ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΙΑΤΡΙΚΗΣ

ΟΡΘΟΠΑΙΔΙΚΗ ΚΛΙΝΙΚΗ

Διευθυντής: Κωνσταντίνος Ν. Μαλίζος

Διδακτορική Διατριβή

**«ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΩΝ
ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΤΗΝ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗΣ»**

ΣΟΦΙΑ ΜΠΟΥΓΙΟΥΚΛΗ

Ιατρός

Υπεβλήθη για την εκπλήρωση μέρους των

απαιτήσεων για την απόκτηση του

Διδακτορικού Διπλώματος

Λάρισα, 2018

© 2018 ΣΟΦΙΑ ΜΠΟΥΓΙΟΥΚΛΗ

Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Τμήμα Ιατρικής της Σχολής Επιστημών Υγείας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δεν υποδηλώνει αποδοχή των απόψεων του συγγραφέα (σύμφωνα με τις διατάξεις του άρθρου 202, παράγραφος 2 του Ν.5343/1932).

1^{ος} Εξεταστής
(Επιβλέπουσα)	Δρ. Ζωή Νταϊλιάνα
Καθηγήτρια Ορθοπαιδικής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο
Θεσσαλίας
2^{ος} Εξεταστής	Δρ. Παναγούλα Κόλλια
Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μοριακής Γενετικής Ανθρώπου,
Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο
Αθηνών
3^{ος} Εξεταστής	Δρ. Μιχαήλ Χαντές
Αναπληρωτής Καθηγητής Ορθοπαιδικής, Τμήμα Ιατρικής,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
4^{ος} Εξεταστής	Δρ. Κωνσταντίνος Μαλίζος
Καθηγητής Ορθοπαιδικής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο
Θεσσαλίας
5^{ος} Εξεταστής	Δρ. Θεόφιλος Καραχάλιος
Καθηγητής Ορθοπαιδικής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο
Θεσσαλίας
6^{ος} Εξεταστής	Δρ. Αλεξάνδρα Μπαργιώτα
Επίκουρος Καθηγήτρια Παθολογίας-Ενδοκρινολογίας, Τμήμα
Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
7^{ος} Εξεταστής	Δρ. Μαρία Σαμαρά
Επίκουρος Καθηγήτρια Παθολογικής Ανατομικής, Τμήμα
Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στην Ορθοπαιδική Κλινική του Τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, σε συνεργασία με το Εργαστήριο Γενετικής Ανθρώπου, Τομέα Γενετικής και Βιοτεχνολογίας του Τμήματος Βιολογίας, του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών. Η υλοποίηση της παρούσας διατριβής δε θα ήταν εφικτή χωρίς τη συνδρομή και συνεχή υποστήριξη των δασκάλων μου και μιας ομάδας πολύτιμων συνεργατών, στους οποίους θέλω να εκφράσω την ειλικρινή μου ευγνωμοσύνη.

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την επιβλέπουσα της διατριβής μου, την Καθηγήτρια Ορθοπαιδικής κ. Ζωή Νταϊλιάννα για την ευκαιρία που μου έδωσε να μυηθώ στο χώρο της ορθοπαιδικής έρευνας, αρχικά με τη συμμετοχή μου σε πολλαπλές ερευνητικές μελέτες και στη συνέχεια με την ανάθεση της διδακτορικής διατριβής. Επίσης, για την καθοδήγηση, συνεχή υποστήριξη, κατανόηση και υπομονή όλα αυτά τα χρόνια. Η συνεργασία μαζί της αποτελεί πηγή έμπνευσης και μου παρείχε όλα τα απαραίτητα εφόδια για να ανταπεξέλθω στις απαιτήσεις και τις δυσκολίες του ακαδημαϊκού και ερευνητικού χώρου.

Να ευχαριστήσω επίσης ιδιαίτερα την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Βιολογίας κυρία Παναγούλα Κόλλια για τη δυνατότητα επεξεργασίας των δειγμάτων στο εργαστήριο Γενετικής Ανθρώπου του ΕΚΠΑ και για την επιστημονική καθοδήγηση και επίβλεψη κατά το σχεδιασμό, εκτέλεση και ερμηνεία των αποτελεσμάτων του πειραματικού μέρους της μελέτης. Είμαι ευγνώμων για την αμέριστη εμπιστοσύνη, την υπομονή και τον πολύτιμο χρόνο που μου αφιέρωσε όλο αυτό το διάστημα.

Ευχαριστώ επίσης τον Αναπληρωτή Καθηγητή Ορθοπαιδικής κ. Μιχάλη Χαντέ τόσο για τη συνεργασία και υποδείξεις του κατά τη διάρκεια της μελέτης όσο και για τη δυνατότητα απεριόριστης πρόσβασης στους ασθενείς του για συμμετοχή στη μελέτη.

Επιπλέον, θερμά ευχαριστώ στον Καθηγητή Ορθοπαιδικής κ. Κωνσταντίνο Μαλίζο για τις πολύτιμες συμβουλές και υποδείξεις κάθε φορά που χρειάστηκα τη βοήθεια και την εμπειρία του για την πραγματοποίηση της ερευνητικής μου εργασίας, καθώς και για τη συμμετοχή του στην Επταμελή Εξεταστική Επιτροπή. Επίσης

πολλές ευχαριστίες στα μέλη ΔΕΠ και επιμελητές της Ορθοπαιδικής Κλινικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Καθηγητή κ. Θεόφιλο Καραχάλιο, Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Σωκράτη Βαρυτιμίδη, κ. Κωνσταντίνο Μπαργιώτα και κ. Γεώργιο Μπασδέκη για την καθοριστική συμβολή τους στην παρούσα διατριβή, με συνεχή παροχή δειγμάτων και κλινικών δεδομένων από το προσωπικό αρχείο των ασθενών τους και συμβουλές σχετικά με τη διεξαγωγή της μελέτης.

Ιδιαίτερη μνεία χρειάζεται η σημαντικότερη συμβολή του Αναπληρωτή Καθηγητή κύριου Παναγιώτη Γεωργούλια και των μελών του εργαστηρίου της Πυρηνικής Ιατρικής για την ανάλυση των οστικών μεταβολικών δεικτών καθώς και της Επίκουρου Καθηγήτριας Παθολογικής Ανατομικής κα Μαρίας Σαμαρά για την παραχώρηση χώρου, αναλώσιμων και αντιδραστηρίων στο εργαστήριο της Παθολογικής Ανατομικής του Τμήματος Ιατρικής του ΠΘ και τον καταλυτικό της ρόλο στην εκπαίδευσή μου στις νέες τεχνικές μοριακού ελέγχου. Θερμές ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω και στην Επίκουρο Καθηγήτρια Παθολογίας-Ενδοκρινολογίας κα Αλεξάνδρα Μπαργιώτα που δέχτηκε να συμμετάσχει στην επταμελή εξεταστική επιτροπή και να συμβάλει με τα σχόλια και παρατηρήσεις της στην ορθή συγγραφή της παρούσας διατριβής.

Τέλος ένα μεγάλο ευχαριστώ στους συναδέλφους και φίλους Μαριάνθη Παπαναγιώτου και Αντώνη Κουτάλο για τη βοήθεια και την άψογη συνεργασία κατά την εκτέλεση του κλινικού μέρους της μελέτης καθώς και στους Σταυρούλα Σαμαρά, Θεοδώρα Κορομηλά και Χρήστο Χασανίδη για την εκπαίδευση και συμβουλές που μου παρείχαν σε μεθόδους μοριακής βιολογίας και γενετικής καθώς και για την καθοριστική συνεισφορά τους στη συλλογή, επεξεργασία και ανάλυση των βιολογικών δειγμάτων.

Σοφία Μπουγιουκλή

ΕΡΓΑΣΙΕΣ ΚΑΙ ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

Από το συγκεκριμένο υλικό έχουν προκύψει:

Δημοσιεύσεις:

Bougioukli S, Kollia P, Koromila T, Varitimidis S, Hantes M, Karachalios T, Malizos KN, Dailiana ZH. Failure in diagnosis and Undertreatment of Osteoporosis in elderly patients with fragility fractures. J Bone Miner Metab. 2018 Apr 17. doi: 10.1007/s00774-018-0923-2. [Epub ahead of print]

Προφορικές ανακοινώσεις:

1. Θ. Κορομηλά, **Σ. Μπουγιουκλή**, Π. Κόλλια, Σ. Σαμαρά, Χ. Χασανίδης, Β. Αλεπόρου – Μαρίνου, Ζ. Νταϊλιάνα. Μελέτη γονιδιακής έκφρασης της TGFβ-BMP σηματοδότησης και φαρμακογονιδιωματική προσέγγιση στην οστεοπόρωση. 68ο Πανελλήνιο Ορθοπαιδικό συνέδριο ΕΕΧΟΤ, Οκτώβριος 2012, Αθήνα
2. **Σ. Μπουγιουκλή**, Θ. Κορομηλά, Α. Κουτάλος, Μ. Παπαναγιώτου, Μ. Χαντές, Κ.Ν. Μαλίζος, Π. Κόλλια, Ζ. Νταϊλιάνα. Διερεύνηση και θεραπεία της οστεοπόρωσης σε ασθενείς με κατάγματα ισχίου. 69ο Πανελλήνιο Ορθοπαιδικό συνέδριο της ΕΕΧΟΤ, Οκτώβριος 2013, Αθήνα.
3. Σ. Μπουγιουκλή, Θ. Κορομηλά, Σ. Σαμαρά, Μ. Χαντές, Θ. Καραχάλιος, Κ.Ν. Μαλίζος, Π. Κόλλια, Ζ. Νταϊλιάνα. Επίδραση κλινικών παραμέτρων στην έκφραση γονιδίων του συστήματος OPG/RANK/RANKL στην οστεοπόρωση. 69ο Πανελλήνιο Ορθοπαιδικό συνέδριο της ΕΕΧΟΤ, Οκτώβριος 2013, Αθήνα.
4. Θ. Κορομηλά, **Σ. Μπουγιουκλή**, Π. Γεωργούλιας, Β. Αλεπόρου-Μαρίνου, Ζ. Νταϊλιάνα, Π. Κόλλια. Μελέτη της έκφρασης του RUNX2 και οστικών δεικτών στην οστεοπόρωση. 21^ο Πανελλήνιο Συνέδριο της ΕΕΜΜΟ, Νοέμβριος 2013, Βόλος.
(Η εργασία βραβεύτηκε με το βραβείο «Αλέξανδρος Κάλος»)
5. **Σ. Μπουγιουκλή**, Μ. Παπαναγιώτου, Θ. Κορομηλά, Σ. Βαρυτιμίδης, Π. Γεωργούλιας, Κ.Ν. Μαλίζος, Π. Κόλλια, Ζ. Νταϊλιάνα. Τα κατάγματα Colles ως δείκτης υποκείμενης οστεοπόρωσης σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. 19ο Κοινό Συνέδριο ΕΕΕΜ & ΕΕΧΧ, Νοέμβριος 2013, Θεσσαλονίκη.

6. **Σ. Μπουγιουκλή**, Σ. Σαμαρά, Μ. Παπαναγιώτου, Θ. Κορομηλά, Μ. Χαντές, Θ. Καραχάλιος, Π. Κόλλια, Ζ. Νταϊλιάνα. Απόκλιση T-score ισχίου και σπονδυλικής στήλης κατά τη διάγνωση οστεοπόρωσης: συχνότητα και παράγοντες κινδύνου. 22^ο Πανελλήνιο Συνέδριο της ΕΕΜΜΟ, Νοέμβριος 2014, Καβάλα.
7. **Σ. Μπουγιουκλή**, Θ. Κορομηλά, Α. Κουτάλος, Μ. Παπαναγιώτου, Μ. Χαντές, Κ.Ν. Μαλίζος, Π. Κόλλια, Ζ. Νταϊλιάνα. Τα κατάγματα Colles ως δείκτης υποκείμενης οστεοπόρωσης: μελέτη γενετικών παραγόντων, κλινικών παραμέτρων και οστικής πυκνότητας. 70^ο Πανελλήνιο Ορθοπαιδικό συνέδριο της ΕΕΧΟΤ, Οκτώβριος 2014, Αθήνα.
8. **Σ. Μπουγιουκλή**, Μ. Παπαναγιώτου, Μ. Χαντές, Θ. Καραχάλιος, Κ.Ν. Μαλίζος, Π. Κόλλια, Ζ. Νταϊλιάνα. Επίπτωση της οστεοαρθρίτιδας ισχίου σε ασθενείς με οστεοπορωτικά κατάγματα ισχίου. 71^ο Πανελλήνιο Ορθοπαιδικό συνέδριο της ΕΕΧΟΤ, Οκτώβριος 2015, Αθήνα.

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ

ΣΟΦΙΑ ΜΠΟΥΓΙΟΥΚΛΗ, MD

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

Τόπος γέννησης: Θεσσαλονίκη
Διεύθυνση: 1630 Brigden Rd, Pasadena, CA, USA
Τηλέφωνο: +1-626-863-4546
E-mail: soboug26@yahoo.gr

ΠΑΡΟΥΣΑ ΘΕΣΗ

Ειδικευόμενη Ορθοπαιδικής, Ορθοπαιδική Κλινική, LAC+USC Medical Center, Los Angeles, CA

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

Πτυχίο Ιατρικής Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα, Ελλάδα	2004-2010
Ειδικότητα Γενική Χειρουργική, Χειρουργική Κλινική, Γενικό Νοσοκομείο Ξάνθης, Ξάνθη, Ελλάδα	2011-2012
Μεταδιδακτορική Έρευνα Ορθοπαιδική κλινική, Keck School of Medicine, University of Southern California, Los Angeles, CA, USA	2013-2018
Πιστοποίηση ECFMG ECFMG, Philadelphia, PA, USA	2017

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΚΑΙ ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ

Επιστημονική συνεργάτης Ορθοπαιδική Κλινική, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα, Ελλάδα	10/2010-06/2011
Υποψήφια Διδάκτωρ <i>Συσχέτιση γενετικών παραγόντων και κλινικών παραμέτρων στην εμφάνιση οστεοπόρωσης</i> Ορθοπαιδική Κλινική, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα, Ελλάδα	04/2011-σήμερα
Υποχρεωτική υπηρεσία υπαίθρου Γενικό Νοσοκομείο Λάρισας (τρίμηνη εκπαίδευση) & Περιφερειακό Ιατρείο Ναρθακίου, Λάρισα, Ελλάδα	06/2011-11/2011
Ειδικευόμενη (Γενική Χειρουργική) Γενική Χειρουργική, Χειρουργική Κλινική, Γενικό Νοσοκομείο Ξάνθης, Ξάνθη, Ελλάδα	11/2011-09/2012

