonates. *J Pharmacol Exp Ther* 266: 1691-1698, 1993
209. Sansori P, Passeri G, Fangoni F, Mohagheghpour N, Snelli G, Brianti V, Engelman EG. Inhibition of antigen-presenting cell function by alendronate in vitro. *J Bone Miner Res* 10(11):1719-25, 1995
210. Sugawara S, Shibazaki M, Takada H, Kogusi H, Endo Y. Contrasting effects of an aminobisphosphonate, a potent inhibitor of bone resorption, on lipopolysaccharide-induced production of interleukin-1 and tumor necrosis factor alpha in mice. *Br J Pharmacol* 125(4): 735-40, 1998
211. Rogers MJ, Chilton KM, Coxon FP, Lawry J, Smith MO, Suri S, Russell RGG. Bisphosphonates induce apoptosis in mouse macrophage-like cells in vitro by a nitric oxide-independent mechanism. *J Bone Miner Res* 11(10): 1482-91, 1996
212. Hogquist KA, Nett MA, Unanue ER, Chaplin DD. Interleukin-1 is processed and released during apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 8485-8489, 1991
213. Guy J.A, Shea M, Peter C.P, Morrissey R, Hays W.C. Continuous alendronate treatment throughout growth, maturation and aging in the rat results in increases in bone mass and mechanical properties. *Calcif Tissue Int* 53(4):283-8, 1993
214. Bikle DD, Morey-Holton ER, Doty SB, Currier PA, Tanner SJ, Halloran BP. Alendronate increases skeletal mass of growing rats during unloading by inhibiting resorption of calcified cartilage. *J Bone Miner Res* 9(11):1777-87, 1994
215. Thompson D.D, Seedor J.G, Weinreb M, Rosini S, Rodan G.A. Aminoxybutane bisphosphonate inhibits bone loss due to immobilization in rats. *J Bone Miner Res* 5:279-286, 1990
216. Mian M, Benetti D, Aloisi R et al. Effects of orally administered bisphosphonates on bone loss in a disuse osteopenia model involving the rat. *Clin Exp Rheumatol* 14(6): 619-24, 1996
217. Seedor JG, Quartuccio HA, Thompson DD. The bisphosphonate alendronate (MK-217) inhibits bone loss due to ovariectomy in rats. *J Bone Miner Res* 6 (4):339-46, 1991
218. Toolan B.C, Shea M, Myers E.R, Borchers R.E, Seedor J.G, Quartuccio H, Rodan G, Hayes W.c. Effects of 4-amino-1-hydroxybutylidene bisphosphonate on bone biomechanics in rats. *J Bone Miner Res* 7(12):1399-406, 1992

219. Thompson D.D, Seedor J.G, Quartuccio H et al. The bisphosphonate alendronate, prevents bone loss in ovariectomized baboons. *J Bone Miner Res* 7(8): 951-60, 1992
220. Balena R, Toolan B.C, Shea M, Markatos A, Myers ER, Lee Sc, Opas E.E, Seedor J.G, Klein H, Frankenfield D, Quartuccio H, Fioravanti C, Clair J, Brown E, Hayes W.C, Rodan G.A. The effects of two year treatment with the aminobiphosphonate alendronate on bone metabolism, bone histomorphometry and bone strength in ovariectomized non-human primates. *J Clin Invest* 92:2577-2586, 1993
221. Balena R, Markatos A, Gentile M, Masarachia P, Seedor JG, Rodan GA, Yamamoto M. The aminobiphosphonate alendronate inhibits bone loss induced by thyroid hormone in the rat. Comparison between effects on tibiae and vertebrae. *Bone* 14(3):499-504, 1993
222. Yamamoto M, Markatos A, Seedor JG, Masarachia P, Gentile M, Rodan GA, Balena R. The effects of the aminobisphosphonate alendronate on thyroid hormone-induced osteopenia in rats. *Calcif Tissue Int* 53(4): 278-82, 1993
223. Wimalawansa S.J, Simmons D.J. Prevention of corticosteroid-induced bone-loss with alendronate. *Proc Soc Exp Biol Med* 217(2): 162-7, 1998
224. Sass D, Bowman A.R, Yuan Z, Ma Y, Jee W.S, Epstein S. Alendronate prevents cyclosporin A-induced osteopenia in the rat. *Bone* 21(1): 65-70, 1997
225. Thompson D.D, Seedor J.G, Grasser W, Rosenblatt M, Rodan G.A. Effect of alendronate (Bisphosphonate) in animal models of hyperparathyroidism. *Contrib Nephrol* 91: 134-9, 1991
226. Azuma Y, Sato H, Oue Y et al. Alendronate distributed on bone surfaces inhibits osteoclastic bone resorption in vitro and in hypercalcaemia induced models. *Bone* 16, 235-245, 1995
227. Kozak S, Rizzoli R, Treschel U, Fleisch H. Effect of a single injection of two new bisphosphonates on the hypercalcemia and hypercalciuria induced by Walker carcinosarcoma 256/B in thyroparathyroidectomized rats. *Cancer Res* Dec 1; 47(23):6193-7, 1987
228. Tohkin M, Kakudo S, Kasai H, Arita H. Comparative study of inhibitory effects by murine interferon gamma and a new bisphosphonate (alendronate) in hypercalcemic, nude mice bearing human tumor (LJC-1-JCK). *Cancer Immunol Immunother* 39(3):155-60, 1994
229. Shanbhag A.S, Hasselman C.T, Rubash H.E. The John Charnley award. Inhibition of wear debris mediated osteolysis in a canine total hip arthroplasty model. *Clin Orthop Rel Res* 344:33-43, 1997

230. Åstrand J, Aspenberg P. Alendronate did not inhibit instability-induced bone resorption. A study in rats. *Acta Orthop Scand* 70(1): 67-70, 1999
231. Horowitz SM, Algan S.A, Purdon M.A. Pharmacologic inhibition of particulate-induced bone resorption. *J Biomed Mater Res* 31: 91-96, 1996
232. Aspenberg P, Astrand J. Bone allografts pretreated with a bisphosphonate are not resorbed. *Acta Orthop Scand* 73(1):20-23, 2002
233. Murakami H., Takahashi N., Sasaki T., Udagawa N., Tanaka S., Nakamura I, Zhang D., Barbier A., Suda T. A possible mechanism of the specific action of bisphosphonates on osteoclasts: Tiludronate preferentially affects polarized osteoclasts having a ruffled border. *Bone* 17: 137-144, 1995
234. Owens J.M., Fuller K, Chambers TJ. Osteoclast activation: Potent inhibition by the bisphosphonate alendronate through a non resorptive mechanism. *J Cell Physiol* 172: 79-86, 1997
235. Sato M, Graser W. Effects of bisphosphonates on isolated rat osteoclasts as examined by reflected light microscopy. *J Bone Miner Res* 5:31-40, 1990
236. VanBeek E, Hoekstra M, Van Der Ruit M, Lowik C, Papapoulos S. Structural requirements for bisphosphonate actions in vitro. *J Bone Miner Res* 9;1875-1882, 1994
237. Luckman SP, Hughes DE, Coxon FP, Russell RGG, Rogers MJ. Nitrogen-containing bisphosphonates inhibit the mevalonate pathway and prevent post-translational prenylation of GTP-binding protein, including Ras. *J Bone Miner Res* 13;581-589, 1998
238. Rowe DJ, Hausmann E. The alteration in osteoclast morphology by diphosphonates in bone organ culture. *Calcif tissue Res* 20:53-60, 1976
239. Reszka A.A, Halasy-Nagy J.M, Masarachia P.J, Rodan G.A. Bisphosphonates act directly on the osteoclast to induce caspase cleavage of Mst 1 kinase during apoptosis. *J Biol Chem*, 274(49); 34967-973, 1999
240. Amin D, Cornell SA, Gustafson SK, Needle SJ, Ulrich JW, Bilder GE, Perrone MH. Bisphosphonates used for the treatment of bone disorders inhibit squalene synthase and cholesterol biosynthesis. *J Lipid Res* 33(11); 1657-1663, 1992
241. Olkkonen VM, Stenmark H. Role of Rab GTPases in membrane traffic. *Int Rev Cytol* 176;1-85, 1997
242. Glomset JA, Gelb MH, Fransworth CC. Geranylgeranylated proteins. *Biochem Soc Trans* 20(2); 479-484, 1992
243. Van Beek E, Löwik C, Van der Pluijm G, Papapoulos S. The role of geranylgeranylation in bone resorption and its suppression by bisphosphonates in