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

1. Dailiana Z, **Bougioukli S**, Varitimidis S, Togia E, Kontogeorgakos V, Malizos KN. Tumor and tumor-like lesions mimicking carpal tunnel syndrome. Arch Orthop Trauma Surg. 2014 Jan;134(1):139-144.
 2. **Bougioukli S**, Jain A, Sugiyama O, Tinsley BA, Tang AH, Tan MH, Adams DJ, Kostenuik PJ, Lieberman JR. Combination therapy with BMP-2 and a systemic RANKL inhibitor enhances bone healing in a mouse critical-sized femoral defect. Bone. 2016;84:93-103. doi: 10.1016/j.bone.2015.12.052.
 3. Papatheodorou LK, Baratz ME, **Bougioukli S**, Ruby T, Weiser RW, Sotereanos DG. Long-Term Outcome of Step-Cut Ulnar Shortening Osteotomy for Ulnar Impaction Syndrome. J Bone Joint Surg Am. 2016;98(21):1814-1820
 4. Alluri R, **Bougioukli S**, Stevanovic M, Ghiassi G. Does Distal Fixation Matter? A Biomechanical Comparison of Bridge Plate Fixation for Distal Radius Fractures. J Hand Surg Am. 2017 Jun 7. pii: S0363-5023(17)30152-1. doi: 10.1016/j.jhsa.2017.05.010. [Epub ahead of print]
 5. He X*, **Bougioukli S***, Ortega B, Arevalo E, Lieberman JR, McMahon AP. Sox9 positive periosteal cells in fracture repair of the adult mammalian long bone. Bone. 2017 Jun 13;103:12-19. doi: 10.1016/j.bone.2017.06.008
- *These authors contributed equally and should be considered co-first authors
6. Bramos A, Perrault D, Lee GK, **Bougioukli S**, Lieberman JR, Fedenko AN, Calvert JW, Wong AK. Porcine Mesothelium Wrapped Diced Cartilage Grafts for Nasal Reconstruction. Tissue Eng Part A. 2018;24(7-8):672-681. doi: 10.1089/ten.tea.2017.0119.
 7. **Bougioukli S**, Sugiyama O, Pannell W, Ortega B, Tan MH, Tang A, Yoho R, Oakes DA, Lieberman JR. Gene therapy for bone repair using human cells: a comparison of the in vitro osteogenic potential of BMP-2 transduced mesenchymal stem cells derived from adipose tissue and bone marrow. Hum Gene Ther. 2018;29(4):507-519. doi: 10.1089/hum.2017.097.
 8. Alluri R, Jakus A, **Bougioukli S**, Pannell W, Sugiyama O, Tang A, Ortega B, Shah R, Lieberman JR. 3D Printed Hyperelastic Bone Scaffolds and Regional Gene Therapy. A Multidisciplinary Approach to Bone Healing. J Biomed Mater Res A. 2018;106(4):1104-1110. doi: 10.1002/jbm.a.36310.
 9. **Bougioukli S**, Kollia P, Koromila T, Varitimidis S, Hantes M, Karachalios T, Malizos KN, Dailiana ZH. Failure in diagnosis and Undertreatment of Osteoporosis in elderly patients with fragility fractures. J Bone Miner Metab. 2018. doi: 10.1007/s00774-018-0923-2.
 10. **Bougioukli S**, Evans CH, Alluri RK, Ghivizzani SC, Lieberman JR. Gene Therapy Applications in Orthopaedic Surgery. Curr Gene Ther. 2018. doi: 10.2174/1566523218666180410152842.

11. **Bougioukli S**, Sugiyama O, Alluri RK, Yoho R, Oakes DA, Lieberman JR. Lentiviral Two-Step Transcriptional Amplification System using GAL4FF transactivator in Ex Vivo Regional Gene Therapy for Bone Repair. *Gene Ther.* 2018 Jun 15. doi: 10.1038/s41434-018-0024-9.

ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΠΕΡΙΛΗΨΕΙΣ

1. Dailiana Z, **Bougioukli S**, Varitimidis S, Togia E, Kontogeorgakos V, Malizos KN. Carpal Tunnel Syndrome Caused by Space-Occupying Lesions. *J Hand Surg Eur Vol.* 2013 Jun;38 Suppl 1:S1-103

2. Crump G, Paul S, Schindler S, **Bougioukli S**, Lieberman JR, Mariani F. Large-scale Bone Regeneration by Cells Intermediate between Chondrocytes and Osteocytes. *J Bone Miner Res.* 2015 Feb;30 Suppl 1:S1. doi: 10.1002/jbmr.2763

3. **Bougioukli S**, Sugiyama O, Alluri R, Ortega B, Lieberman JR. Comparison of Two Lentiviral Two-Step Transcriptional Amplification Systems using GAL4FF or GAL4vp16 transactivators for Ex vivo regional Gene Therapy in Bone Repair. *Mol Ther.* 2017 May;25 Suppl 1

4. Alluri R, Jakus A, **Bougioukli S**, Pannell W, Sugiyama O, Tang A, Ortega B, Shah R, Lieberman JR. 3D Printed Hyperelastic Bone Scaffolds and Regional Gene Therapy. A Multidisciplinary Approach to Bone Healing. *Mol Ther.* 2017 May;25 Suppl 1

5. **Bougioukli S**, Saitta B, Sugiyama O, Tang AH, Evseenko D, Lieberman JR. Lentiviral Gene Therapy for Bone Repair Using Human Umbilical Cord Blood Derived-Mesenchymal Stem Cells. *Mol Ther.* 2018 May;26(5, Supplement 1)

6. Alluri RK, Song X, **Bougioukli S**, Pannell W, Vakhshori V, Sugiyama O, Tang A, Chen Y, Lieberman JR. 3D Printed Tricalcium Phosphate Scaffolds and Regional Gene Therapy. a Multidisciplinary Approach to Heal a Critical-Sized Rat Femoral Defect Model. *Mol Ther.* 2018 May;26(5, Supplement 1)

ΔΙΑΛΕΞΕΙΣ

1. Invited Panelist - HIF-1 as a target for anticancer drug development. 12th National Scientific Conference of Greek Medical Students. May 5, 2006. Larissa, Greece

2. Invited Panelist - Work-related upper extremity injuries. 14th National Scientific Conference of Greek Medical Students. May 10, 2008. Athens, Greece

3. Invited Panelist - Management of limb amputations: surgical technique. 15th National Scientific Conference of Greek Medical Students. May 9, 2009. Thessaloniki, Greece

4. Invited Panelist - Tips and tricks in traumatic diabetic foot. 16th National Scientific Conference of Greek Medical Students. April 16, 2010. Athens, Greece

6. Invited Panelist - Bone and Periprosthetic joint infections. 16th National Scientific Conference of Greek Medical Students. April 17, 2010. Athens, Greece

7. Graduate Lecturer - The use of regional gene therapy to enhance bone healing in an experimental nonunion model. Stem Cell and Developmental Biology Group Seminar at the Keck School of Medicine of USC. Los Angeles, CA. February 14, 2014.

8. Graduate Lecturer - The use of ex vivo regional gene therapy to enhance bone repair. Stem Cell and Developmental Biology Group Seminar at the Keck School of Medicine of USC. Los Angeles, CA. February 24, 2017.

ΠΡΟΦΟΡΙΚΕΣ ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ

1. **Bougioukli S**, Stafilis C, Liakos P. New approaches in treating renal cell carcinoma: the role of HIF and its downstream targets. 15th Scientific Conference of Greek Medical Students. May 8-10, 2009. Thessaloniki, Greece
2. Dailiana Z, Varitimidis S, **Bougioukli S**, Togia E, Malizos KN. Tumor and tumor-like lesions mimicking nerve compression syndromes. 16th Annual Combined Meeting of the Hellenic Society for Reconstructive Microsurgery and the Hellenic Society for Hand and Upper extremity surgery. August 26-29, 2010. Ioannina, Greece
3. Dailiana Z, Varitimidis S, Papatheodorou L, **Bougioukli S**, Togia E, Malizos KN. Minimally Invasive Surgical Treatment of Scaphoid Fractures. 11th Triennial Congress of the International Federation of Societies for Surgery of the Hand. October 31 - November 4, 2010. Seoul, Korea
4. Dailiana Z, Varitimidis S, **Bougioukli S**, Papanagiotou M, Doumas S, Bargiotas K, Malizos KN. Malunions of the distal radius. 17th Annual Combined Meeting of the Hellenic Society for Reconstructive Microsurgery and the Hellenic Society for Hand and Upper extremity surgery. December 1-3, 2011. Thessaloniki, Greece
5. **Bougioukli S**, Antoniou I, Varitimidis S, Dailiana Z, Kontogeorgakos V, Malizos KN. Recurrent carpal tunnel syndrome. 18th Annual Combined Meeting of the Hellenic Society for Reconstructive Microsurgery and the Hellenic Society for Hand and Upper extremity surgery. November 8-10, 2012. Thessaloniki, Greece
6. Koromila T, **Bougioukli S**, Kollia P, Samara S, Hasanidis C, Aleporou-Marinou V, Dailiana Z. Expression of genes belonging to the TGF β -BMP superfamily and pharmacogenomic approach in osteoporosis. 68th Annual Congress of the Hellenic Association of Orthopaedic Surgery and Traumatology. October 3-6, 2012 Athens, Greece
7. Dailiana Z, **Bougioukli S**, Varitimidis S, Togia E, Kontogeorgakos V, Malizos KN. Carpal Tunnel Syndrome Caused by Space-Occupying Lesions. 18th Federation of European Societies for Surgery of the Hand Congress. May 29-June 1, 2013. Antalya, Turkey
8. **Bougioukli S**, Koromila T, Samara S, Hantes M, Karachalios T, Malizos KN, Kollia P, Dailiana Z. Expression Profile Of The Osteoprotegerin/RANKL/RANK System and Its Association With Clinical Factors In Osteoporotic Patients. 69th Annual Congress of the Hellenic Association of Orthopaedic Surgery and Traumatology. October 2-5, 2013. Athens, Greece
9. **Bougioukli S**, Koromila T, Koutalos A, Papanagiotou M, Hantes M, Malizos K, Kollia P, Dailiana Z. Failure In Diagnosis And Undertreatment Of Osteoporosis In Elderly Patients With Hip Fractures. 69th Annual Congress of the Hellenic Association of Orthopaedic Surgery and Traumatology. October 2-5, 2013. Athens, Greece
10. **Bougioukli S**, Antoniou I, Varitimidis S, Dailiana Z, Kontogeorgakos V, Malizos KN. Postoperative results after surgery for recurrent carpal tunnel syndrome. 69th Annual Congress of the Hellenic Association of Orthopaedic Surgery and Traumatology. October 2-5, 2013. Athens, Greece
11. Hatzopoulou E, Melas I, **Bougioukli S**, Samara S, Varitimidis S, Provatidis C, Alexopoulos L, Dailiana Z. A comparison of chondrocyte response in cartilage and 2D culture. 69th Annual Congress of the Hellenic Association of Orthopaedic Surgery and Traumatology. October 2-5, 2013. Athens, Greece
12. Hatzopoulou E, Melas I, **Bougioukli S**, Hantes M, Samara S, Kollia P, Alexopoulos L, Dailiana Z. Interaction between meniscus and cartilage in knee osteoarthritis. 69th Annual Congress of the Hellenic Association of Orthopaedic Surgery and Traumatology. October 2-

5, 2013. Athens, Greece

13. Karatzios K, **Bougioukli S**, Ziogou A, Rountas C, Bargiotas K, Malizos KN. Treatment of calcaneal fractures using the below-the-ankle circular frame. 69th Annual Congress of the Hellenic Association of Orthopaedic Surgery and Traumatology. October 2-5, 2013 Athens, Greece

14. Koromila T, **Bougioukli S**, Georgoulas P, Aleporou Marinou V, Dailiana Z, Kollia P. Expression profile of RUNX2 and biochemical markers of bone metabolism in osteoporosis. 21st Congress of the Hellenic Association of Bone Metabolism. November 8-10, 2013. Volos, Greece

15. **Bougioukli S**, Papanagiotou M, Koromila T, Varitimidis S, Georgoulas P, Malizos K, Kollia P, Dailiana Z. Colles fractures as an indication of underlying osteoporosis in postmenopausal women. 19th Annual Combined Meeting of the Hellenic Society for Reconstructive Microsurgery and the Hellenic Society for Hand and Upper extremity surgery. November 28-30, 2013. Thessaloniki, Greece

16. **Bougioukli S**, Papanagiotou M, Koromila T, Varitimidis S, Georgoulas P, Hantes M, Malizos K, Kollia P, Dailiana Z. Colles' Fractures as a sign of osteoporosis: analysis of gene expression, clinical factors and bone mineral density. 70th Annual Congress of the Hellenic Association of Orthopaedic Surgery and Traumatology. October 1-4, 2014. Athens, Greece

17. **Bougioukli S**, Samara S, Papanagiotou M, Koromila T, Hantes M, Karachalios T, Kollia P, Dailiana Z. Discordance in diagnosis of osteoporosis using spine and hip bone densitometry: prevalence and risk factors. 22nd Congress of the Hellenic Association of Bone Metabolism. October 31-November 2, 2014. Kavala, Greece

18. Koromila T, **Bougioukli S**, Samara S, Georgoulas P, Aleporou-Marinou V, Kollia P, Dailiana Z. Association of novel sequence variations in the CER1 gene with fractures in osteoporotic women. 22nd Congress of the Hellenic Association of Bone Metabolism. October 31-November 2, 2014. Kavala, Greece

19. **Bougioukli S**, Papanagiotou M, Hantes M, Karachalios T, Malizos K, Kollia P, Dailiana Z. Prevalence of Hip Osteoarthritis in Patients with Osteoporotic Hip Fractures. 71st Annual Congress of the Hellenic Association of Orthopaedic Surgery and Traumatology. October 7-10, 2015. Athens, Greece

20. Crump G, Paul S, Schindler S, Mariani F, Lieberman JR, de Millo Terrazzani A, **Bougioukli S**, Izuhara A. Large-scale Bone Regeneration by Cells Intermediate between Chondrocytes and Osteocytes. 6th Strategic Conference of Zebrafish Investigators. January 17-21, 2015. Pacific Grove, CA, USA

21. **Bougioukli S**, Jain A, Sugiyama O, Tinsley B, Tang A, Tan MH, Adams D, Kostenuik P, Lieberman JR. Combination therapy with BMP-2 and a systemic RANKL inhibitor enhances bone healing in a mouse critical-sized femoral defect. 2016 ORS Annual Meeting. March 5-8, 2016. Orlando, FL, USA

22. **Bougioukli S**, He X, Ortega B, Arevalo E, Lieberman JR, McMahon AP. A Sox9 Positive Cell Population In The Periosteum Contributes To Adult Long Bone Fracture Repair. 2017 ORS Meeting. March 19-22, 2017. San Diego, CA.

23. Alluri R, **Bougioukli S**, Stevanovic M, Ghiassi A. Does Distal Fixation Matter? A Biomechanical Comparison of Bridge Plate Fixation for Distal Radius Fractures. ASSH Annual Meeting 2017. September 7-9, 2017. San Francisco, CA.

24. Alluri R, Jakus A, **Bougioukli S**, Pannell W, Sugiyama O, Tang A, Ortega B, Shah R, Lieberman JR. 3D Printed Hyperelastic "Bone" Scaffolds and Regional Gene Therapy. A Novel Approach to Bone Healing. ORS Southern California Regional Symposium;

September 25, 2017. Los Angeles, CA

25. **Bougioukli S**, Ortega BA, Vahkshori V, Sugiyama O, Tang A, Lieberman JR. Regulated Ex vivo Regional Gene Therapy for Bone Repair Using an Inducible Caspase-9 Suicide Gene System. 2018 ORS Annual meeting, March 10-13, 2018, New Orleans, LA.