- fetal bone explants in vitro: A clue to the mechanism of action of nitrogen-containing bisphosphonates. *J Bone Miner Res* 14(5), 1999
244. Fisher JE, Rogers MJ, Halasy JM, Luckman SP, Hughes DE, Masarachia PJ, Wesolowski G, Russell RGG, Rodan GA, Reszka AA. Alendronate mechanism of action: geranylgeraniol, an intermediate in the mevalonate pathway, prevents inhibition of osteoclast formation, bone resorption, and kinase activation in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 96(1); 133-138, 1999
245. Lowik CV, Van der Pluijm G. Mechanisms of action of bisphosphonates: Studies with bone culture systems, in *Bisphosphonate therapy in acute and chronic bone loss*. Ed OLM Bijovet, H. Fleisch, RE Canfield and RGG Russell, p 155-170. Elsevier Science, Amsterdam, 1995
246. Nishikawa M, Akatsu T, Katayama Y, Yasutomo Y, Kado S, Kugai N, Yamamoto M, Nagata N. Bisphosphonates act on osteoblastic cells and inhibit osteoclast formation in mouse marrow cultures. *Bone* 18(1):9-14, 1996
247. Vitte C, Fleisch H, Guenther HL. Bisphosphonates induce osteoblasts to secrete an inhibitor of osteoclast-mediated resorption. *Endocrinology* 137(6):2324-2332, 1996
248. Chambers TJ. Diphosphonates inhibit bone resorption by macrophages in vitro. *J Pathol* 132: 255-262, 1980
249. Cecchini MG and Fleisch H. Bisphosphonates in vitro specifically inhibit among the hematopoietic series, the development of the mouse mononuclear phagocyte lineage. *J Bone Miner Res* 5: 1019-1027, 1990
250. Rodan GA, Martin TJ. Role of osteoblasts in hormonal control of bone resorption: a Hypothesis. *Calcif Tissue Int* 33:349-351, 1981
251. Passeri G, Girasole G, Guiliani N, Pedrazzoni M, Ulietti V, Passeri M. The effect of bisphosphonates on the secretion of IL-6 by the MG-63 osteoblastic cell-line and the formation of CFU-F and CFU-OB in murine bone marrow [abstract]. *Bone* 16(Suppl): 169S, 1995
252. Guiliani N, Pedrazzoni M, Passeri G, Girasole G. Bisphosphonates inhibit IL-6 production by human osteoblast-like cells. *Scand J Rheumatology* 27:38-41, 1998
253. Chavassieux PM, Arlot ME, Reda C, Wei L, Yates AJ, Meunier PJ. Histomorphometric assessment of the long-term effects of alendronate on bone quality and remodeling in patients with osteoporosis. *J Clin Invest* 100(6): 1475-80, 1997
254. Garcia-Moreno C, Serrano S, Nacher M, Farre M, Diez A, Marinossos M.L, Carbonell J, Mellibovsky L, Nogues X, Ballester J, Aubia J. Effect of alendronate on cultured normal human osteoblasts. *Bone* 22(3): 233-239, 1998

255. Tsuchimoto M, Azuma Y, Higuchi O, Sugimoto I, Hirata N, Kiyoki M, Yamamoto I. Alendronate modulates osteogenesis of human osteoblastic cells in vitro. *Jpn J Pharmacol* 66:25-33, 1994
256. Guiliani N, Pedrazzoni M, Negri G, Passeri G, Impicciatore M, Girasole G. Biphosphonates stimulate formation of osteoblast precursors and mineralized nodules in murine and human bone marrow cultures in vitro and promote early osteoblastogenesis in young and aged mice in vivo. *Bone* 22(5): 455-461, 1998
257. Guiliani N, Girasole G, Pedrazzoni M, Passeri G, Gatti C, Passeri M. Alendronate stimulates b-FGF production and mineralized nodule formation in human osteoblastic cells and osteoblastogenesis in human bone marrow cultures. *J Bone Miner Res* 10 (Suppl): S171, 1995
258. Schmidt A, Rutledge SJ, Endo N, Opas EE, Tanaka H, Wesolowski G, Leu CT, Huang Z, Ramachandaran C, Rodan SB, Rodan GA. Protein-tyrosine phosphatase activity regulates osteoclast formation and function: inhibition by alendronate. *Proc Natl Acad Sci USA* 2;93(7):3068-73, 1996
259. Peter C and Rodan G. Merck Research Laboratories. Preclinical safety profile of alendronate. *IJCP Suppl* April 1999, p.3-8
260. Adami S, Passeri M, Ortolani S, Brogгинi M et al. Effects of oral alendronate and intranasal salmon calcitonin on bone mass and biochemical markers of bone turnover in postmenopausal women with osteoporosis. *Bone* 17(4): 383-390, 1995
261. Chesnut CH, McClung MR, Ensrud KE et al. Alendronate treatment of the postmenopausal osteoporotic woman: effect of multiple dosages on bone mass and bone remodeling. *Am J Med* 99 :144- 152, 1995
262. Tucci JR, Torino RP, Emkey RD et al. Effect of three years of oral alendronate treatment in postmenopausal women with osteoporosis. *Am J Med* 101: 488-501, 1996
263. Devogelaer JP, Broll H, Correa-Rotter et al. Oral alendronate induces progressive increases in bone mass of the spine, hip, and total body over 3 years in postmenopausal women with osteoporosis. *Bone* 19: 141-150, 1996
264. Liberman U.A, Weiss S.R, Bröll J, et al. Effect of oral alendronate on bone mineral density and the incidence of fractures in postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med* 333(22): 1437-1443, 1995
265. Torino RP, Meunier PJ, Emkey R et al. Skeletal benefits of alendronate: 7-year treatment of postmenopausal osteoporotic women. *J Clin Endocrinol Metab* 85(9) :3109-3115, 2000

- 266.Heaney RP. The bone remodeling transient: implications for the interpretation of clinical studies of bone mass change. *J Bone Miner Res* 9(10) ;1515-1523, 1994
- 267.Boivin GY, Chavassieux PM, Santora AC et al. Alendronate increases bone strength by increasing the mean degree of mineralization of bone tissue in osteoporotic women. *Bone* 27: 687-694, 2000
- 268.Bagger YB, Tanko LB, Alexandersen P, Christiansen C. Long-term preventive effect of alendronate on osteoporosis: what happened after withdrawal of treatment? IOF World congress on osteoporosis. Lisbon, Portugal 10-14 May 2002, Abstract in *Osteopor Int* 13 (Suppl 1); S15, 2002
- 269.Hernandez CJ, Beaupre GS, Marcus R, Carter DR. A theoretical analysis of the contributions of remodeling space, mineralization, and bone balance to changes in bone mineral density during alendronate treatment. *Bone* 29(6); 511-6, 2001
- 270.Cummings SR, Black DM, Vogt TM for the FIT research group. Changes in BMD substantially underestimate the anti-fracture effects of alendronate and other antiresorptive drugs. 18th Annual meeting of the ASBMR. Washington September 7-11, 1996. *J Bone Miner Res* 11 Suppl 1:29, 1996
- 271.Black DM, Reiss TF, Nevitt MC, Cauley J, Karpf D, Cummings SR. Design of the fracture intervention trial. *Osteopor Int* 3 (Suppl 3): S29-39, 1993
- 272.Black DM, Cummings SR, Karpf DB, Cauley JA, Thompson DE, Nevitt MC, Bauer DC, Genant HK, Haskell WL, Marcus R, Ott SM, Torner JC, Quandt SA,Reiss TF, Ensrud KE, for the Fracture Intervention Trial Research Group. Randomised trial of effect of alendronate on risk of fracture in women with existing vertebral fractures. *Lancet* 348:1535-41, 1996
- 273.Cummings SR, Black DM, Thompson DE, Applegate WB, Barrett-Conor E, Musliner TA, Palermo L, Prineas R, Rubin SM, Scott JC, Vogt T, Wallace R, Yates AJ, LaCroix AZ. Effect of alendronate on risk of fracture in women with low bone density but without vertebral fractures: results from the Fracture Intervention Trial. *JAMA* Dec 23-30; 280(24):2077-82, 1998
- 274.Pols HA, Felsenberg D, Hanley DA, Stepan J, Munoz-Torres M, Wilkin TJ, Qinsheng G, Galich AM, Vandormael K, Yates AJ, Stych B. Multinational, placebo-controlled, randomized trial of the effects of alendronate on bone density and fracture risk in postmenopausal women with low bone mass: results of the FOSIT study. Fosamax International Trial group. *Osteopor Int* 9(5): 461-8, 1999
- 275.Schnitzer TJ. Update on alendronate for osteoporosis: once-weekly dosing. *Expert Opin Pharmacother* 2(9); 1461-1471, 2001

- 276.Spector TD, McCloskey EV, Doyle DV, Kanis JA. Prevalence of vertebral fracture in women and the relationship with bone density and symptoms: The Chingford study. *J Bone Miner Res* 8: 817-822, 1993
- 277.Harisson JE, Patt N, Muller C, Bayley TA, Budden FH, Josse RG, Murray TM, Sturtridge WC, Strauss A, Goodwin S. Bone mineral mass associated with postmenopausal vertebral deformities. *Bone Miner* 10:243-251, 1990
- 278.Nelson DA, Kleerekoper M, Peterson EL. Reversal of vertebral deformities in osteoporosis: measurement error or rebound? *J Bone Miner Res* 9:977-982, 1994
- 279.Karazian L, Graves GA. Compressive strength characteristics of the human vertebral centrum. *Spine* 2: 1-14, 1977
- 280.Leidig G, Minne HW, Sauer P, Wuster C, Wuster J, Lojen M, Raue F, Ziegler R. A study of complaints and their relation to vertebral destruction in patients with osteoporosis. *Bone Miner* 8: 217-229, 1990
- 281.Seeley D, Browner W, Nevitt M, Genant H, Scott J, Cummings S. Which fractures are associated with low appendicular bone mass in elderly women? *Ann Intern Med* 115:837-42, 1991
- 282.Nevitt MC, Thompson DE, Black DM et al. Effect of alendronate on limited- activity days and bed-disability days caused by back pain in postmenopausal women with existing vertebral fractures. *Arch Intern Med* 160: 77-85, 2000
- 283.Karppä DB, Shapiro DR, Seeman E, Ensrud KE, Johnston CC, Adami S et al. Prevention of non vertebral fractures with alendronate. *JAMA* 277:1159-1164, 1997
- 284.Guyatt GH. Evidence-based management of patients with osteoporosis. *J Clin Densitometry* 1(4):395-402, 1998
- 285.Black DM, Thompson DE, Bauer DC et al. Fracture risk reduction with alendronate in women with osteoporosis: The Fracture Intervention Trial. *J Clin Endocrinol Metab* 85(11): 4118- 4124, 2000
- 286.Quant SA, Thompson DE, Schneider D, Nevitt M, Musliner T. Alendronate reduces the risk of clinical vertebral fracture in osteopenic women: Data from FIT. *Bone* 28 (5 Suppl): S229, 2001
- 287.Orwoll E, Ettinger M, Weiss S et al. Alendronate for the treatment of osteoporosis in men. *N Engl J Med* 343: 604-610, 2000
- 288.McClung M, Clemmesen B, Daifotis A et al. Alendronate prevents postmenopausal bone loss in women without osteoporosis: a double-blind, randomized controlled trial. *Ann Intern Med* 128(4):253-261, 1998
- 289.Adachi JD, Saag KD, Delmas PD et al. Two-year effects of alendronate on bone mineral density and vertebral fracture in patients receiving glucocorticoids; a