ANAPTHMENΕΣ ANAKOINΩΣΕΙΣ

1. Karanikas V, Kigitzi E, Ligoura V, **Bougioukli S**, A. Pavlidis, C. Saravanis, C. Stafilis. Cytotoxic CD8 T response versus tumor antigens in patients presenting with adenocarcinoma. 13th Scientific Conference of Greek Medical Students. April 20-22, 2007. Athens, Greece

2. Dailiana Z, **Bougioukli S**, Doulas S, Vlychou M, Ioannou M, Malizos KN. Ancient schwannomas: Diagnosis and Treatment. 17th Annual Combined Meeting of the Hellenic Society for Reconstructive Microsurgery and the Hellenic Society for Hand and Upper extremity surgery. December 1-3, 2011. Thessaloniki, Greece

3. Ortega BA, Tan MH, **Bougioukli S**, Lieberman JR. The Use of Ex vivo Regional Gene Therapy To Treat Non-Unions. Annual Medical Student Research Forum. May 2014. Los Angeles, CA

4. Tan MH, **Bougioukli S**, Sugiyama O, Lieberman JR. The Use of Human Peripheral Blood to Generate Bone using Ex-vivo Regional Gene Therapy. Annual Medical Student Research Forum. May 2015. Los Angeles, CA

5. Crump G, Paul S, Schindler S, **Bougioukli S**, Lieberman JR, Mariani F. Large-scale Bone Regeneration by Cells Intermediate between Chondrocytes and Osteocytes. October 9-12, 2015. ASBMR meeting. Seattle, WA, USA

6. Arevalo E, **Bougioukli S**, Sugiyama O, Lieberman JR. Gene Therapy For Bone Repair Using Human Cells Derived From Bone Marrow and Adipose Tissue. Annual Medical Student Research Forum; May 2016. Los Angeles, CA

7. Ortega BA, **Bougioukli S**, Sugiyama O, Tang AH, Pannell W, Lieberman JR. Regulated Gene Therapy for Bone Repair Using Inducible Caspase-9 (iC9) Suicide Gene System. Annual Medical Student Research Forum; May 2016. Los Angeles, CA

8. Pannell W, **Bougioukli S**, Song X, Ortega B, Sugiyama O, Tang A, Chen Y, Lieberman JR. Three Dimensionally Printed Calcium Phosphate Scaffolds with Gene Therapy for Difficult Bone Graft Scenarios in a Rodent Model. American Academy of Orthopaedic Surgeons Annual Meeting. March 14-17, 2017. San Diego, CA.

9. **Bougioukli S**, Sugiyama O, Pannell W, Ortega B, Tan MH, Tang A, Lieberman JR. Gene Therapy For Bone Repair Using Human Cells: A Comparison Of The In Vitro Osteogenic Potential Of BMP-2 Transduced Mesenchymal Stem Cells Derived From Bone Marrow and Adipose Tissue. 2017 ORS Meeting. March 19-22, 2017. San Diego, CA.

10. **Bougioukli S**, Sugiyama O, Alluri R, Ortega B, Lieberman JR. Comparison of Two Lentiviral Two-Step Transcriptional Amplification Systems using GAL4FF or GAL4vp16 transactivators for Ex vivo regional Gene Therapy in Bone Repair. ASGCT 20th Annual Meeting. May 10-13, 2017. Washington, DC.

11. Alluri R, Jakus A, **Bougioukli S**, Pannell W, Sugiyama O, Tang A, Ortega B, Shah R, Lieberman JR. 3D Printed Hyperelastic Bone Scaffolds and Regional Gene Therapy. A Multidisciplinary Approach to Bone Healing. ASGCT 20th Annual Meeting. May 10-13, 2017. Washington, DC.

12. Sabour A, Alluri R, Heckmann N, **Bougioukli S**, Hatch G, Tan E. A National Comparison

of Total Ankle Replacement Versus Arthrodesis. Western Orthopaedic Association 81st Annual Meeting; August 2-5, 2017. Kauai, HI

13. Alluri R, Sabour A, Heckmann N, **Bougioukli S**, Heidara K, Hatch G, VandenBerg C. The National Incidence of Failed Initial Irrigation and Debridement for Pediatric Septic Hip. Western Orthopaedic Association 81st Annual Meeting; August 2-5, 2017. Kauai, HI

14. Alluri R, **Bougioukli S**, Stevanovic M, Ghiassi A. Does Distal Fixation Matter? A Biomechanical Comparison of Bridge Plate Fixation for Distal Radius Fractures. ASSH Annual Meeting 2017. September 7-9, 2017. San Francisco, CA.

15. **Bougioukli S**, Saitta B, Sugiyama O, Alluri RK, Vakhshori V, Tang AH, Elphinstone J, Evseenko D, Lieberman JR. Lentiviral gene therapy for bone repair using human umbilical cord blood cells. ORS Southern California Regional Symposium; September 25, 2017. Los Angeles, CA

16. Pannell W, Alluri R, **Bougioukli S**, Song X, Sugiyama O, Tang A, Chen Y, Lieberman J. Novel use of a 3D Printed Scaffold in Regional Gene Therapy Induced Bone Formation. ORS Southern California Regional Symposium; September 25, 2017. Los Angeles, CA

17. **Bougioukli S**, Alluri R, Pannell W, Sugiyama O, Vega A, Tang A, Oakes D, Lieberman JR. Healing of critical-sized bone defects using genetically modified human bone marrow cells overexpressing BMP-2: "same-day" gene therapy versus standard "two step" approach. 2018 ORS Annual meeting, March 10-13, 2018, New Orleans, LA.

18. **Bougioukli S**, Saitta B, Sugiyama O, Tang AH, Evseenko D, Lieberman JR. Lentiviral Gene Therapy for Bone Repair Using Human Umbilical Cord Blood Derived-Mesenchymal Stem Cells. ASGCT 21st Annual Meeting, May 16-19, 2018, Chicago, IL.

19. Alluri RK, Song X, **Bougioukli S**, Pannell W, Vakhshori V, Sugiyama O, Tang A, Chen Y, Lieberman JR. 3D Printed Tricalcium Phosphate Scaffolds and Regional Gene Therapy. a Multidisciplinary Approach to Heal a Critical-Sized Rat Femoral Defect Model. ASGCT 21st Annual Meeting, May 16-19, 2018, Chicago, IL.

ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ

Ανατομία & Φυσιολογία Μυοσκελετικού – 1^{ΕΤΕΙΣ} φοιτητές νοσηλευτικής 2011 & 2013

Τμήμα Νοσηλευτικής, ΙΕΚ Θεσσαλικό, Λάρισα, Ελλάδα

Βασικές αρχές Νευρολογίας & Ορθοπαιδική – 2^{ΕΤΕΙΣ} φοιτητές νοσηλευτικής 2010-2013

Τμήμα Νοσηλευτικής, ΙΕΚ Θεσσαλικό, Λάρισα, Ελλάδα

Γενική Χειρουργική – 2^{ΕΤΕΙΣ} φοιτητές νοσηλευτικής 2012

Τμήμα Νοσηλευτικής, ΙΕΚ Θεσσαλικό, Λάρισα, Ελλάδα

ΕΘΕΛΟΝΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΑΛΛΕΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΕΣ

Οργανωτική Επιτροπή, 12ο Συνέδριο Φοιτητών Ιατρικής (ΕΣΦΙΕ)

Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα, Ελλάδα (2006)

Εκλεγμένη Αντιπρόεδρος της Τριμελούς Επιτροπής Φοιτητών Ιατρικής-Τάξη του 2010

Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα, Ελλάδα (2007-2008)

Εκλεγμένη Αντιπρόσωπος των διδακτορικών φοιτητών στη Γενική Συνέλευση του τμήματος

Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα, Ελλάδα (2011-2013)

Εθελοντής για την Ορθοπαιδική Κλινική στην "Day of Discovery in Healthcare" για μαθητές λυκείου με ενδιαφέρον για τα Επαγγέλματα Υγείας

Keck Medical Center of USC, Los Angeles, CA, USA (2017)

Κλινική Άσκηση στο Τμήμα Χεριού και Άνω Άκρου

University of Pittsburgh Medical Center, Pittsburgh, PA, USA (2017)

Κλινική Άσκηση στο Τμήμα Παιδο-ορθοπαιδικής

Los Angeles County + USC Medical Center, Los Angeles, CA, USA (2017)

Εθελοντής για το πρόγραμμα Perry Outreach Program στο συνέδριο ORS-New Orleans για μαθήτριες λυκείου με ενδιαφέρον για τα Επαγγέλματα Υγείας

Orthopaedic Research Society, New Orleans, LA, USA (2018)

ΔΙΑΚΡΙΣΕΙΣ ΚΑΙ ΒΡΑΒΕΙΑ

Βραβείο ΟΤΕ για τους 5 πρώτους αριστούχους φοιτητές Ιατρικής Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα, Ελλάδα	2007
Βραβείο ΟΤΕ για τους 5 πρώτους αριστούχους φοιτητές Ιατρικής Ιατρική Σχολή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα, Ελλάδα	2008
Βραβείο καλύτερης προφορικής ανακοίνωσης 21ο Συνέδριο ΕΕΜΜΟ, Βόλος, Ελλάδα	2013
Επιλογή δημοσίευσης για εξώφυλλο του περιοδικού Bone (Τεύχος Οκτωβρίου 2017) He X*, Bougioukli S*, Ortega B, Arevalo E, Lieberman JR, McMahon AP. Sox9 positive periosteal cells in fracture repair of the adult mammalian long bone. Bone. 2017 Jun 13;103:12-19.	2017
Βραβείο καλύτερης αναρτημένης ανακοίνωσης ORS Southern California Regional Symposium, Los Angeles, CA	2017
Βραβείο καλύτερης προφορικής ανακοίνωσης ORS Southern California Regional Symposium, Los Angeles, CA	2017
New Investigator Research Award (NIRA) finalist ORS Annual 2018 meeting, New Orleans, LA,	2018

ΓΛΩΣΣΕΣ

Ελληνικά (Μητρική γλώσσα), Αγγλικά (Άριστο επίπεδο), Γαλλικά (Μέτριο επίπεδο)

«ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΓΕΝΕΤΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΚΑΙ ΚΛΙΝΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΣΤΗΝ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗΣ»

ΣΟΦΙΑ ΜΠΟΥΓΙΟΥΚΛΗ

Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Τμήμα Ιατρικής, 2018

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

1. **Δρ. Ζωή Νταϊλιάννα.** Καθηγήτρια Ορθοπαιδικής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας (**Επιβλέπουσα**)
2. **Δρ. Παναγούλα Κόλλια.** Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μοριακής Γενετικής Ανθρώπου, Τμήμα Βιολογίας, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
3. **Δρ. Μιχαήλ Χαντές.** Αναπληρωτής Καθηγητής Ορθοπαιδικής, Τμήμα Ιατρικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Περίληψη

Η οστεοπόρωση και τα σχετιζόμενα με αυτήν κατάγματα συχνά οδηγούν σε μόνιμες αναπηρίες, μακροχρόνια παραμονή σε κέντρα αποκατάστασης ή θάνατο και άρα αποτελούν μια σημαντική αιτία νοσηρότητας, θνητότητας και επιβάρυνσης του συστήματος υγείας παγκοσμίως. Η οστεοπόρωση συνήθως δε διαγιγνώσκεται σε πρώιμο στάδιο, αφενός λόγω του ότι παραμένει ασυμπτωματική για μεγάλο χρονικό διάστημα και αφετέρου διότι δεν υπάρχει επαρκής και αποτελεσματικός προσυμπτωματικός έλεγχος. Η σπουδαιότητα και η συνεχώς αυξανόμενη συχνότητα της οστεοπόρωσης σε παγκόσμιο επίπεδο σε συνδυασμό με την αδυναμία αναγνώρισης της νόσου πριν το πρώτο οστεοπορωτικό κάταγμα υπογραμμίζει την επιτακτική ανάγκη για ανάπτυξη στρατηγικών πρόληψης, έγκαιρης διάγνωσης και αποτελεσματικότερης θεραπείας για τη διατήρηση της υγείας, της ποιότητας ζωής και της αυτονομίας των ατόμων με οστεοπόρωση. Στα πλαίσια της προσπάθειας αυτής, απαιτείται κατανόηση του πολυπαραγοντικού χαρακτήρα της νόσου και του ρόλου διαφόρων περιβαλλοντικών και γενετικών παραγόντων στην παθογένεσή της.

Στην παρούσα διατριβή μελετάται η επίδραση γονιδίων στη ρύθμιση της οστικής μάζας και του οστικού μεταβολισμού και η συσχέτιση μεταξύ τους αλλά και με διάφορους περιβαλλοντικούς παράγοντες, στην ανάπτυξη οστεοπόρωσης. Μελετήθηκαν, δηλαδή, γονιδιακοί δείκτες σε επίπεδο πολυμορφισμών και έκφρασης στο περιφερικό αίμα και σε οστικά τεμάχια, βιολογικοί δείκτες οστικής παραγωγής και αποδόμησης καθώς και κλινικές παράμετροι, με στόχο τη συσχέτιση του κλινικού φαινότυπου με τα πρότυπα έκφρασης καθοριστικών σηματοδοτικών μοπατιών.

Η δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε στις εγκαταστάσεις του τμήματος ορθοπαιδικής του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας. Τα δείγματα που μελετήθηκαν χωρίστηκαν σε πάσχοντες και μάρτυρες, ανάλογα με την ύπαρξη ή όχι οστεοπόρωσης, όπως καθορίστηκε από το ιστορικό και τον συνοδό ακτινολογικό έλεγχο. Μελετήθηκαν: α) παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση οστεοπόρωσης, συμπεριλαμβανομένων μη τροποποιήσιμων παραγόντων, σχετικών συνοδών νοσημάτων, φαρμάκων και συνηθειών, β) απλές ακτινογραφίες και μετρήσεις οστικής πυκνότητας με DEXA, γ) τιμές βιοχημικών δεικτών οστικού μεταβολισμού (παραθορμόνη, καλσιτονίνη, οστεοκαλσίνη, λεπτίνη και IGF) και δ) γονιδιακή έκφραση των RUNX-2, FST, ITGB5, SOX-4 και SMAD1, καθώς και πολυμορφισμοί του CER1 και DKK1. Το πρώτο τμήμα της διατριβής αφορά κλινικά αποτελέσματα

και αναλύσεις σε υποομάδες ασθενών με οστεοπόρωση ή/και οστεοπορωτικά κατάγματα. Το σημαντικότερο εύρημα που προέκυψε είναι η σημαντική υποδιάγνωση και υποθεραπεία της οστεοπόρωσης σε ασθενείς >45 με προηγηθέντα οστεοπορωτικά κατάγματα ισχίου, σπονδυλικής στήλης ή κάτω πέρατος κερκίδας, παρά το γεγονός ότι η πλειοψηφία αυτών είχαν τουλάχιστον ένα γνωστό παράγοντα κινδύνου για εμφάνιση οστεοπόρωσης. Η ηλικία, το φύλο, το οικογενειακό ιστορικό και το ιστορικό προηγηθέντος οστεοπορωτικού κατάγματος φάνηκε να επηρεάζουν την απόφαση των παρόχων υγείας για σύσταση ελέγχου/θεραπείας οστεοπόρωσης στους ασθενείς. Αντίθετα άλλοι παράγοντες κινδύνου δεν αναγνωρίστηκαν επαρκώς. Μελετήθηκε επίσης το φαινόμενο της απόκλισης μεταξύ των T-score ισχίου και ΟΜΣΣ στη διάγνωση της οστεοπόρωσης (ελλάσων: 46%, μείζων: 8% στη δική μας σειρά), καθώς και η σχέση οστεοαρθρίτιδας και οστεοπόρωσης σε ασθενείς με οστεοπορωτικά κατάγματα ισχίου, όπου παρατηρήθηκε ότι η οστεοαρθρίτιδα δε φαίνεται να δρα προστατευτικά έναντι των οστεοπορωτικών καταγμάτων ισχίου.