- randomized, double-blind, placebo-controlled extension study. *Arthr Rheum* 44: 201-211, 2001
- 290.Cimaz R, Falcini F, Bardare M et al. Safety and efficacy of alendronate for the treatment of osteoporosis in paediatric rheumatic diseases. *Arthr Rheum* 42(Suppl): S400, 1999
- 291.Thompson BM, Mundy GR, Chambers TJ. Tumor necrosis factor a and b induce osteoblastic cells to stimulate osteoclastic bone resorption. *J Immunol* 138: 775-9, 1987
- 292.Thompson BM, Saklatrala J, Chambers TJ. Osteoblasts mediate Interleukin 1 responsiveness of bone resorption by rat osteoclasts. *J Exp Med* 164: 104-12, 1986
- 293.Frost HM. The ADFR concept revisited. *Calcif Tissue Int* 36:349-353,
- 294.Frost HM. Treatment of osteoporosis by manipulation of coherent bone cell populations. *Clin Orthop Rel Res* 143: 227-244, 1979
- 295.Steinicke T, Eriksen E.F, Kudsk H, Mosekilde L, Melsen F. Reconstruction of the formative site in trabecular bone by a new quick and easy method. *Bone* 13; 147-152, 1992
- 296.Perrone G, Galoppi P, Valente M, Capri O, D' Ubaldo C, Anelli G, Zichella L. intranasal salmon calcitonin in postmenopausal osteoporosis: effect of different therapeutic regimens on vertebral and peripheral bone density. *Gynecol Obst Invest* 33: 168-171, 1992
- 297.Fioretti P, Gambacciani M, Taponeco F, Melis G.B, Capelli N, Spinetti A. Effects of continuous and cyclic nasal calcitonin administration in ovariectomized women. *Maturitas* 15: 225-232, 1992
- 298.Peichl P, Rintelen B, Kumpan W, Broll H. Increase of axial and appendicular trabecular and cortical bone in established osteoporosis with intermittent nasal calcitonin therapy. *Gynecol Endocrinol* 13(1): 7-14, 1999
- 299.Watts NB, Harris ST, Genant HK, Wasnich RD, Miller PD, et al. Intermittent cyclical etidronate treatment of postmenopausal osteoporosis. *N Engl J Med* 323: 73-79, 1990
- 300.Storm T, Thamsborg G, Steiniche T, Genant HK, Sorensen OH. Effect of intermittent cyclical etidronate therapy on bone mass and fracture rate in women with postmenopausal osteoporosi. *N Engl J Med* 322: 1265-1271, 1990
- 301.Harris ST, Watts NB, Jackson RD, Genant HK, Wasnich RD, Miller PD, Licata A, Chesnut CH. Four-year study of intermittent cyclic etidronate therapy of postmenopausal osteoporosis: 3 years of blinded therapy followed by one year of open therapy. *Am J Med* 95:557-567, 1993

302. Giannini S, D' Angelo A, Malvasi L, Castrignano R, Tronca R, Nobile M, Crepaldi G. Effects of one year cyclical treatment with clodronate on bone mass and mineral metabolism in postmenopausal osteoporosis. *Bone* 14: 137-141, 1993
303. Devogelaer JP, Nagant de Deuxchaisnes C. Treatment of involutional osteoporosis with the bisphosphonate ADP (disodium pamidronate): non-linear increase of lumbar spine bone mineral density. *J Bone Miner Res* 5 (Suppl 2): S251, 1990
304. Ryan PJ, Blake GM, Davie M, Haddaway M, Gibson T, Fogelman I. Intermittent oral disodium pamidronate in established osteoporosis: a 2 year double-masked, placebo-controlled study of efficacy and safety. *Osteopor Int* 11(2): 171-176, 2000
305. Papapoulos S. Bisphosphonates: Pharmacology and use in the treatment of osteoporosis. In *Osteoporosis* Ed Marcus R, Feldman D, Kelsey J, by Academic Press Inc, 1996, p: 1222
306. Delmas P. The use of biochemical markers of bone turnover for monitoring treatment of osteoporosis. In *Bone Markers*, Ed Eastell R, Bauman M, Hoyle NR, Wiczorek L, by Martin Dunitz Ltd, London 2001, p;152
307. Passeri M, Baroni MC, Pedrazzoni M, Pioli M, Barbagallo M, Costi D, Biondi M, Girasole G, Arlunno B, Palummeri E. Intermittent treatment with intravenous 4-amino-1-hydroxybutylidene-1,1-bisphosphonate (AHBuBP) in the therapy of postmenopausal osteoporosis. *Bone Miner* 15: 237-248, 1991
308. Bone H, Adami S, Rizzoli R et al. Weekly administration of alendronate: rationale and plan for clinical assessment. *Clin Therap* 22(1): 65-68, 2000
309. Heikkinen JE, Selander KS, Laitinen K, Arnala I, Vaananen HK. Short-term intravenous bisphosphonates in prevention of postmenopausal bone loss. *J Bone Miner Res* 12; 103-110, 1997
310. Thiebaud D, Burkhardt P, Kriegbaum H, Huss H, Mudler H, Juttman JR, Schoter KH. Three-monthly intravenous injections of ibandronate in the treatment of postmenopausal osteoporosis. *Am J Med* 103: 298-307, 1997
311. Vasikaran SD, Khan S, McCloskey EV, Kanis JA. Sustained response to intravenous alendronate in postmenopausal osteoporosis. *Bone* 17: 517-520, 1995
312. Stock JL, Norman HB, Chesnut III CH, Ensrud KE et al. Increments in bone mineral density of the lumbar spine and hip and suppression of bone turnover are maintained after discontinuation of alendronate in postmenopausal women. *Am J Med* 103; 291-297, 1997
313. Delmas PD, Eastell R, Garnero P, Seibel MJ, Stepan J. The use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. *Osteopor Int* 11 (Suppl: S2-17); 2000
314. Delmas PD. IOF. Bone marker nomenclature. *Bone* 28(6): 575-576, 2001

315. Ravn P, Weiss SR, Rodriguez-Portales JA, McClung MR, et al. Alendronate in early Postmenopausal women: effects on bone mass during long-term treatment and after withdrawal. *J Clin Endocrinol Metab* 85 (4); 1492-1497, 2000
316. Rossini M, Gatti D, Girardello S, Braga V, James G, Adami S. Effects of two intermittent alendronate regimens in the prevention of postmenopausal osteoporosis. *Bone* 27(1):119-122, 2000
317. Filippini P, Cristallini S, Policani G, Schifini MF, Casciari C, Garinei P. Intermittent versus continuous clondronate administration in postmenopausal women with low bone mass. *Bone* 26(3); 269-274, 2000
318. Delmas P, Recker R, Stakkestad JA, Chesnut III C et al. Oral ibandronate significantly reduces fracture risk in postmenopausal osteoporosis when administered daily or with a unique drug-free interval: results from a pivotal phase III study. *Osteopor Inter* 13(Suppl1):S15, IOF Congress on Osteoporosis, 2002
319. Dawson-Hughes B., Shipp C., Sadowski L., Dallal G. Bone density of the radius, spine and hip in relation to percent of ideal body weight in postmenopausal women. *Calcif Tissue Int* 40: 310-314, 1987
320. Stevenson JC, Lees B, Devenport M, Cust MP, Gagner KF. Determinants of bone density in normal women: risk factors for future osteoporosis? *Br Med J* 298: 924-928, 1989
321. Slemenda CW, Hui SL, Williams CJ, Christian JC, Meaney FJ, Johnston CC Jr. Bone mass and anthropometric measurements in adult females. *Bone Miner* 11:101-109, 1990
322. Trovas G, Lyritis GP, Galanos A, Raptou P, Katsiri M. Influence of weight gain on spine bone mineral density in postmenopausal women. *Calcif Tissue Int* 64: 380-383, 1999
323. Harris S, Dallal GE and Dawson-Hughes B. Influence of body weight on rates of change in bone density of the spine, hip, and radius in postmenopausal women. *Calcif Tissue Int* 50:19-23, 1992
324. Frumar AM, Meldrum DR, Geola F et al. Relationship of fasting urinary calcium to circulating estrogen and body weight in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 50: 70-75, 1980
325. Ribot C, Tremollieres F, Pouilles JM, Bonneu M, Germain F, Louvet JP. Obesity and postmenopausal bone loss: the influence of obesity on vertebral density and bone turnover in postmenopausal women. *Bone* 8: 327-331, 1987
326. Hassager C and Christiansen C. Influence of soft tissue body composition on bone mass and metabolism. *Bone* 10: 415-19, 1989

327. Ravn P, Cizza G, Bjarnason NH, Thompson D, Daley M, Wasnich RD, McClung M, Hosking D, Yates AJ, Christiansen C. Low body mass index is an important risk factor for low bone mass and increased bone loss in early postmenopausal women. Early postmenopausal intervention cohort (EPIC) study group. *J Bone Miner Res* 14(9):1622-7, 1999
328. Hotta M, Fukuda I, Sato K, Hizuka N, Shibasaki T, Takano K. The relationship between bone turnover and body weight, serum insulin-like growth factor (IGF) I and serum IGF-binding protein levels in patients with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 85 (1):200-6, 2000
329. Ostrowska Z, Zwirska-Korczala K, Buntner B, Pardela M, Drozd M. Assessment of bone metabolism in obese women. *Endocrinol Regul* 32(4): 177-181, 1998
330. Rasmussen MH, Jensen LT, Andersen T, Breum L, Hilsted J. Collagen metabolism in obesity: the effect of weight loss. *Int J Obes Relat Metab Disord* 19(9):659-63, 1995
331. Gill MS, Toogood AA, O' Neill PA, Adams JE, Thorner MO, Shalet SM, Clayton PE. Relationship between growth hormone (GH) status, serum leptin and body composition in healthy and GH deficient elderly subjects. *Clin Endocrinol (Oxf)* 47(2): 169-71, 1997
332. Sato M, Takeda N, Sarui H, Takami R, Hayashi M, Sasaki A, Kawachi S, Yoshino K, Yasuda K. Association between serum leptin concentrations and bone mineral density and biochemical markers of bone turnover in adult men. *J Clin Endocrinol Metab* 86(11): 5273-6, 2001
333. Ristelli J, Niemi S, Meikko J, Ristelli L. Collagen propeptides as indicators of collagen assembly. *Acta Orthop Scand Suppl* 266(Suppl): 66:183-188, 1995
334. Glauber HS, Vollmer WM, Nevitt MC, Ensrud KE, Orwoll ES. Body weight versus body fat distribution, adiposity and frame size as predictors of bone density. *J Clin Endocrinol Metab* 80: 1118-1123, 1995
335. Longcope C. and Baker S. Androgen and estrogen dynamics: Relationships with age, weight and menopausal status. *J Clin Endocrinol Metab* 76, 601-604, 1993
336. Ricci TA, Heymsfield SB, Pierson RN Jr, Stuhl T, Chowdhury HA, Shapses SA. Moderate energy restriction increases bone resorption in obese postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 73(2):347-352, 2001
337. Khosla S, Atkinson EJ, Melton J, Riggs BL. Effects of age and estrogen status on serum Parathyroid hormone levels and biochemical markers of bone turnover in women: A population-based study. *J Clin Endocrinol Metab* 82(5):1522-1527, 1997

338. Ebeling PR, Atley LM, Guthrie JR, et al. Bone turnover markers and bone density across menopausal transition. *J Clin Endocrinol Metab* 81: 3366-3371, 1996
339. Vestergaard P, Borglum J, Heickendorff L, Mosekilde L, Richelsen B. Artifact in bone mineral measurements during a very low calorie diet: short-term effects of growth hormone. *J Clin Densitom Spring* 3(1): 63-71, 2000
340. Jensen LB, Kollerup G, Quaade F, Sorensen OH. Bone mineral changes in obese women during a moderate weight loss with and without calcium supplementation. *J Bone Miner Res* 16:141-147, 2001
341. Rauch F, Blum WF, Klein K, Allolio B, Schonau E. Does leptin have an effect on bone in adult women? *Calcif Tissue Int* 63(6):453-5, 1998
342. Boston DA. Bilateral fractures of the femoral neck. *Injury* 14:207-210, 1983
343. Finsen V, Benum P. The second hip fracture. An epidemiologic study. *Acta Orthop Scand* 57:431-33, 1986
344. Schrøder HM, Petersen KK, Erlandsen M. Occurrence and incidence of the second hip fracture. *Clin Orthop Rel Res* 289: 166-9, 1993
345. Karlsson MK, Johnell O, Nilsson BE et al. Bone mineral mass in hip fracture patients. *Bone* 14(2): 161-5, 1993
346. Dretakis EK, Kontakis G, Steriopoulos K, Dretakis KE, Kouvidis G. Broadband Ultrasound attenuation of the os calcis in female postmenopausal patients with cervical and trochanteric fractures. *Calcif Tissue Int* 57:419-21, 1995
347. Dretakis EK, Papakitsou EF, Kontakis G, Dretakis KE, Steriopoulos K. Bone Mineral density, Body mass Index, and Hip Axis length in postmenopausal Cretan women with cervical and trochanteric fractures. *Calcif tissue Int* 64: 257-258, 1999
348. Dirckx DR. Accelerated bone mineral loss following a hip fracture: A prospective longitudinal study. *Bone* 20(2): 7, 1997
349. Καλούδης Ι, Καραχάλιος Θ, Κωνσταντέλλου Ε κα. Η επίδραση της χορήγησης 200IU καλσιτονίνης σολωμού στους βιοχημικούς δείκτες και στην οστική πυκνότητα ασθενών με πρόσφατο κάταγμα ισχίου. *Οστων* 9(1):9-14, 1998
350. Lips P. Lower mobility and markers on bone resorption in the elderly. *Bone Miner* 9:49-57, 1990
351. Tsakalacos N. The effect of short-term calcitonin administration on biochemical bone markers in patients with acute immobilization following hip fracture. *Osteoporos Int* 3:337-40, 1993
352. Dreher R, Lingg G, Schulz A. Low bone turnover in the hip region as a risk factor for osteoporotic fractures of the neck of the femur: possible change of paradigm. *Osteoporos Int* 13(Suppl 1): S106, 2002

353. Kamel HK, Duthie EH. The underuse of therapy in the secondary prevention of hip fractures. *Drugs aging* 19(1): 1-10, 2002
354. Punnonen R, Salmi J, Tuimala R, Jarvinen M, Pystynen P. Vitamin D deficiency in women with femoral neck fracture. *Maturitas* 8(4): 291-5, 1986
355. Hodsman AB, Hanley DA, Josse R. Do bisphosphonates reduce the risk of osteoporotic fractures? An evaluation of the evidence to date. *CMAJ* 166(11): 1426, 2002
356. Hutchinson TA, Polansky SM, Feinstein AR. Postmenopausal estrogens protect against fractures of hip and distal radius. A case-control study. *Lancet*, Oct 6: 705-9, 1979
357. Kiel DP, Felson DT, Anderson PW, Moskowitz MA. Hip fracture and the use of estrogens in postmenopausal women. The Framingham study. *N Engl J Med* 317: 1169-74, 1987
358. Krieger N, Kelsey JL, Holford TR, O'Connor T. An epidemiologic study of hip fracture in postmenopausal women. *Am J Epidemiol* 116: 141-148, 1982
359. Pruzansky ME, Turano M, Luckey M, Senie R. Low body weight as a risk factor for hip fracture in both black and white women. *J Orthop Res* 7: 192-197, 1989
360. Faulkner KG, Cummings SR, Black D, Palermo L, Gluer C, Genant HK. Simple measurement of femoral geometry predicts hip fracture. The study of osteoporotic fractures. *J bone Miner Res* 8(10): 1211-17, 1994
361. Nakamura T, Tumer CH, Yoshikawa T et al. Do variations in hip geometry explain differences in hip fracture risk between Japanese and white Americans? *J Bone Miner Res* 9(7): 1071-76, 1994
362. Chin K, Evans J, Cornish T et al. Differences in HAL in premenopausal women of Polynesian, Asian and European origin. *Osteopor Int* 7: 344-347, 1997