Το δεύτερο κομμάτι των αποτελεσμάτων επικεντρώνεται στη γονιδιακή ανάλυση. Κατά τη μελέτη της έκφραση του γονιδίου RUNX-2, παρατηρηθήκε διαφοροποίηση της έκφρασης μεταξύ οστεοπορωτικών ασθενών και μαρτύρων και μεταξύ δειγμάτων αίματος και οστίτη ιστού. Επίσης, συγκρίσεις μεταξύ πασχόντων και μαρτύρων ανέδειξαν διαφοροποίηση σε 3 πολυμορφισμούς του γονιδίου CER1, με τους οστεοπορωτικούς να έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα εμφάνισης των παθολογικών αλληλόμορφων. Κατά τη συσχέτιση με κλινικούς παράγοντες παρατηρήθηκε ότι η ύπαρξη ενός τουλάχιστον παράγοντα κινδύνου για οστεοπόρωση ήταν σταθερά συχνότερη στους ασθενείς με το φυσιολογικό αλληλόμορφο σε σχέση με τους παθολογικούς γονότυπους για όλους τους πολυμορφισμούς του CER1. Τέλος, παρουσία του παθολογικού γονότυπου των πολυμορφισμών του CER1 σε οστεοπορωτικούς συσχετίστηκε με αυξημένη συχνότητα εμφάνισης οστεοπορωτικών καταγμάτων καθώς και υψηλότερα επίπεδα οστεοκαλσίνης στον ορό.

Τα δεδομένα που προέκυψαν θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως υπόβαθρο για ανάπτυξη τεχνικών ακριβέστερης διάγνωσης και πρόβλεψης του κινδύνου εμφάνισης καταγμάτων μέσω της συνδυασμένης χρήσης στοιχείων από το ιστορικό, μέτρησης BMD, ειδικών βιολογικών δεικτών οστικού μεταβολισμού στο αίμα και δεδομένων από το γενετικό έλεγχο του κάθε ασθενούς.

Abstract

Osteoporosis and related fractures can cause permanent disability or death, require long rehabilitation and are considered an important cause of morbidity, mortality, imposing a great burden on health systems worldwide. Osteoporosis is usually diagnosed late in the course of the disease due to the asymptomatic nature of the disease and the lack of adequate screening programs. The increasing prevalence of osteoporosis and the lack of early diagnosis of the disease prior to the occurrence of the first osteoporotic fracture emphasizes the need for effective strategies to screen and manage individuals with osteoporosis. To this end, it is important to understand the multifactorial nature of the disease and define the role of environmental and genetic factors in the pathogenesis of osteoporosis.

In the present study, we evaluated the role of genetic factors in the regulation of bone density and metabolism, as well as the possible association between them and various environmental factors in osteoporosis. Specifically, we studied gene polymorphisms and expression in peripheral blood and bone, biological markers of bone formation and resorption, as well as clinical parameters in an effort to correlate clinical phenotype with the expression patterns of important signaling pathways.

The study was conducted in the Department of Orthopedic Surgery of the University Hospital of Larisa, Greece. Samples were assigned to the “osteoporotic patients” or “control” group, based on the diagnosis of osteoporosis, determined by medical history and DEXA findings. The following parameters were studied: a) known risk factors for osteoporosis, including non-modifiable risk factors, concomitant diseases, medications and lifestyle, b) X-rays and bone mineral density (BMD) measurements with DEXA, c) biochemical markers of bone metabolism (PTH, Calcitonin, Osteocalcin, Leptin, IGF), and d) gene expression of RUNX-2, FST, ITGB5, SOX-4 and SMAD1, as well as polymorphisms of CER1 and DKK1.

The first section of the thesis is focused on clinical results and analyses in subgroups of patients with osteoporosis and/or osteoporotic fractures. The most important finding was the observed underdiagnosis and undertreatment of osteoporosis in patients >45 years of age with history of osteoporotic fractures of the hip, spine or distal radius, despite the fact that the majority of them had at least one

known risk factor for osteoporosis. Age, sex, family history of osteoporosis and history of previous osteoporotic fractures seemed to affect the healthcare providers' decision to screen/treat for osteoporosis. Furthermore, we evaluated the phenomenon of T-score discordance between hip and spine measurements in the diagnosis of osteoporosis (minor: 46%, major: 8% in our study), as well as the relationship between osteoarthritis and osteoporosis in patients with osteoporotic hip fractures. Our data showed that osteoarthritis doesn't reduce the risk of hip fractures.

The second part of the present thesis is focused on genetic profile analyses. Comparison between osteoporotic patients and controls showed significant differences in the three polymorphisms of CER1, with osteoporotic patients presenting with an increased frequency of the abnormal alleles. The presence of at least one risk factor for osteoporosis was more frequent in patients with the normal allele compared to the abnormal allele for all CER1 polymorphisms. Additionally, the presence of the abnormal genotype of CER1 polymorphisms in patients with osteoporosis was correlated with increased risk of osteoporotic fractures, as well as higher levels of serum osteocalcin. Finally, differences were noted in the expression of RUNX2 between patients with osteoporosis and controls, as well as between blood and bone samples in the osteoporotic patients.

In conclusion, this study addresses osteoporosis as a multifactorial entity. The provided data could be used as the foundation to be built upon for the development of strategies for more accurate diagnosis and prediction of the fracture risk using a combination of clinical data, BMD values, biochemical markers of bone metabolism and information from the genetic profile of each patient.

Πίνακας Περιεχομένων

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Α: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. Βιολογία του οστού και οστικός μεταβολισμός

1.1 Μακροσκοπική δομή και λειτουργία των οστών	1
1.2 Μικροσκοπική δομή των οστών	5
1.2.1 Θεμέλια Ουσία	5
1.2.2 Κύτταρα του οστίτη ιστού	7
1.2.3 Οστεώνες και πεταλιώδη συστήματα του οστίτη ιστού	11
1.2.4 Ρύθμιση και ομοιοστασία ασβεστίου και φωσφόρου	13
1.3 Σχηματισμός και ανάπτυξη των οστών	23
1.3.1 Υμενογενής οστεογένεση	24
1.3.2 Ενδοχόνδρια οστεογένεση	25
1.3.3 Ρύθμιση δράσης χονδροκυττάρων στην ενδοχόνδρια οστεογένεση	28
1.3.4 Κατά μήκος αύξηση του οστού	30
1.4 Αναδιαμόρφωση του οστίτη ιστού	31

2. Οστεοπόρωση

2.1 Ορισμός	35
2.2 Μέγεθος του προβλήματος-Επιδημιολογία	37
2.3 Παθοφυσιολογία	41
2.4 Κλινική εικόνα	42
2.5 Παράγοντες κινδύνου	46
2.6 Διάγνωση	49
2.6.1 Εργαστηριακός Έλεγχος	49
2.6.2 Απεικόνιση	51
2.6.3 FRAX	53
2.7 Προσυμπτωματικός έλεγχος διαλογής	55
2.7.1 Συστάσεις οργανισμών	55

2.7.2 Κίνδυνοι του screening	58
2.8 Θεραπεία Οστεοπόρωσης	58
2.8.1 Οιστρογόνα	59
2.8.2 Τροποποιητές των οιστρογονικών υποδοχέων	60
2.8.3 Διφωσφονικά	61
2.8.4 Παραθορμόνη	64
2.8.5 Καλσιτονίνη	65
2.8.6 Ρανελικό στρόντιο	66
2.8.7 Denosumab	67
3. Γενετικό υπόβαθρο της οστεοπόρωσης	
3.1 Σηματοδοτικό μονοπάτι TGF-β	69
3.2 Σηματοδοτικό μονοπάτι OPG-RANK-RANKL	74
3.3 Μονοπάτι του Wnt	76
ΚΕΦΑΛΑΙΟ Β: ΣΚΟΠΟΣ	83
ΚΕΦΑΛΑΙΟ Γ: ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ	
1. Σχεδιασμός μελέτης	87
1.1 Πληθυσμός μελέτης	87
1.2 Συλλογή των δεδομένων	87
2. Ιστορικό και κλινική εξέταση	
2.1 Λήψη Ιστορικού	89
2.2 Ορισμοί και διαγνωστικά κριτήρια	90
2.3 Κλινική εξέταση	91
2.4 Πρόβλεψη καταγματικού κινδύνου	91
3. Απεικονιστικός έλεγχος	
3.1 Απλές Ακτινογραφίες	92

3.2 Μέτρηση οστικής πυκνότητας	93
4. Μέτρηση δεικτών οστικού μεταβολισμού	94
5. Ανάλυση γονιδιακής έκφρασης	
5.1 Γενικά	96
5.2 Απομόνωση RNA από περιφερικό αίμα	97
5.3 Απομόνωση RNA από οστικό τεμάχιο	100
5.4 Σύνθεση cDNA	101
5.5 Ποσοτική PCR πραγματικού χρόνου	103
6. Ανάλυση πολυμορφισμών	
6.1 Απομόνωση DNA	108
6.2 Διαδικασία αλληλούχισης	109
7. Στατιστική ανάλυση	111

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Δ: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. Γενικά χαρακτηριστικά δείγματος

1.1 Κλινικά χαρακτηριστικά	114
1.2 Δείκτες οστικού μεταβολισμού	116

2. Μελέτες κλινικών παραμέτρων

2.1 Υποδιάγνωση και υποθεραπεία της οστεοπόρωσης σε ασθενείς με οστεοπορωτικά κατάγματα	118
2.1.1 Γενικά χαρακτηριστικά	119
2.1.2 Ιστορικό προηγηθέντος κατάγματος	120
2.1.3 Άλλοι παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση οστεοπόρωσης	121
2.1.4 Διάγνωση και θεραπεία οστεοπόρωσης πριν το παρόν κάταγμα	122
2.2 Τα κατάγματα Colles ως δείκτης υποκείμενης οστεοπόρωσης	128
2.2.1 Κλινικά χαρακτηριστικά	129
2.2.2 Μέτρηση μέσης οστικής πυκνότητας με DEXA	130

2.2.3 Βιοχημικοί δείκτες οστικού μεταβολισμού	131
2.2.4 Πολυμορφισμοί του CER1	132
2.3 Απόκλιση T-score ισχίου και σπονδυλικής στήλης	132
2.3.1 Γενικά χαρακτηριστικά του δείγματος	133
2.3.2 Αποτελέσματα DEXA: Ταξινόμηση T-score	134
2.3.3 Συσχέτιση παραγόντων κινδύνου και απόκλισης T-score	135
2.4 Επίπτωση οστεοαρθρίτιδας ισχίου σε ασθενείς με οστεοπορωτικά κατάγματα ισχίου	137
2.4.1 Γενικά χαρακτηριστικά του δείγματος	139
2.4.1 Επιπολασμός οστεοαρθρίτιδας ισχίου	139
2.4.3 Παράγοντες κινδύνου και συσχέτιση οστεοαρθρίτιδας-οστεοπόρωσης στην ομάδα ασθενών με κατάγματα ισχίου	140
3. Γονιδιακή ανάλυση	
3.1 Μελέτη γονιδιακής έκφρασης του RUNX2	143
3.1.1 Επίπεδα Έκφρασης Γονιδίου RUNX2	143
3.1.2 Συσχέτιση έκφρασης του RUNX2 με κλινικούς παράγοντες	144
3.1.3 Συσχέτιση έκφρασης του RUNX2 με αντιοστεοπορωτική θεραπεία	146
3.2 Μελέτη πολυμορφισμών του γονιδίου CER1	147
3.2.1 Πολυμορφισμοί του CER1 σε πάσχοντες και μάρτυρες	147
3.2.2 Συσχέτιση του CER1 με κλινικά δεδομένα	149
3.2.3 Πολυμορφισμοί του CER1 και οστεοπορωτικά κατάγματα	159
3.2.4 Ανάλυση πολυμορφισμών του CER1 σε συνάρτηση με βιοχημικούς δείκτες οστικού μεταβολισμού	160
3.3 Μελέτη πολυμορφισμών του γονιδίου DKK1	162
3.3.1 Πολυμορφισμοί DKK1 και συσχετίσεις με κλινικούς παράγοντες	162
3.3.2 Πολυμορφισμοί DKK1 και οστεοπορωτικά κατάγματα	163
3.4 Συσχέτιση έκφρασης του RUNX2 με πολυμορφισμούς CER1 και DKK	164
3.5 Μελέτη γονιδιακής έκφρασης των FST, ITGB5, SOX-4 και SMAD1	165

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ε: ΣΥΖΗΤΗΣΗ

1. Κλινικά δεδομένα και συσχετισμοί σε ασθενείς με οστεοπόρωση

- 1.1 Υποδιάγνωση και υποθεραπεία της οστεοπόρωσης σε ασθενείς με
οστεοπορωτικά κατάγματα 168
- 1.2 Το φαινόμενο της απόκλισης του T-score ισχίου και σπονδυλικής στήλης
κατά τη διάγνωση της οστεοπόρωσης 174
- 1.3 Συσχέτιση οστεοπόρωσης και οστεοαρθρίτιδας ισχίου 178

2. Γονιδιακή ανάλυση 182

3. Συμπεράσματα 191

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 192

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α' 221

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β' 223

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Α

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1. Βιολογία του οστού και οστικός μεταβολισμός

1.1 Μακροσκοπική δομή και λειτουργία των οστών

Ο οστίτης ιστός είναι ένας δυναμικός ιστός ικανός να μεταβάλλει τη δομή του υπό την επίδραση των δυνάμεων που ασκούνται πάνω σ' αυτόν. Όπως και άλλοι συνδετικοί ιστοί, αποτελείται από κύτταρα, ίνες και μεσοκυττάρια θεμέλια ουσία. Ο οστίτης ιστός είναι σκληρός, λόγω της ασβεστοποίησης της θεμέλιας ουσίας, αλλά ταυτόχρονα και ελαστικός ως ένα βαθμό, λόγω της παρουσίας οργανικών ινών [1].