Η αλενδρονάτη (ΑΛΝ) είναι ένα αμινοδιφωσφονικό άλας με ισχυρή αντιοστεοκλαστική δράση. Η συνεχής χορήγηση ΑΛΝ από το στόμα σε απώτερα μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με χαμηλή οστική πυκνότητα, μειώνει το ρυθμό οστικής εναλλαγής [261] και προκαλεί σημαντική και προοδευτική [265] αύξηση της οστικής πυκνότητας (7,4-9,6% σε ΟΜΣΣ και 3,5-5,8% σε αυχένα μηριαίου σε 3 έτη [261,262,263,264]), με αποτέλεσμα να μειώνει κατά 50% περίπου [264,274] τον κίνδυνο οστεοπορωτικών καταγμάτων.

Στόχος της παρούσας μελέτης ήταν να εκτιμήσει την επίδραση της αλενδρονάτης στον οστικό μεταβολισμό και στην πρόληψη της οστικής απώλειας κατά την άμεση μετεμμηνοπαυσιακή περίοδο και στην πρόληψη της οστικής απώλειας που ακολουθεί ένα κάταγμα ισχίου σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Επιπλέον, με βάση τον τρόπο δράσης και τις ιδιότητες της αλενδρονάτης, υποθέσαμε ότι η διακεκομμένη χορήγηση από το στόμα πιθανόν να καταστέλλει ικανοποιητικά το ρυθμό οστικής εναλλαγής και να προφυλάσσει από την οστική απώλεια, ενώ παρέχει μικρότερη αθροιστική δόση. Έτσι μελετήσαμε τα αποτελέσματα ενός σχήματος διακεκομμένης χορήγησης 10mg ΑΛΝ καθημερινά για δύο μήνες και δύο μήνες χωρίς αγωγή εναλλάξ, στον οστικό μεταβολισμό και την οστική πυκνότητα μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών άμεσης και απώτερης εμμηνοπαυσιακής ηλικίας.

Στη μελέτη αυτή η εκτίμηση του ρυθμού οστικής εναλλαγής έγινε με βιοχημικές μεθόδους και τη χρήση νεώτερων δεικτών σύνθεσης και αποδόμησης. Έτσι μελετήθηκε ο μετεμμηνοπαυσιακός οστικός μεταβολισμός και διερευνήθηκε η σχέση των οστικών δεικτών και του ισοζυγίου οστικής εναλλαγής με το σωματικό δείκτη (BMI) μετά την εμμηνόπαυση. Ειδικότερα, αξιολογήθηκε ο ρόλος του BMI ως παράγοντα που προδιαθέτει σε οστεοπόρωση και σε οστεοπορωτικά κατάγματα ισχίου.

Για τους παραπάνω σκοπούς, μελετήθηκαν τα αποτελέσματα χορήγησης ΑΛΝ σε τρεις διαφορετικές ομάδες μετεμμηνοπαυσιακών (ΜΕΠ) γυναικών και παράλληλων μαρτύρων που διέφεραν μεταξύ τους ως προς την ηλικία και τη σοβαρότητα της οστικής απώλειας και άρα ως προς τις θεραπευτικές ανάγκες. Οι ομάδες αυτές ήταν: α) άμεσα μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (με τελευταία έμμηνο ρύση 6 μήνες έως 3 έτη πριν) με χαμηλή BMD (<-1,5SD σε T-score) στις οποίες στόχος της αγωγής είναι κυρίως η προστασία από την οστική απώλεια, β) σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (τελευταία έμμηνος ρύση >5 έτη πριν) με οστεοπόρωση (<-2,5 SD σε T-score) με στόχο την αύξηση της οστικής πυκνότητας και γ) σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με κάταγμα ισχίου που είναι οστεοπορωτικό κάταγμα και η παρουσία του αυξάνει επιπλέον τον κίνδυνο νέου οστεοπορωτικού κατάγματος.

Αναλυτικά λοιπόν:

A) Σε 36 άμεσα ΜΕΠ γυναίκες με μέση ηλικία $49,28 \pm 3,5$ έτη και χαμηλή BMD ($< -1,5SD$ σε T-score) χορηγήθηκαν τυχαιοποιημένα 10mg ALN καθημερινά συνεχώς και 500mg ασβεστίου καθημερινά είτε 10mg ALN καθημερινά επί δύο μήνες και δύο μήνες χωρίς ALN εναλλάξ και 500mg ασβεστίου καθημερινά είτε μόνον 500mg ασβεστίου καθημερινά (μάρτυρες), επί δύο χρόνια. Στην ομάδα που πήρε ALN συνεχώς η $BMD_{OM\S\S}$ και BMD_{AM} αυξήθηκε σημαντικά ($3,93 \pm 1,86\%$ ($P=0,022$) and $2,12 \pm 1,9\%$ ($P=0,037$), paired t-test αντίστοιχα) το 1^ο έτος. Στην ομάδα διακεκομμένης χορήγησης μόνον η $BMD_{OM\S\S}$ αυξήθηκε στατιστικά σημαντικά σε σχέση με τους μάρτυρες ($0,93 \pm 2,01\%$ vs $-1,94 \pm 1,73$, $P=0,042$, ANOVA). Συνεχιζόμενη αύξηση κατά το 2^ο έτος παρατηρήθηκε μόνον στην $BMD_{OM\S\S}$ της ομάδας συνεχούς χορήγησης ($0,89 \pm 1,62\%$, $P=0,047$ ANOVA). Η συνεχής χορήγηση οδήγησε σε σημαντική μείωση όλων των δεικτών οστικής εναλλαγής κατά 30-50% κατά το 12^ο μήνα, ενώ αντίστοιχα η διακεκομμένη χορήγηση προκάλεσε σημαντική μείωση στα S-OC, U-DPD και U-NTX-I σε σχέση με τους μάρτυρες ($P < 0,05$, ANOVA).

B) Σε 45 απώτερα μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με μέση ηλικία $64,35 \pm 6,2$ έτη και οστεοπόρωση (BMD $< -2,5SD$ σε T-score), χορηγήθηκαν 10mg ALN καθημερινά συνεχώς και 500mg ασβεστίου καθημερινά είτε 10mg ALN καθημερινά επί δύο μήνες και δύο μήνες χωρίς ALN εναλλάξ και 500mg ασβεστίου καθημερινά είτε μόνον 500mg ασβεστίου καθημερινά (μάρτυρες), επί δύο χρόνια. Μετά από 2 έτη, η συνεχής χορήγηση ALN προκάλεσε δραστική αύξηση στην BMD_{OM} και BMD_{AM} κατά $7,2 \pm 2,01\%$ και $2,64 \pm 2,01\%$ αντίστοιχα σε σύγκριση με τις αρχικές τιμές (paired t-test $P=0,0001$). Η διακεκομμένη χορήγηση είχε σαν αποτέλεσμα αντίστοιχη αύξηση της BMD_{OM} κατά $5,02 \pm 3,6\%$ (paired t-test $P=0,013$) και προστασία από την οστική απώλεια και σταθεροποίηση στην περιοχή του AM ($2,08 \pm 2,01\%$, paired t-test $P > 0,05$). Η συνεχής χορήγηση προκάλεσε άμεση (3^{ος} μήνας) πτώση όλων των δεικτών οστικής εναλλαγής κατά 30-60% που εξακολούθησαν να είναι μειωμένοι σε σύγκριση με τις αρχικές τιμές και στο τέλος του 2^{ου} έτους ($P < 0,038$, paired t-test). Κατά τη διακεκομμένη χορήγηση η μέγιστη μείωση στους δείκτες παρατηρήθηκε καθυστερημένα κατά το 12^ο μήνα και στη μέτρηση του 2^{ου} έτους οι περισσότεροι δείκτες δεν είχαν πια στατιστικά σημαντική μείωση.

Γ) Σε 40 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με πρόσφατο κάταγμα ισχίου χορηγήθηκαν 10mg ALN καθημερινά συνεχώς και 500mg ασβεστίου καθημερινά είτε 500mg ασβεστίου καθημερινά. Οι γυναίκες με κάταγμα ισχίου στις οποίες χορηγήθηκε αλενδρονάτη, απέφυγαν την οστική απώλεια και παρουσίασαν σημαντική αύξηση της $BMD_{OM\S\S}$ κατά $3,2 \pm 0,8\%$ (paired t-test $P=0,02$) σε σχέση με την αρχική. Η BMD_{OI} ήταν σημαντικά αυξημένη σε σύγκριση με τους μάρτυρες οι οποίοι εμφάνισαν μείωση της

οστικής πυκνότητας $-3,2 \pm 1,7\%$ ($P < 0,018$ t-test) στο ισχίο και $-2,3 \pm 0,93\%$ ($P < 0,02$ t-test) την ΟΜΣΣ.

Δ) Σε 130 υγιείς μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες διερευνήθηκε η σχέση του BMI με τους δείκτες οστικής εναλλαγής, τους δείκτες οστικού ισοζυγίου και την οστική πυκνότητα. Η BMD_{FN} ($P < 0,0001$), η ηλικία ($P < 0,0012$) και η BMD_{SP} ($P < 0,001$) σχετίζονταν θετικά με το BMI ενώ τα επίπεδα S-PICP ($P = 0,0017$, $R^2 = 0,088$) και η S-OC μετά από διόρθωση για την ηλικία ($r = -0,185$, $P = 0,048$) εμφάνισαν αρνητική σημαντική συσχέτιση με το BMI. Οι δείκτες οστικού ισοζυγίου $zOC-zDPD$, $zPICP-zDPD$, $zPICP-zPYD$, $zPICP-zNTX-I$ σχετίζονταν επίσης αρνητικά με την $BMD_{OMΣΣ}$. Οι δείκτες ισοζυγίου ($zPICP-zDPD$) και ($zPICP-zPYD$) συσχετίζονταν αρνητικά με το BMI ($r = -0,25$, $P = 0,01$ και $r = -0,21$, $P = 0,037$). Ανάλογα με το BMI οι γυναίκες χωρίστηκαν σε φυσιολογικές ($BMI < 25 \text{ kg/m}^2$), υπέρβαρες ($BMI = 25-30 \text{ kg/m}^2$) και παχύσαρκες ($BMI > 30 \text{ kg/m}^2$). Οι υπέρβαρες και παχύσαρκες είχαν κατά 30% χαμηλότερα επίπεδα S-PICP ($68,11 \pm 24,85 \text{ ng/ml}$ και $66,41 \pm 24,93 \text{ ng/ml}$ έναντι $97,47 \pm 23,36 \text{ ng/ml}$, $P = 0,0001$). Οι παχύσαρκες είχαν χαμηλότερους δείκτες ισοζυγίου $zPICP-zDPD$, $zPICP-zPYD$, $zPICP-zCTX-I$ (ANOVA, $P = 0,027$, $P = 0,0028$, $P = 0,02$) και υψηλότερη $BMD_{OMΣΣ}$ και BMD_{AM} σε σύγκριση με τις φυσιολογικές γυναίκες (ANOVA, $P = 0,0004$ και $P < 0,001$). Επίσης 40 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με κάταγμα ισχίου συγκρίθηκαν με 40 αντίστοιχης ηλικίας υγιείς μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και βρέθηκε ότι είχαν σημαντικά μικρότερο BMI και μικρότερη $BMD_{OMΣΣ}$ και BMD_{AM} (t-test, $P < 0,0001$).

Με βάση τα παραπάνω δεδομένα της μελέτης μας, συμπεραίνουμε ότι η συνεχής χορήγηση αλενδρονάτης, καταστέλλει άμεσα και σταθερά την οστική εναλλαγή και προκαλεί δραστικές αυξήσεις της οστικής πυκνότητας, σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με οστεοπόρωση και σε άμεσα μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με οστεοπενία. Επίσης προφυλάσσει από την οστική απώλεια που συνοδεύει το κάταγμα ισχίου και αυξάνει την οστική πυκνότητα μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών με τέτοιο κάταγμα.

Η διακεκομμένη χορήγηση ίδιας ημερήσιας δόσης αλενδρονάτης προκαλεί μικρότερη αύξηση της οστικής πυκνότητας στην ΟΜΣΣ και σταθεροποίηση στον αυχένα του μηριαίου, κυρίως κατά το 1^ο έτος χορήγησης. Οι δείκτες οστικής εναλλαγής εμφανίζουν μικρότερη, καθυστερημένη μείωση και μεγαλύτερη απόκλιση μεταξύ των διαδοχικών μετρήσεων, κατά τη διακεκομμένη χορήγηση. Ωστόσο επειδή οι τιμές τους βρίσκονται μειωμένες και κατά τα ελεύθερα αγωγής διαστήματα, φαίνεται ότι η αντιοστεοκλαστική δράση διατηρείται κατά τα διαστήματα διακοπής της αγωγής. Το διακεκομμένο ανά 2 μήνες σχήμα μπορεί να χορηγείται σε περιπτώσεις όπου στόχος είναι η πρόληψη της οστικής απώλειας και σταθεροποίηση της οστικής πυκνότητας.

Επιπλέον, από τη μελέτη μας φαίνεται ότι το αυξημένο BMI έχει ευεργετική επίδραση στην οστική πυκνότητα, ενώ το χαμηλό BMI αποτελεί προδιαθεσικό παράγοντα για κάταγμα ισχίου. Οι υπέρβαρες και παχύσαρκες γυναίκες φαίνεται ότι έχουν μειωμένη σύνθεση κολλαγόνου I όπως μετράται με το S-PICP και μειωμένους δείκτες ισοζυγίου. Επειδή όμως η μείωση αυτή δεν συνοδεύεται από μείωση της οστικής πυκνότητας φαίνεται η εξωσκελετική σύνθεση κολλαγόνου είναι πιο ευαίσθητη στην επίδραση του αυξημένου BMI.