Ο σκελετός είναι υπεύθυνος για τη στήριξη του σώματος. Προσφέρει επίσης θέσεις για την πρόσφυση των μυών και τενόντων, συμβάλλοντας έτσι στην κίνηση. Τέλος σχηματίζει κοιλότητες για την προστασία διαφόρων οργάνων. Συγκεκριμένα οι λειτουργίες των οστών περιλαμβάνουν [1]:

- Στήριξη και κίνηση του σώματος
- Προστασία εσωτερικών οργάνων (θώρακας, σπόνδυλοι, κρανίο)
- Αποθήκευση ασβεστίου, φωσφόρου και άλλων ανόργανων στοιχείων
- Αιμοποίηση μέσω του μυελού των οστών

Ο οστίτης ιστός διακρίνεται σε συμπαγή και σπογγώδη [2, 3]. Το συμπαγές οστό εμφανίζεται ως συμπαγής μάζα αυξημένης οστικής πυκνότητας, χωρίς παρουσία ενδιάμεσων χώρων. Αποτελείται από πολλαπλούς οστεώνες (Αβέρσειο σύστημα). Κάθε οστεώνας αποτελείται από ενδιάμεσα συγκεντρικά πετάλια με ένα ενδιάμεσο κεντρικό κανάλι (Αβερσειανό κανάλι) που εμπεριέχει οστεοβλάστες και ένα αρτηριόλιο για αιματική παροχή του οστεώνα. Τα πετάλια επικοινωνούν μεταξύ τους με σωληνίσκους, τους σωληνίσκους του Volkmann [4].

Παχύ φλοιώδες οστό εντοπίζεται κυρίως στη διάφυση των μακρών οστών. Αντίθετα, το σπογγώδες οστό αποτελείται από διακλαδούμενο δίκτυο δοκίδων. Οι δοκίδες διατάσσονται με ορισμένο τρόπο, ώστε να αντέχουν στις εξωτερικές δυνάμεις στις οποίες υποβάλλεται το οστό. **(Εικόνα 1)** Το οστό απορροφάται από οστεοκλάστες στα βοθρία του Howship και αναδομείται στην αντίθετη πλευρά των δοκίδων από τους οστεοβλάστες. Σπογγώδες οστό εντοπίζεται κυρίως στη μετάφυση και διάφυση των οστών.

Τα οστά ταξινομούνται ανάλογα με την εντόπισή τους στο ανθρώπινο σώμα ή ανάλογα με τη μορφολογία τους (**Εικόνα 2**). Ανάλογα με την εντόπιση, ο σκελετός διακρίνεται σε αξονικό και περιφερικό σκελετό. (**Πίνακας 1**) Ο αξονικός περιλαμβάνει το κρανίο, τη σπονδυλική στήλη και τις πλευρές. Συνολικά αποτελείται από 80 οστά

και είναι υπεύθυνος για την προστασία ζωτικών οργάνων όπως ο εγκέφαλος, ο νωτιαίος μυελός, η καρδιά και οι πνεύμονες. Ο περιφερικός σκελετός αποτελείται από 126 οστά και αφορά τα άνω και κάτω άκρα. Ανάλογα με τη μορφολογία τους τα οστά διακρίνονται σε α) μακρά, β) βραχέα, γ) πλατέα, δ) ακανόνιστα/ανώμαλα και ε) σησαμοειδή οστά [1, 5]. **(Εικόνα 2)**

Πίνακας 1. Ταξινόμηση οστών με βάση την εντόπισή τους στον σκελετό [1, 4]

Εντόπιση	Αριθμός οστών
Αξονικός σκελετός	
Κρανίο	28
Υοειδές οστό	1
Σπόνδυλοι	33
Στέρνο	1
Πλευρές	24
Άνω άκρο	
Κλείδα	2
Ωμοπλάτη	2
Βραχιόνιο	2
Κερκίδα	2
Ωλένη	2
Οστά καρπού	16
Μετακάρπια	10
Φάλαγγες δακτύλων χεριού	28
Κάτω άκρο	
Ανώνυμο οστό	2
Μηριαίο	2
Επιγονατίδα	2
Περώνη	2
Κνήμη	2
Οστά tarsού	14
Μετατάρσια	10
Φάλαγγες δακτύλων ποδιού	28
	213

Τα μακρά οστά (**Εικόνα 3**) έχουν δύο άκρα, τις επιφύσεις, που καλύπτονται στο απώτερο άκρο τους από αρθρικό χόνδρο. Το κυρίως σώμα του οστού (στέλεχος) είναι η διάφυση, που αποτελείται από παχύ φλοιώδες οστό και περιέχει μία κοιλότητα, το μυελώδη αυλό. Μέσα στον αυλό αυτό εμπεριέχεται ο μυελός των οστών. Στα άτομα που εξακαλουθούν να αναπτύσσονται η διάφυση χωρίζεται από την επίφυση με τον συζευκτικό χόνδρο ή επιφυσιικό δίσκο. Τέλος, η περιοχή μεταξύ διάφυσης και συζευκτικού χόνδρου στο άκρο των μακρών οστών ονομάζεται μετάφυση και αποτελείται κυρίως από σπογγώδες οστό [6]. Τα μακρά οστά συναντώνται στα άκρα (π.χ. βραχιόνιο, μηριαίο).

Εικόνα 3. Δομή μακρού οστού

Η εξωτερική επιφάνεια των οστών καλύπτεται, με εξαίρεση τις αρθρικές επιφάνειες, από περίοστεο. Δεν υπάρχει περίοστεο στις θέσεις πρόσφυσης των τενόντων και των μυών στα οστά, καθώς και στα σησαμοειδή οστά. Το περίοστεο αποτελείται από πυκνό, ακανόνιστο συνδετικό ιστό, που εισχωρεί στο οστό μέσω των ινών του Sharpey. Παρουσιάζει μια εξωτερική στιβάδα αποτελούμενη από ινώδη συνδετικό ιστό (έξω ινώδη στιβάδα) που βοηθά στην κατανομή των αγγείων και νεύρων του οστού, και μία έσω κυτταροβριθή στιβάδα που περιέχει οστεοχονδροπρογονικά κύτταρα (osteochondroprogenitors) και οστεοβλάστες [7, 8].

Τα βραχεία οστά έχουν σχεδόν ίσο μήκος και πλάτος. Διαθέτουν ένα κεντρικό τμήμα αποτελούμενο από σπογγώδες οστό, το οποίο περιβάλλεται από συμπαγή οστική ιστό. Συναντώνται στον καρπό (σκαφοειδές, μηνοειδές, κτλ) και τον τارسό (κυβοειδές, σφηνοειδή).

Τα πλατέα οστά εντοπίζονται στο κρανίο (π.χ. ινιακό), την πύελο (ανώνυμα οστά) και την ωμική ζώνη (ωμοπλάτη). Αποτελούνται από δύο πλάκες συμπαγούς οστικής ιστού, μεταξύ των οποίων υπάρχει σπογγώδης ιστός. Τα πλατέα οστά του κρανίου αναπτύσσονται με διαφορετικό τρόπο από ότι ο υπόλοιπος σκελετός. Ο

θόλος του κρανίου διαθέτει δύο στιβάδες συμπαγούς οστού, την έσω και έξω πλάκα. Μεταξύ των δύο αυτών στιβάδων παρεμβάλλεται μία στιβάδα σπογγώδους ιστού, η διπλόη. Το έξω πέταλο καλύπτεται από λεπτή στιβάδα περιοστέου, το περικράνιο. Το έσω πέταλο επενδύεται εσωτερικά από τη σκληρά μήνιγγα [8]. **(Εικόνα 4)**

Τα ανώμαλα οστά έχουν ακανόνιστο σχήμα όπως υποδηλώνει και το όνομά τους. Παραδείγματα ανώμαλων οστών αποτελούν η πτέρνα και οι σπόνδυλοι. Τέλος τα σησαμοειδή οστά είναι μικροί οστικοί σχηματισμοί που εντοπίζονται σε θέσεις πρόσφυσης των τενόντων σε οστικές επιφάνειες. Τα σησαμοειδή οστά ελαττώνουν την τριβή και μπορεί να αλλάξουν τη φορά έλξης ενός τένοντα. Το μεγαλύτερο σησαμοειδές οστό είναι η επιγονατίδα.

1.2 Μικροσκοπική δομή των οστών

Μικροσκοπικά, το οστό αποτελείται από: 1. Θεμέλια ουσία (οργανική και ανόργανη φάση), 2. Κύτταρα και 3. Νερό.

1.2.1 Θεμέλια Ουσία

Ο οστίτης ιστός αποτελείται από κύτταρα ευρισκόμενα μέσα σε θεμέλια ουσία, η οποία αποτελείται από μία ανόργανη και μία οργανική φάση. Η ανόργανη φάση αποτελεί περίπου το 60% της μάζας του οστίτη ιστού. Τα κύρια συστατικά της

περιλαμβάνουν ασβέστιο και φωσφόρο, κυρίως με τη μορφή κρυστάλλων υδροξυαπατίτη $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$. Οι κρύσταλλοι υδροξυαπατίτη βρίσκονται διατεταγμένοι κατά κανονικό τρόπο κατά μήκος των κολλαγόνων ινών τύπου Ι. Τα επιπολής ιόντα των κρυστάλλων έλκουν νερό και σχηματίζουν ένα ένυδρο περίβλημα, το οποίο επιτρέπει την ανταλλαγή ιόντων με εξωκυττάριο υγρό [8, 9].

Η οργανική φάση περιλαμβάνει ίνες και άμορφη ουσία. Οι εν λόγω ίνες περιέχουν κυρίως κολλαγόνο τύπου Ι. Η θεμέλια ουσία είναι πλούσια σε πρωτεογλυκάνες με παράπλευρες αλυσίδες θειικής χονδροϊτίνης και θειικές κερατάνης. Επιπροσθέτως, περιέχει γλυκοπρωτεΐνες, όπως η οστεονεκτίνη, η οστεοκαλσίνη, η οστεοποντίνη και η οστική σιαλοπρωτεΐνη.

Αναλυτικά, το κολλαγόνο αποτελεί το 80-90% του οργανικού στοιχείου του οστού [10]. Το τύπου Ι κολλαγόνο των οστών παρουσιάζει άφθονες διασταυρούμενες συνδέσεις οι οποίες δεν επιτρέπουν την εύκολη εκχύλισή του. Η σκληρότητα και ανθεκτικότητα του οστού οφείλονται στη σχέση των ινών κολλαγόνου μεταξύ τους αλλά και με τους κρυστάλλους υδροξυαπατίτη. Η σημασία του κολλαγόνου τύπου Ι στον οστίτη ιστό έχει αναδειχθεί σε πολλαπλές μελέτες ατελούς οστεογένεσης. Συγκεκριμένα ποσοτικές και ποιοτικές διαταραχές στα γονίδια του κολλαγόνου τύπου Ι έχουν συσχετισθεί με δομικές διαταραχές στους κρυστάλλους υδροξυαπατίτη και τις ίνες κολλαγόνου οδηγώντας έτσι σε αυξημένη ευθραυστότητα των οστών [11, 12, 13].

Στη θεμέλια ουσία υπάρχουν επίσης και μη κολλαγόνες πρωτεΐνες, με κυριότερους εκπροσώπους τις πρωτεογλυκάνες και γλυκοπρωτεΐνες. Οι πρωτεογλυκάνες συμμετέχουν στην οργάνωση της θεμέλιας ουσίας και στη ρύθμιση της δράσης αυξητικών παραγόντων. Στα αρχικά στάδια της οστεογένεσης οι κυριότερες πρωτεογλυκάνες είναι αυτές που συνδέονται με υαλουρονικό οξύ. Αντίθετα, στον ώριμο οστίτη ιστό συναντώνται συνήθως πρωτεογλυκάνες με πρωτεϊνικό πυρήνα αποτελούμενο κυρίως από αλληλουχίες πλούσιες σε λευκίνη. Γλυκοπρωτεΐνες όπως η αλκαλική φωσφατάση (ALP; alkaline phosphatase), η οστεονεκτίνη, η τετρανεκτίνη καθώς και πρωτεΐνες που περιέχουν το τριπεπτίδιο Αργινίνη-Γλυκίνη-Ασπαραγινικό οξύ (οστεονεκτίνη, θρομβοσπονδίνη, φιβρονεκτίνη, οστεοποντίνη, και οστική σιαλοπρωτεΐνη), παράγονται σε διαφορετικά στάδια της ωρίμανσης των οστεοβλαστών. Οι δράσεις τους εκτείνονται από τον έλεγχο του

κυτταρικού πολλαπλασιασμού και εναπόθεση υδροξυαπατίτη, σε αλληλεπιδράσεις μεταξύ κυττάρων και θεμέλιας ουσίας [14].

1.2.2 Κύτταρα του οστίτη ιστού

Εν συντομία, το οστό περιλαμβάνει τέσσερις βασικές κατηγορίες κυττάρων: τα οστεοπρογονικά κύτταρα, τις οστεοβλάστες, τα οστεοκύτταρα και τις οστεοκλάστες (**Εικόνα 5**). Τα οστεοπρογονικά κύτταρα (osteoprogenitors)

διαφοροποιούνται σε οστεοβλάστες (osteoblasts). Οι οστεοβλάστες είναι επιφορτισμένοι με την παραγωγή θεμέλιας ουσίας. Όταν τα κύτταρα αυτά περιβληθούν από θεμέλια ουσία καθίστανται αδρανή και ονομάζονται πλέον οστεοκύτταρα (osteocytes). Οι χώροι μέσα στους οποίους κατασκηνώνουν τα οστεοκύτταρα είναι γνωστοί ως οστικές κοιλότητες (lacunae). Η

Εικόνα 5. Κύτταρα του οστίτη ιστού όπως διακρίνονται σε ιστολογική τομή με χρώση Αιματοξιλίνης και Ηωσίνης.

απορρόφηση και η αναδιάταξη του οστίτη ιστού επιτελείται από τους οστεοκλάστες, πολυπύρηννα γιγαντοκύτταρα, τα οποία προκύπτουν μετά από συνένωση μονοπύρηννων κυττάρων προερχόμενων από το μυελό των οστών.

Οστεοπρογονικά κύτταρα

Τα οστεοπρογονικά κύτταρα εντοπίζονται στην έσω κυτταροβριθή στιβάδα του περιοστέου και στο ενδόστεο και επενδύουν τους Αβέρσειους σωλήνες. Τα εν λόγω κύτταρα προερχόμενα από εμβρυονικά μεσεγχοματικά κύτταρα είναι ικανά να προβούν σε μιτωτική διαίρεση και να διαφοροποιηθούν σε οστεοβλάστες ή χονδροκύτταρα με την ενεργοποίηση των κατάλληλων σηματοδοτικών μονοπατιών [15]. Τα οστεοπρογονικά κύτταρα είναι ατρακτοειδή με ωοειδή ελαφροχρωματικό πυρήνα. Το ελάχιστο αχνά χρωματισμένο κυτταρόπλασμα παρουσιάζει ελάχιστο αδρό ενδοπλασματικό δίκτυο και υποτυπώδη συσκευή Golgi αλλά άφθονα ελεύθερα ριβοσώματα [8].

Στο ώριμο οστό όπου δεν παρατηρείται ενεργός οστική παραγωγή ή ταχεία αναδόμηση, τα οστεοπρογονικά κύτταρα αποκτούν αποπλατυσμένη ατρακτοειδή δομή κοντά στην επιφάνεια του οστού. Τα εν λόγω κύτταρα είναι περισσότερο ενεργά κατά την περίοδο της έντονης ανάπτυξης των οστών. Κατά τη φάση της ανάπτυξης του σκελετού ή σε περιπτώσεις οστικής αναδόμησης (π.χ. κάταγμα), τα κύτταρα αυτά είναι περισσότερα και σαφώς μεγαλύτερα με άφθονο κυτταρόπλασμα και διαφοροποιούνται ταχύτατα σε ενεργούς οστεοβλάστες [16].