Alendronate is an aminobisphosphonate with potent antiresorptive action on bone. Continuous oral administration of ALN in late menopausal women with low bone density, suppresses bone turnover [261] and induces significant and progressive [265] increase in bone density (7,4-9,6% in lumbar spine and 3,5-5,8% in femoral neck in 3 years [261-264]. As a result ALN reduces the fracture risk about 50% in osteoporotic women after menopause [264,274].

Aim of this study was to evaluate the effect of ALN on bone metabolism and bone loss in early postmenopausal period and on prevention of bone loss that follows after a hip fracture in postmenopausal women. In addition, after having studied the specific mode of action of ALN, we suggested that intermittent oral administration may suppress bone turnover efficiently and prevent bone loss, with lower cumulative dosing intake. Thus, we studied the results of intermittent cyclic administration of 10mg ALN per day for two months followed by another two months without therapy, on bone metabolism and bone density in early and late postmenopausal period.

In this study, bone turnover was measured by biochemical methods and use of newer markers of bone formation and resorption. We studied menopausal bone turnover and investigated the correlation between bone markers and uncoupling index and Body mass index (BMI) after menopause. In particular, BMI was evaluated as a factor that predisposes to osteoporosis and osteoporotic hip fractures.

For the previous purposes, we studied the results of ALN treatment in three different groups of menopausal women and parallel controls, who were of different age and severity of bone loss, resulting in different therapeutic goals. These groups were: a) early menopausal women with low BMD (-1,5SD T-score), where the therapeutic aim was mainly prevention of bone loss, b) >5 years menopausal women with osteoporosis, with aim to increase bone density and c) menopausal women with hip fracture, which is an osteoporotic fracture and its presence increases the risk of a new osteoporotic fracture.

In particular:

A) 36 early postmenopausal women, with mean age $49,28 \pm 3,5$ and low BMD ($< -1,5SD$ σ T-score) were randomly ascribed in three groups; receiving 10mg ALN and 500mg calcium per day continuously, 10mg ALN intermittently (for two months followed by another two months without therapy) and 500mg calcium daily or controls receiving daily 500mg calcium, for two years. In women on continuous therapy, BMD_{LS} and BMD_{FN} was significantly increased ($3,93 \pm 1,86\%$ ($P=0,022$) and $2,12 \pm 1,9\%$ ($P=0,037$), paired t-test respectively) in one year. In the intermittent group only BMD_{LS} was slightly increased compared to controls ($0,93 \pm 2,01\%$ vs $-1,94 \pm 1,73$, $P=0,042$, ANOVA).

Progressive increase during the 2nd year was observed only in BMD_{LS} of the 1st group (0,89±1,62%, P=0,047 ANOVA). Continuous dosing induced significant suppression of all bone markers about 30-50% on 12th month, while significant decrease in S-OC, U-DPD και U-NTX-I compared to controls (P<0,05, ANOVA) was observed in the intermittent group on month 12.

B) 45 late postmenopausal women, with mean age 64,35±6,2 and osteoporosis (BMD<-2,5SD σε T-score) were randomly allocated in three groups; receiving 10mg ALN and 500mg calcium per day continuously, 10mg ALN intermittently (for two months followed by another two months without therapy) and 500mg calcium daily or controls receiving daily 500mg calcium. After 2 years, the effect of continuous administration of ALN was +7,2±2,01% and +2,64±2,01% increase in BMD_{LS} and BMD_{FN} respectively compared to pre-treatment measurements (paired t-test P=0,0001). Intermittent dosing increased BMD_{LS} about 5,02±3,6% (paired t-test P=0,013) and prevented bone loss in femoral neck (2,08±2,01%, paired t-test P>0,05). During continuous administration, bone markers decreased early (3rd month) about 30-60% and on 2nd year they were still decreased compared to pretreatment levels (P<0,038, paired t-test). During intermittent administration, bone markers showed their nadir late on month 12 and on 2nd year most of them were not significantly reduced.

C) 40 postmenopausal women with recent hip fracture either received 10mg ALN and 500mg calcium per day continuously or 500mg calcium daily for one year. In women with hip fracture who received ALN, bone loss was prevented and BMD_{LS} increased significantly compared to initial measurement (3,2+/-0,8%, paired t-test P=0,02). BMD_{TH} was significantly increased compared to controls, who demonstrated -3,2±1,7 (P<0,018 t-test) decrease in total hip and -2,3+/-0,93% (P<0,02 t-test) in spine.

D) In 130 healthy postmenopausal women we investigated the correlation of BMI with bone markers, bone uncoupling index and bone density. BMD_{FN} (P<0,0001), age (P<0,0012) and BMD_{SP} (P<0,001) were positively correlated with BMI, while S-PICP (P=0,0017, R²=0,088) and age-adjusted S-OC (r=-0,185, P=0,048) were negatively correlated with BMI. Bone uncoupling indices zOC-zDPD, zPICP-zDPD, zPICP-zPYD, zPICP-zNTX-I correlated negatively with BMD_{LS}. Uncoupling indices (zPICP-zDPD) and (zPICP-zPYD) correlated negatively with BMI (r= -0,25, P=0,01 και r= -0,21, P=0,037). Women were classified in normal (BMI<25kg/m²), overweight (BMI=25-30kg/m²) and obese (BMI> 30kg/m²) according to their BMI. Overweight and obese had 30% lower S-PICP levels (68,11±24,85ng/ml and 66,41±24,93ng/ml vs 97,47±23,36ng/ml P=0,0001). Obese women had also lower levels of zPICP-zDPD, zPICP-zPYD, zPICP-zCTX-I (ANOVA, P=0,027, P=0,0028, P=0,02) and higher BMD_{LS} and BMD_{TH} compared to

normals (ANOVA, $P=0,0004$ και $P<0,001$). In addition, 40 postmenopausal women with hip fracture were compared to 40 age-matched healthy postmenopausal women and they had significant lower BMI, BMD_{LS} and BMD_{TH} (t-test, $P<0,0001$).

From the data reported above, we conclude that continuous administration of alendronate induces early and sustained suppression of bone turnover and produces significant increase in bone density, in postmenopausal women with osteoporosis and early postmenopausal women with osteopenia. Alendronate also prevents bone loss that follows a hip fracture and increases bone density in postmenopausal women with hip fracture. Intermittent administration of the same daily dose of ALN, induces smaller increase in lumbar spine and prevents bone loss from femoral neck, during the 1st year of treatment. Bone markers show smaller, delayed reduction and wider variation between subsequent measurements compared to continuous treatment. However, their levels were still reduced during the intervals without treatment, and it seems that antiresorptive action is sustained even during the free intervals. Intermittent cyclic dosing with 2 months period for one year may be used when the aim is prevention of bone and stabilization of bone density.

Nevertheless our study shows that increased BMI exerts a positive effect on bone density, while decreased BMI is a predisposing factor for hip fracture. Overweight and obese women have reduced collagen I formation, as was measured by S-PICP, and reduced uncoupling indices. Since these findings are not coupled by according reduction in bone density, it seems that extraskkeletal collagen formation is more sensitive in BMI variation.