Οστεοβλάστες

Οι οστεοβλάστες είναι κυβοειδή κύτταρα με έκκεντρο πυρήνα, πολλά οργανίδια, εκτεταμένο ενδοπλασματικό δίκτυο και σύμπλεγμα Golgi. Εντοπίζονται στην επιφάνεια του οστίτη ιστού και είναι υπεύθυνα για τη σύνθεση πρωτεϊνών της μεσοκυττάριας ουσίας του οστίτη ιστού, συμπεριλαμβανομένων των κολλαγόνου τύπου I άλφα 1 (Col1α1), οστεοκαλσίνη, και αλκαλική φωσφατάση [17]. Οι οστεοβλάστες χορηγούν βραχείες προσεκβολές, οι οποίες έρχονται σε επαφή με αποφυάδες των οστεοκυττάρων (**Εικόνα 6**).

Καθώς οι οστεοβλάστες εξωκυτταρώνουν τα εκκριτικά προϊόντα τους, κάθε κύτταρο περιβάλλεται από τη θεμέλια οστική ουσία που έχει μόλις παραγάγει. Όταν συμβεί αυτό το εγκλεισμένο κύτταρο χαρακτηρίζεται ως οστεοκύτταρο, ο δε χώρος που καταλαμβάνει είναι γνωστός ως οστική κοιλότητα. Όταν απενεργοποιηθούν, οι οστεοβλάστες καθίστανται αποπλατυσμένα και σχηματίζουν επενδυματικά κύτταρα. Οι οστεοβλάστες διαθέτουν υποδοχείς παραθορμόνης και ιντεγκρίνες στην επιφάνειά

τους. Οι οστεοβλάστες εκκρίνουν επίσης ένζυμα υπεύθυνα για την απορρόφηση οστεοειδούς, ούτως ώστε οι οστεοκλάστες να μπορούν να έρθουν σε επαφή με την εφαιλωμένη επιφάνεια του οστού [18].

Οι οστεοβλάστες είναι παρόντες καθόλη τη διάρκεια της ζωής, αλλά η δράση τους είναι ιδιαίτερα αυξημένη κατά τη διάρκεια της εμβρυονικής ανάπτυξης του σκελετού. Στην ενήλικη ζωή οι οστεοβλάστες ενεργοποιούνται σε περιπτώσεις ανάγκης ανάπλασης ενός οστικού ελλείματος ή της θεμέλιας ουσίας [17].

Τα μεσεγχυματικά βλαστικά κύτταρα (mesenchymal stem cells; MSCs) είναι οι πρόγονοι των οστεοβλαστών τόσο στην ενδοχόνδρια όσο και στη μεμβρανώδη οστεογένεση. Τα κύτταρα αυτά είναι πολυδύναμα και μπορούν να διαφοροποιηθούν σε μυοβλάστες, οστεοβλάστες, χονδροκύτταρα, κύτταρα του δέρματος ή λιποκύτταρα ανάλογα με τα μεταγραφικά σήματα που δέχονται [19]. Κύριος μεταγραφικός παράγοντας για τη διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών κυττάρων σε οστεοβλάστες είναι ο Runx2 (Cbfa1) [20, 21]. Ενεργοποίηση του Sox9 [22] και έναρξη της διαδικασίας διαφοροποίησης των προγονικών κυττάρων προς οστεοχόνδρινες κυτταρικές σειρές, προηγείται της ενεργοποίησης του Runx2 στο μονοπάτι της ενδοχόνδριας οστεογένεσης. Με την ενεργοποίηση του Runx2 τα κύτταρα διαφοροποιούνται σε προ-οστεοβλάστες. Ακολουθεί περαιτέρω ωρίμανση και διαφοροποίηση, με κύρια στάδια αυτά του πολλαπλασιασμού, ωρίμανσης θεμέλιας ουσίας και εφαιλάτωσης, έως το στάδιο των ώριμων οστεοβλαστών [20]. Περαιτέρω πληροφορίες για τη λειτουργία του Runx2 δίνονται στο τμήμα 3. Γονίδια που εμπλέκονται στην οστεοπόρωση.

Οστεοκύτταρα

Τα οστεοκύτταρα είναι ώριμα οστικά κύτταρα προερχόμενα από οστεοβλάστες τα οποία εντοπίζονται σε οστικές κοιλότητες μέσα στην εφαιλωμένη ουσία του οστίτη ιστού. Αποτελούν το 90% των κυττάρων του ώριμου σκελετού. Είναι αποπλατυσμένα, ελλειψοειδή κύτταρα με πολλαπλές προσεκβολές. **(Εικόνα 6)** Με τις κυτταροπλασματικές αποφυάδες τους επικοινωνούν μεταξύ τους καθώς και με άλλα γειτονικά κύτταρα και τη θεμέλιο ουσία δημιουργώντας έτσι ένα δίκτυο επικοινωνίας μέσα στο οστό. Τα κύτταρα αυτά είναι επιφορτισμένα με τη διατήρηση του οστίτη ιστού, καθώς έχουν την ικανότητα να εντοπίζουν μικροβλάβες του οστίτη

ιστού και επικοινωνώντας με άλλα κύτταρα της περιοχής να σηματοδοτούν την έναρξη της αναδιαμόρφωσης του οστού.

Αυξημένη απόπτωση των οστεοκυττάρων παρατηρείται σε περιπτώσεις έλλειψης οιστρογόνων, παρατεταμένης ακινητοποίησης και καταστάσεις που σχετίζονται με χαμηλή οστική μάζα λόγω αυξημένης οστικής αναδόμησης [23]. Αυτές οι παρατηρήσεις σε συνδυασμό με δεδομένα από πειραματικές μελέτες του ρόλου των οστεοκυττάρων σε νεαρούς επίμους [24], δείχνουν ότι τα οστεοκύτταρα κατέχουν σημαντικό ρόλο στη διαδικασία αναστολής της οστικής απορρόφησης από τους οστεοκλάστες. Οσον αφορά την επίδραση των οστεοκυττάρων στις οστεοβλάστες αυτή συνίσταται σε: α) ενεργοποίηση των οστεοβλαστών μέσω της παραγωγής αγγειοφόρων μηνυμάτων, όπως το νιτρικό οξύ και η προσταγλανδίνη E2, σε απόκριση σε μηχανικές δυνάμεις στο οστό και β) αναστολή των οστοβλαστών μέσω έκκρισης οστεοκαλσίνης [25].

Οστεοκλάστες

Οι οστεοκλάστες είναι πολυπύρρηνα, ανώμαλου σχήματος γιγαντοκύτταρα προερχόμενα από μονοκύτταρα. Περιέχουν πολλά μιτοχόνδρια που δίνουν την απαραίτητη ενέργεια για τη βασική λειτουργία τους. Οι οστεοκλάστες είναι υπεύθυνοι για την οστική απορρόφηση. Έχουν την ικανότητα να προσκολλώνται στην επιφάνεια των οστών που πρόκειται να αποδομήσουν και να εκκρίνουν ένζυμα διασπώντας τη θεμέλιο ουσία. **(Εικόνα 7)**

Εικόνα 7. Απεικόνιση οστεοκλαστών. Α. Ιστολογική τομή μηριαίου επίμους με χρώση TRAP που αναδεικνύει σημαντική οστεοκλαστική αντίδραση στην περιοχή του οστικού ελλείματος. Οι οστεοκλάστες είναι TRAP+ (κόκκινα κύτταρα). Β. Ωριμος οστεοκλάστης κατά τη διάρκεια οστικής απορρόφησης, όπως φαίνεται στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (Η εικόνα ηλεκτρονικού μικροσκοπίου από τους Tim Arnett & Javier Manzano, Bone Research Society 2015-2018)

Η αρχική διαφοροποίηση των οστεοκλαστών εξαρτάται από σηματοδοτικά μονοπάτια που σχετίζονται με τον παράγοντα διέγερσης των αποικιών (Colony-stimulating factor-1 ; C-FMS), του υποδοχέα για τον παράγοντα ενεργοποίησης των μακροφάγων (macrophage colony stimulating factor; MCSF), στα προγονικά μονοκύτταρα [26]. Ο παράγοντας αυτός ενεργοποιεί με τη σειρά του το RANK (Receptor activator of nuclear factor kappa-B). Ο συνδέτης του, RANKL, εκφράζεται τόσο σε οστεοβλάστες όσο και σε κύτταρα του στρώματος σε απάντηση στην παραθορμόνη και στην ενεργό μορφή της βιταμίνης D3 (1,25-OH₂ Vit D3) [27]. Το σηματοδοτικό μονοπάτι του C-FMS και του RANK είναι καθοριστικό για την ανάπτυξη και ενεργοποίηση των οστεοκλαστών.

Η παραγωγή οστεοκλαστών ενεργοποιείται σε φλεγμονώδεις διεργασίες που σχετίζονται με απώλεια οστού, μέσω της συνεργιστικής δράσης των προφλεγμονωδών κυτταροκινών (π.χ. tumour necrosis factor α ; TNF α και RANKL), και της διαφοροποίησης των δένδριτικών κυττάρων. Έλλειψη οιστρογόνων οδηγεί σε παραγωγή ιντερλευκίνης 7 (IL-7), που με τη σειρά της ενεργοποιεί τα T-κύτταρα και μια πληθώρα σηματοδοτικών μονοπατιών που παράγουν κυτταροκίνες και αντιδραστικές ρίζες οξυγόνου. Αποτέλεσμα αυτών των διεργασιών είναι η αυξημένη παραγωγή RANKL και TNF α [23].

1.2.3 Οστεώνες και πεταλιώδη συστήματα του οστίτη ιστού

Ο συμπαγής οστίτης ιστός αποτελείται από στιβάδες οστού, τα επονομαζόμενα πετάλια. Οι στιβάδες αυτές δημιουργούν τα πεταλιώδη συστήματα (έσω, ενδιάμεσα και έξω) και τους οστώνες.

Τα έξω κυκλοτερή πετάλια εντοπίζονται κάτω από το περίοστεο, σχηματίζοντας την πλέον εξωτερική στιβάδα της διάφυσης. Περιέχουν τις ίνες του Sharpey, οι οποίες συνδέουν τη στιβάδα του περιοστέου με το οστό. Τα έσω κυκλοτερή πετάλια με τη σειρά τους περιβάλλουν τον μυελώδη αυλό. Από τα έσω κυκλοτερή πετάλια εκφύονται δοκίδες σπογγώδους οστού οι οποίες εισχωρούν στην ενδομυελική κοιλότητα. [8]

Η κυρίως μάζα των συμπαγών οστών αποτελούνται από τους οστεώνες. Κάθε οστεώνας σχηματίζεται από συγκεντρικά διατεταγμένα πετάλια, με κέντρο τον Αβέρσειο σωλήνα. Κάθε οστεώνας αφορίζεται από μια λεπτή γραμμή

αποτιτανώσεως αποτελούμενη από αποτιτανωμένη θεμέλια ουσία με μικρή ποσότητα κολλαγόνων ινών. Κάθε Αβέρσειος σωλήνας έχει διάμετρο 20-100μm περιλαμβάνει ένα νευραγγειακό κλάδο και κυτταρικούς πληθυσμούς οστεοπρογονικών κυττάρων και οστεοβλαστών. Οι Αβέρσειοι σωλήνες γειτονικών οστών επικοινωνούν μεταξύ τους με τους σωλήνες του Volkmann, οι οποίοι παρουσιάζουν λοξή ή κάθετη πορεία σε σχέση με τους αβέρσειους σωλήνες. **(Εικόνα 8)** Τα αιμοφόρα αγγεία του αβέρσειου συστήματος μεταφέρουν θρεπτικά συστατικά σε όλα τα πέταλα του κάθε οστεώνα μέσω διακλαδώσεών τους εν διαμέσω μικροσωληνίσκων. [16]

Κατά τη διάρκεια του σχηματισμού των οστεώνων, προστίθενται συνεχώς νέα πετάλια στο Αβέρσειο σύστημα, με αποτέλεσμα την αύξηση του πάχους των οστεώνων. Ο μέγιστος αριθμός πεταλίων για κάθε οστεώνα είναι 4-20 στιβάδες. Κατά τη διαδικασία οστικής αναδόμησης, οι οστεοκλάστες απορροφούν πετάλια οστεώνων τα οποία σταδιακά θα αντικατασταθούν από νέα μέσω παραγωγής οστίτη

ιστού από τις οστεοβλάστες. Τα υπολείμματα των αποδομηθέντων οστεώνων παραμένουν ως ακανόνιστες στιβάδες, γνωστές ως διάμεσα πετάλια. [8]

1.2.4 Ρύθμιση και ομοιοστασία ασβεστίου και φωσφόρου

Τέλος, στη ρύθμιση της διαδικασίας αυτής συμμετέχουν και διάφορες ορμόνες όπως τα οιστρογόνα, τα ανδρογόνα, η καλσιτονίνη, η βιταμίνη D και η παραθορμόνη καθώς και τοπικά παραγόμενοι αυξητικοί παράγοντες, όπως οι IGF-I και -II, ο TGF, οι ιντερλευκίνες, οι προσταγλανδίνες και ο TNF. Ο ρόλος των αυξητικών παραγόντων και ορμονών στην ισορροπία οστεογένεσης και οστικής αποδόμησης θα εξεταστεί στο υποκεφάλαιο της οστεοπόρωσης. Στην παρούσα ενότητα θα περιγραφεί ο ρόλος των ορμονών παραθορμόνης, καλσιτονίνης και βιταμίνης D στην ομοιοστασία του ασβεστίου και φωσφόρου.

Το ασβέστιο είναι ένα βασικό συστατικό του σκελετού. Ιδανικά επίπεδα πρόσληψης ασβεστίου θεωρούνται αυτά που οδηγούν σε α) μεγιστοποίηση της κορυφαίας οστικής μάζας, β) διατήρηση της ενήλικου οστικής μάζας, και γ) ελαχιστοποίηση οστικής απώλειας σε μεγαλύτερη ηλικία. Οι απαιτήσεις σε ασβέστιο ποικίλουν ανάλογα με την ηλικία, με τις μεγαλύτερες ανάγκες να παρατηρούνται σε περιόδους ταχείας ανάπτυξης στην παιδική και εφηβική ηλικία, κύησης και θηλασμού και στους ηλικιωμένους [28]. Με βάση τις οδηγίες του Food and Nutrition Board of the Institute of Medicine-National Academy of Sciences [29], το National Osteoporosis Foundation και το National Institutes of Health (NIH) [28], η πρόσληψη ασβεστίου στην ενήλικη ζωή πρέπει να κυμαίνεται στα 1.000-1.300 mg/μέρα. **(Πίνακας 2)**

Το 99% του συνολικού ασβεστίου στο ανθρώπινο σώμα περιέχεται στα οστά. Γι'αυτό και απορρόφηση ή απομάκρυνση ασβεστίου από τα οστά επηρεάζει σημαντικά τη συγκέντρωση ασβεστίου του αίματος.

Η συγκέντρωση του ιονισμένου ασβεστίου στο εξωκυττάριο υγρό πρέπει να διατηρείται σε πολύ στενά όρια λόγω του σημαντικού ρόλου που διαδραματίζει σε μεγάλο εύρος κυτταρικών λειτουργιών, ιδιαίτερα αυτών που σχετίζονται με τη νευρομυϊκή λειτουργία, την απέκκριση και τη μετάβαση σημάτων [30]. Τα επίπεδα του ελεύθερου ασβεστίου στο ενδοκυττάριο κυτταρόπλασμα είναι ~100mmol/L, ποσότητα κατά 10^4 φορές μικρότερη από αυτή της συγκέντρωσης ιονισμένου

ασβεστίου στο αίμα και στο ECF (1.1-1.3mmol/L). Η απόκλιση αυτή προάγει την ταχεία εισροή ασβεστίου μέσω των ποικίλων διαύλων ασβεστίου των μεμβρανών, οι οποίοι ενεργοποιούνται από ορμόνες, μεταβολίτες ή νευροδιαβιβαστές, τροποποιώντας ταχύτητα την κυτταρική λειτουργία. Φυσιολογικά η συνολική συγκέντρωση ασβεστίου στο αίμα είναι 8.5-10.5mg/dL, εκ του οποίου το 50% περίπου είναι ιονισμένο. Η υπόλοιπη ποσότητα είναι προσδεσμένη με αρνητικά φορτισμένες πρωτεΐνες, κυρίως αλβουμίνη και ανοσοσφαιρίνες, ή ανιόντα όπως φωσφορικό, κιτρικό ή θειικό οξύ. Μεταβολές των συγκεντρώσεων των πρωτεϊνών του ορού επηρεάζουν άμεσα τη συνολική συγκέντρωση ασβεστίου στο αίμα, ακόμα και αν η συγκέντρωση του ιονισμένου ασβεστίου παραμένει σε φυσιολογικά επίπεδα [30].

Πίνακας 2: Ιδανικές συγκεντρώσεις ασβεστίου (όπως προτάθηκαν από το NIH)	
Ηλικιακή Ομάδα	Πρόσληψη ασβεστίου (mg)
Νεογνά	
Γέννηση-6 μηνών	400
6-12 μηνών	600
Παιδιά	
1-5 ετών	800
6-10 ετών	800-1200
Έφηβοι/Νεαροί ενήλικες	
11-24 ετών	1200-1500
Άνδρες	
25-65 ετών	1000
>65 ετών	1500
Γυναίκες	
25-50	1000
>50 ετών (μετεμμηνοπαυσιακές)	
Οιστρογονική υποκατάσταση	1000
Άνευ οιστρογονικής υποκατάστασης	1500
>65 ετών	1500
Εγκυμοσύνη ή θηλασμός	1200-1500

Ο έλεγχος της συγκέντρωσης του ιονισμένου ασβεστίου στο εξωκυττάριο υγρό επιτυγχάνεται μέσω της προσαρμογής του ρυθμού μετακίνησης του ασβεστίου διαμέσου του γαστρικού και νεφρικού επιθηλίου. Οι προσαρμογές αυτές πραγματοποιούνται κυρίως μέσω μεταβολών στα επίπεδα της παραθορμόνης και της 1,25 (OH)₂ βιταμίνης D. Η παρουσία ιονισμένου ασβεστίου στο αίμα ελαττώνει την έκκριση της PTH μέσω της ενεργοποίησης των ευαίσθητων στο ασβέστιο παραθυροειδικών υποδοχέων. Παράλληλα το ιονισμένο ασβέστιο επηρεάζει την έκκριση PTH και μέσω επιδράσεων στην παραγωγή της 1,25 (OH)₂ βιταμίνης D. Η βιταμίνη D αναστέλλει την παραγωγή PTH μέσω μηχανισμού αρνητικής ανατροφοδότησης [31].

Η συνήθης διαιτητική πρόσληψη ασβεστίου κυμαίνεται από 400-1500mg/dL. Η απορρόφηση του προσλαμβανόμενου ασβεστίου στο έντερο πραγματοποιείται τόσο με ενεργούς όσο και με παθητικούς μηχανισμούς. Η παθητική απορρόφηση ασβεστίου είναι μη κορέσιμη και αφορά το 5% περίπου του ημερήσια προσλαμβανόμενου ασβεστίου, ενώ ο ενεργός μηχανισμός, ο οποίος ελέγχεται κυρίως από την 1,25 (OH)₂ βιταμίνη D, αφορά το 20-70% του προσλαμβανόμενου ασβεστίου. Η ενεργός μεταφορά του ασβεστίου πραγματοποιείται κυρίως στο εγγύς τμήμα του λεπτού εντέρου (δωδεκαδάκτυλο και εγγύς νήστιδα), αν και κάποιο ποσοστό ενεργού απορρόφησης ασβεστίου παρατηρείται στα περισσότερα τμήματα του λεπτού εντέρου. Για την επίτευξη ιδανικού ρυθμού απορρόφησης απαιτείται η παρουσία γαστρικού υγρού. Τα άτομα που πάσχουν από αχλωρυδρία ή λαμβάνουν φάρμακα που αναστέλλουν την έκκριση γαστρικού υγρού, θα πρέπει να λαμβάνουν συμπληρώματα ασβεστίου μαζί με τα γεύματα προκειμένου να επιτευχθεί μέγιστη απορρόφηση. Η απορρόφηση ασβεστίου επηρεάζεται επίσης σε περιπτώσεις παγκρεατικής ή χολικής ανεπάρκειας, όπου το προσλαμβανόμενο ασβέστιο παραμένει συνδεδεμένο με τα μη απορροφούμενα λιπαρά οξέα. Κατά την πρόσληψη μεγάλων ποσοτήτων ασβεστίου, ελαττώνεται η σύνθεση 1,25 (OH)₂ βιταμίνη D, γεγονός που οδηγεί σε ελάττωση του ρυθμού ενεργής εντερικής απορρόφησης του ασβεστίου [30, 32].

Ο ορμονικός έλεγχος της γαστρικής απορρόφησης ασβεστίου έχει σαν αποτέλεσμα τη σχετικά σταθερή καθαρή ημερήσια απορρόφηση ασβεστίου, η οποία κυμαίνεται στα 200-400 mg/dL, παρά τις διακυμάνσεις της ημερήσιας διατροφικής πρόσληψης ασβεστίου. Η ημερήσια αυτή ποσότητα του απορροφούμενου ασβεστίου

απεκκρίνεται από τους νεφρούς με μηχανισμό που ρυθμίζεται εξίσου αυστηρά από τη συγκέντρωση του ιονισμένου ασβεστίου στο αίμα. Περίπου το 60% του ασβεστίου του πλάσματος διηθείται στα νεφρικά σπειράματα και στη συνέχεια επαναρροφάται στο εγγύς εσπειραμένο σωληνάριο (65%), παχύ ανιόν σκέλος της αγκύλης του Henle (20%) και άπω εσπειραμένο σωληνάριο (10%). Μόνο 2-3% εμφανίζεται στα ούρα. Όλα τα στάδια ρύθμισης του ασβεστίου από τους νεφρούς επιτυγχάνονται, άμεσα ή έμμεσα, μέσω της PTH. Τα άπω εσπειραμένα σωληνάρια αποτελούν σημείο δράσης των διουρητικών που περιέχουν θειαζίδη, η οποία οδηγεί στην ελάττωση της απέκκρισης ασβεστίου στα ούρα. Αντίθετα, η διαιτητική πρόσληψη μεγάλων ποσοτήτων νατρίου, ή η αυξημένη στο άπω σωληνάριο παροχή νατρίου μετά από λήψη διουρητικών της αγκύλης ή έγχυση φυσιολογικού ορού, ελαττώνουν την επαναρρόφηση ασβεστίου στο άπω εσπειραμένο σωληνάριο μέσω μηχανισμού αντίστροφου αυτού των θειαζιδών [30].

Βιταμίνη D

Η βιταμίνη D είναι μία λιποδιαλυτή βιταμίνη που παίζει σημαντικό ρόλο στην εντερική απορρόφηση του ασβεστίου, φωσφόρου και μαγνησίου. Οι κυριότερες μορφές της βιταμίνης D είναι η βιταμίνη D3 (χοληκαλσιφερόλη) και η βιταμίνη D2 (εργοκαλσιφερόλη) [33] που παράγεται κυρίως ενδογενώς μέσω αλληλεπίδρασης του δέρματος με την ηλιακή ακτινοβολία. **(Εικόνα 9)** Η έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία B παράγει συνολικά το 80-90% της βιταμίνης D του οργανισμού. Παράγοντες που επηρεάζουν την παραγωγή της βιταμίνης D περιλαμβάνουν τον τόπο, εποχή και ώρα έκθεσης του σώματος στον ήλιο, την ηλικία, τη χρήση αντηλιακών προϊόντων και την περιεκτικότητα του δέρματος σε μελανίνη [34]. Το υπόλοιπο 10% της βιταμίνης D προέρχεται από τη διατροφή (γαλακτομικά, λαχανικά, ιχθυέλαια).

Η βιταμίνη D και οι μεταβολίτες της μεταφέρονται στην κυκλοφορία με την πρωτεΐνη σύνδεσης της βιταμίνης D [vitamin D binding protein; VDBP]. Για να είναι βιολογικά ενεργός η βιταμίνη D πρέπει υποστεί δύο υδροξυλιώσεις (ενεργός μορφή της βιταμίνης). Η πρώτη υδροξυλίωση πραγματοποιείται στο ήπαρ, μέσω μίας ή περισσότερων υδροξυλασών. Συγκεκριμένα, η ηπατική υδροξυλίωση της βιταμίνης D πραγματοποιείται στο C-25 άκρο της. Αποτέλεσμα αυτής της διαδικασίας είναι ο σχηματισμός της 25-OH βιταμίνης D3 (καλσιδιόλη). Η δεύτερη υδροξυλίωση

λαμβάνει χώρα στους νεφρούς, οδηγώντας στην παραγωγή της βιολογικά ενεργού μορφή της βιταμίνης D, την 1,25-διυδροξυ βιταμίνη D [1,25(OH)₂D], γνωστή και ως καλσιτριόλη [30].

Η καλσιτριόλη ασκεί τις φυσιολογικές της δράσεις συνδεόμενη στον υποδοχέα της βιταμίνης D (VDR), ο οποίος εντοπίζεται στον πυρήνα των κυττάρων στόχων [35]. Με τη σύνδεση αυτή ο υποδοχέας VDR ενεργοποιείται και δρα ως μεταγραφικός παράγοντας για τη γονιδιακή έκφραση πρωτεϊνών μεταφοράς (π.χ. TRPV6 και καλβινδίνη), που εμπλέκονται στην εντερική απορρόφηση ασβεστίου [36]. Ο υποδοχέας της βιταμίνης D ανήκει στην υπερικογένεια των πυρηνικών υποδοχέων των στεροειδών/υθρεοειδικών ορμονών. Εκφράζεται στα κύτταρα των περισσότερων οργάνων, συμπεριλαμβανομένων του εγκεφάλου, της καρδιάς, του δέρματος, των γονάδων κτλ. Ενεργοποίηση του υποδοχέα VDR στο έντερο, τα οστά, τους νεφρούς και τους παραθυρεοειδείς αδένες οδηγεί στη διατήρηση των επιπέδων ασβεστίου και φωσφόρου στο αίμα και τα οστά (σε συνδυασμό με τις δράσεις της παραθορμόνης και της καλσιτονίνης) [37].

Η βιταμίνη D προάγει την απορρόφηση ασβεστίου στο έντερο και ελέγχει τις συγκεντρώσεις ασβεστίου και φωσφόρου στον οργανισμό προκειμένου να επιτευχθεί φυσιολογική οστεοποίηση των οστών και να αποφευχθεί πιθανή υπασβεστιαϊμία. Είναι επίσης απαραίτητη για την ανάπτυξη των οστών και την οστική αναδόμηση μέσω της ρύθμισης της λειτουργίας των οστεοβλαστών και οστεοκλαστών [38]. Συγκεκριμένα η βιταμίνη D ρυθμίζει την έκφραση πολλών γονιδίων στους οστεοβλάστες. Τα γονίδια στόχοι περιλαμβάνουν τις πρωτεΐνες της θεμέλιας ουσίας των οστών, την οστεοκαλσίνη και την οστεοποντίνη (η έκφραση των οποίων αυξάνεται παρουσία της 1,25(OH)₂D) καθώς και το κολλαγόνο τύπου I (αναστολή μεταγραφής παρουσία βιταμίνης 1,25(OH)₂D). Τόσο η 1,25(OH)₂D όσο και η παραθορμόνη οδηγούν σε έκφραση του RANKL, ο οποίος με τη σειρά του προάγει τον πολλαπλασιασμό και ενεργοποίηση των οστεοκλαστών.

Η βιταμίνη D δε συμβάλει μόνο στην υγεία των οστών αλλά συμμετέχει επίσης στη ρύθμιση του κυτταρικού πολλαπλασιασμού και ανάπτυξης, σε νευρομυϊκές και ανοσολογικές λειτουργίες, καθώς και μείωση των φλεγμονοδών διεργασιών [39, 40].

Τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει πολλές μελέτες για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων της 25(OH)D στον ορό που απαιτούνται για τη φυσιολογική λειτουργία του οργανισμού συνολικά και των οστών συγκεκριμένα. Οι οδηγίες της επιτροπής του Institute of Medicine [29] ορίζουν ως έλλειψη επίπεδα βιταμίνης D στον ορό <30 nmol/L (<12 ng/mL). Κάποιοι πληθυσμοί θεωρούνται σε κίνδυνο με επίπεδα 30–50 nmol/L (12–20 ng/mL). Επίπεδα ≥50 nmol/L (≥20 ng/mL) θεωρούνται φυσιολογικά και καλύπτουν τις ημερήσιες ανάγκες σε βιταμίνη D στο 97.5% του πληθυσμού. Συγκεντρώσεις >125 nmol/L (>50 ng/mL) στον ορό σχετίζονται με πιθανές παρενέργειες (**Πίνακας 3**).

Σε περιπτώσεις ανεπάρκειας της βιταμίνης D, τα οστά τείνουν να γίνονται λεπτά, εύθραυστα ή παραμορφωμένα. Έλλειψη της βιταμίνης D εμφανίζεται ως ραχίτιδα στα παιδιά και ως οστεομαλακία στους ενήλικες.

Παραθορμόνη

Ένας άλλος σημαντικός παράγοντας ρύθμισης της συγκέντρωσης ασβεστίου στο αίμα είναι η παραθορμόνη. Η παραθορμόνη (Parathyroid hormone; PTH) είναι ένα πολυπεπτίδιο 84 αμινοξέων μονής αλυσού. Το τμήμα των αμινοξέων [1-34]

διατηρείται σταθερό και είναι εξαιρετικά σημαντικό για τις βιολογικές δράσεις του μορίου. Η PTH παράγεται από τα κύρια κύτταρα των παραθυρεοειδών αδένων ως απάντηση στην υπασβεστιαίμια, και πιθανώς σε μικρότερες ποσότητες από τον εγκέφαλο και το θύμο [41]. **(Εικόνα 10)**

Πίνακας 3. Συγκεντρώσεις 25-Υδροξυβιταμίνης D στον ορό [25(OH)D] και επιδράσεις στην υγεία [29]		
Nmol/L	ng/ml	Κλινική εικόνα
<30	<12	Έλλειψη βιταμίνης D. Σχετίζεται με αχίτιδα στα παιδιά και οστεομαλακία στους ενηλίκους.
30 με <50	12 με <20	Τα επίπεδα αυτά θεωρούνται γενικά ανεπαρκή για τη γενική υγεία και την υγεία των οστών.
≥50	≥20	Επαρκή επίπεδα βιταμίνης D σε υγιή άτομα.
>125	>50	Πιθανές παρενέργειες, ειδικά σε επίπεδα >150nmol/L (>60ng/ml)

Η παραθορμόνη συντίθεται αρχικά ως ένα μεγάλο μόριο 115 αμινοξέων (προ-παραθορμόνη), το οποίο μειώνεται σε μέγεθος με μία δεύτερη αποκοπή (προπαραθορμόνη-90 αμινοξέα) πριν την τελική έκκριση του πεπτιδίου των 84 αμινοξέων [30].

Το ιονισμένο κλάσμα του ασβεστίου του αίματος είναι ο σημαντικότερος παράγοντας έκκρισης της ορμόνης. Μείωση των επιπέδων ασβεστίου διεγείρει τη δράση των παραθυρεοειδών αδένων (παραγωγή και έκκριση) και οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων PTH. Η δράση αυτή γίνεται μέσω πρόσδεσης του ασβεστίου με έναν υποδοχέα (αισθητήρα ασβεστίου) που συνδέεται με την πρωτεΐνη G (GPCR). Ο υποδοχέας αυτός εντοπίζεται στους παραθυρεοειδείς αδένες, στο θυρεοειδή (κύτταρα C) και

σε άλλα όργανα όπως οι νεφροί, το δέρμα και ο εγκέφαλος. Στους παραθυρεοειδείς, αυξημένες συγκεντρώσεις εξωκυττάριου ασβεστίου οδηγούν σε ενεργοποίηση του

μονοπατιού Gq G-protein, μέσω της δράσης της φωσφολιπάσης C, με αποτέλεσμα την υδρόλυση της 4,5 διφωσφορική φωσφατιδυλινοσιτόλη (PIP2) προς απελευθέρωση των ενδοκυττάρων αγγελιοφόρων IP3 και διακυλογλυκερόλης (DAG). Αυτά τα δύο μόρια με τη σειρά τους οδηγούν σε απελευθέρωση ασβεστίου από τις ενδοκυττάρειες αποθήκες στο κυτταροπλασματικό δίκτυο. Γι' αυτό και σε περιπτώσεις αυξημένων επιπέδων ασβεστίου στο αίμα επέρχεται αναστολή της παραγωγής και έκκρισης παραθορμόνης [42, 43].

Η PTH ρυθμίζει τα επίπεδα ασβεστίου στο αίμα μέσω των δράσεών της στα οστά, τους νεφρούς και το έντερο. Συνοπτικά οι δράσεις της παραθορμόνης είναι:

- Αύξηση των επιπέδων ασβεστίου στον ορό αίματος
- Αναστολή απορρόφησης ασβεστίου από τα οστά
- Επαγωγή απορρόφησης ασβεστίου από το έντερο
- Αύξηση επαναρρόφησης ασβεστίου από τους νεφρούς
- Αύξηση αποβολής φωσφόρου από τους νεφρούς

Πιο αναλυτικά, στα οστά η PTH αυξάνει την απελευθέρωση ασβεστίου από τις σκελετικές αποθήκες, μέσω ενεργοποίησης της οστικής απορρόφησης [44]. Η ενεργοποίηση της διαδικασίας οστικής απορρόφησης είναι έμμεση καθώς οι οστεοκλάστες δε διαθέτουν υποδοχέα για την παραθορμόνη. Αντίθετα, η PTH συνδέεται στους οστεοβλάστες ωθώντας τους να αυξήσουν την έκφραση RANKL και να αναστείλουν την έκκριση οστεοπροτεγερίνης (Osteoprotegerin; OPG). Εν συντομία η ελεύθερη OPG συνδέεται ανταγωνιστικά με τον RANKL, εμποδίζοντας έτσι τη σύνδεση του RANKL με το RANK. Σύνδεση του RANKL με το RANK οδηγεί τις πρόδρομες μορφές των οστεοκλαστών να συγχωνευτούν, σχηματίζοντας νέους οστεοκλάστες οι οποίοι θα προχωρήσουν στη διαδικασία οστικής απορρόφησης.

Στους νεφρούς, διηθούνται περίπου 250mmol ασβεστίου ανά 24ωρο. Το μεγαλύτερο ποσοστό της ποσότητας αυτής επαναρροφάται, με μόνο 5 mmol/ημέρα να εκκρίνονται τελικά στα ούρα. Η επαναρρόφηση πραγματοποιείται σε όλο το μήκος του ουροφόρου σωληναρίου, με εξαίρεση το λεπτό σκέλος της αγκύλης του Henle. Η παραθορμόνη επιδρά στη διαδικασία επαναρρόφησης μόνο στην περιοχή των άπω εσπειραμένων σωληναρίων και τα αθροιστικά σωληνάκια. Μία άλλη δράση της PTH είναι η αναστολή της επαναρρόφησης φωσφόρου (HPO_4^{2-}) από το σπειραματικό

διήθημα, με αποτέλεσμα τη μείωση της συγκέντρωσης φωσφόρου στο πλάσμα. Ο φωσφόρος σχηματίζει αδιάλυτα άλατα με το ασβέστιο. Επομένως, μείωση στη συγκέντρωση του φωσφόρου του πλάσματος αυξάνει την ποσότητα ιονισμένου ασβεστίου. Τέλος, η παραθορμόνη διεγείρει τη μετατροπή της 25-υδροξυ βιταμίνης D στην ενεργό μορφή της, την 1,25-διυδροξυ βιταμίνης D, που αυξάνει την απορρόφηση ασβεστίου από το έντερο [45].

Καλσιτονίνη

Η καλσιτονίνη είναι μία πολυπεπτιδική ορμόνη μονής αλυσού (32-αμινοξέα) με μία 1-7 δισουλφιδική γέφυρα στο αμινοτελικό άκρο της και μία προλίνη στο καρβοξυτελικό άκρο της. **(Εικόνα 11)** Η καλσιτονίνη εκκρίνεται από τα παραθυλακιώδη κύτταρα (C κύτταρα) του θυρεοειδούς. Εμπλέκεται στη ρύθμιση των επιπέδων του ασβεστίου και του φωσφόρου στο αίμα. Η δράση της αντιτίθεται ουσιαστικά αυτή της παραθορμόνης. Συγκεκριμένα παράγεται ως απάντηση σε αυξημένες συγκεντρώσεις ασβεστίου και οδηγεί σε μείωση της συγκέντρωσης ασβεστίου του πλάσματος μέσω της δράσης της στα οστά και τους νεφρούς [46].

Η υπασβεσταιμική δράση της καλσιτονίνης οφείλεται κυρίως στην αναστολή της ανάπτυξης και δράσης των οστεοκλαστών στα οστά. Η αναστολή της οστεοκλαστικής δραστηριότητας είναι ένα παροδικό φαινόμενο και πραγματοποιείται μέσω ειδικών υποδοχέων καλσιτονίνης στην επιφάνεια των οστεοκλαστών. Στους νεφρούς, οδηγεί σε μείωση της σωληναριακής επαναρρόφησης ασβεστίου και φωσφόρου, με αποτέλεσμα την απέκκριση ασβεστίου στα ούρα [47].

Η συντονισμένη έκκριση και δράση καλσιτονίνης και PTH παρέχουν ένα διπλό μηχανισμό αρνητικής ανατροφοδότησης για να διατηρήσουν το ασβέστιο σε συγκεκριμένα όρια. Η PTH είναι ο κύριος παράγοντας συνεχούς, λεπτού προς λεπτό ρύθμισης του ασβεστίου. Αντίθετα, η συμβολή της καλσιτονίνης στη ρύθμιση της ομοιοστασίας ασβεστίου και φωσφόρου δεν είναι τόσο καθοριστική όπως αυτή της PTH ή της βιταμίνης D. Ουσιαστικά η καλσιτονίνη δρα σαν «επείγουσα» ορμόνη για να αποτρέψει την εμφάνιση υπερασβεστιαϊκής κατά τη διάρκεια της ταχείας μεταγευματικής απορρόφησης ασβεστίου και να προστατέψει από υπερβολική απώλεια ασβεστίου και φωσφόρου από το μητρικό σκελετό κατά τη διάρκεια της κύησης. Η ορμονική ρύθμιση των επιπέδων ασβεστίου δίνεται συγκεντρωτικά στην Εικόνα 12 και τον πίνακα 4.

Πίνακας 4. Ορμονική ρύθμιση ομοιοστασίας ασβεστίου

PTH

Παραγωγή Κύρια κύτταρα των παραθυρεοειδών

Λειτουργία ↑ απορρόφησης ασβεστίου και φωσφόρου από τα οστά
↑ επαναρρόφησης ασβεστίου στο άπω εσπειραμένο σωληνάριο
↓ επαναρρόφησης φωσφόρου στο εγγύς εσπειραμένο σωληνάριο
↑ παραγωγή 1,25(OH)₂D₃ μέσω ενεργοποίησης της 1α-υδροξυλάσης
PTH: ↑ □ Ca²⁺ ορού, ↓ PO₄³⁻ ορού, ↑ urine PO₄³⁻
↑ παραγωγή M-CSF και RANKL στις οστεοβλάστες
-> ενεργοποίηση οστεοκλαστών

Ρύθμιση ↓ Ca²⁺ ορού -> ↑ PTH secretion.
↓ Mg²⁺ ορού -> ↑ PTH secretion.

Βιταμίνη D

Παραγωγή D₃ από την έκθεση του δέρματος στον ήλιο. D₂ από την κατανάλωση λαχανικών. Μετατροπή σε 25-OH στο ήπαρ και σε 1,25 (OH)₂ βιταμίνη D (ενεργός μορφή) στους νεφρούς

Λειτουργία ↑ □ απορρόφησης Ca²⁺ και PO₄³⁻ από τις τροφές
↑ απορρόφησης ασβεστίου και φωσφόρου από τα οστά

Ρύθμιση ↑ PTH, ↓ Ca²⁺ ορού, ↓ PO₄³⁻ ορού -> ↑ □ 1,25 (OH)₂ βιταμίνη D
Τα επίπεδα 1,25 (OH)₂ βιτ D ρυθμίζουν την ίδια την παραγωγή της

Καλσιτονίνη

Παραγωγή Παραθυλακιώδη κύτταρα (C κύτταρα) του θυρεοειδούς

Λειτουργία ↓ απορρόφησης ασβεστίου από τα οστά
Η καλσιτονίνη αντιτίθεται στη δράση της PTH.

Ρύθμιση ↑ □ Ca²⁺ στον ορό -> ↑ □ καλσιτονίνη

1.3 Σχηματισμός και ανάπτυξη των οστών

Τα οστά διαπλάσσονται με δύο τρόπους: την υμενογενή και την ενδοχόνδρια οστεογένεση. Κατά την υμενογενή οστεογένεση ο οστίτης ιστός σχηματίζεται μέσω διαφοροποίησης μεσεγχυματικών κυττάρων σε οστεοβλάστες. Αντίθετα, στην ενδοχόνδρια οστεογένεση απαιτείται η παρουσία ενός χόνδρινου προτύπου το οποίο σταδιακά θα αντικατασταθεί από οστίτη ιστό.

1.3.1 Υμενογενής οστεογένεση

Υμενογενής οστεογένεση συναντάται κατά το σχηματισμό των πλατέων οστών του κρανίου, και τμημάτων της γνάθου και της κλείδας. Η διαδικασία αυτή ξεκινά ενδομητρίως κατά τη διάρκεια της εμβρυογένεσης και συνεχίζεται μέχρι την εφηβεία. Το κρανίο και οι κλείδες των νεογνών δεν είναι πλήρως οστεοποιημένες επιτρέποντας το ευκολότερο πέρασμά τους από το γεννητικό σωλήνα. Τα τελευταία οστά που οστεοποιούνται είναι τα πλατέα οστά του προσωπικού κρανίου.

Κατά τη διαδικασία της υμενογενούς οστεογένεσης ο υμενώδης σκελετός αντικαθίσταται κατευθείαν από οστίτη ιστό. Εν συντομία, παρατηρούνται τέσσερα βήματα [6]. **(Εικόνα 13)**

- Τα μεσεγχυματικά κύτταρα συγκεντρώνονται σε σύμπλεγμα κυττάρων, σχηματίζοντας τον πρωτογενή πυρήνα οστέωσης.
- Η εκκριθείσα θεμέλια ουσία ασβεστοποιείται και παγιδεύει τις οστεοβλάστες, μετατρέποντάς τις σε οστεοκύτταρα
- Δημιουργία σπογγώδους δικτύου και περιοστέου.
- Σχηματισμός συμπαγούς οστού στην επιφάνεια του σπογγώδους οστού, και μυελού των οστών μεταξύ των οστικών δοκίδων.

Αναλυτικά, η υμενογενής οστεογένεση ξεκινά όταν μεσεγχυματικά κύτταρα στον εμβρυϊκό σκελετό συγκεντρώνονται μαζί και αρχίζουν να διαφοροποιούνται σε ειδικούς κυτταρικούς πληθυσμούς. Κάποια από τα MSCs θα σχηματίζουν τριχοειδή, ενώ τα υπόλοιπα μετατρέπονται σε οστεοβλάστες [6]. Οι νέες οστεοβλάστες υπόκεινται διαδικασία ωρίμανσης και ακολούθως εκκρίνουν θεμέλια οστική ουσία. Στη συνέχεια η θεμέλια ουσία ασβεστοποιείται και εποικίζεται από κύτταρα του οστίτη ιστού. Οι οστεοβλάστες που παγιδεύονται μέσα στη θεμέλια ουσία καθίστανται οστεοκύτταρα. Οι κολλαγόνες ίνες του νεοαναπτυσσόμενου οστίτη ιστού είναι οργανωμένες με τυχαία διάταξη. Η εν λόγω περιοχή αρχικής οστεογένεσης είναι γνωστή ως πρωτογενής πυρήνας οστέωσης [48].

Σταδιακά δημιουργείται ένα σπογγώδες δίκτυο δοκίδων. Προσθήκη νεοσχηματιζόμενων δοκίδων στην περιφέρεια οδηγεί σε αύξηση των διαστάσεων του οστού [8]. Οστεοβλάστες και μεσεγχυματικά κύτταρα που εντοπίζονται σε μη αποπιανωμένες επιφανειακές στιβάδες του σπογγώδους οστού θα σχηματίσουν το

περιόστεο και ενδόστεο. Ο αγγειοβριθής συνδετικός ιστός που παγιδεύεται μέσα στις οστικές δοκίδες μετατρέπεται σε μυελό των οστών [48].

Η ρύθμιση της υμενογενούς οστεογένεσης ελέγχεται από το κανονικό μονοπάτι Wnt/ β -κατενίνης και το σηματοδοτικό μονοπάτι του Hedgehog. Η β -

κατενίνη εισέρχεται στα μεσεγχυματικά κύτταρα και επάγει το σχηματισμό οστεοβλαστών. Σημαντικό ρόλο στη διαδικασία παίζουν επίσης οι μεταγραφικοί παράγοντες RUNX2 και Osterix (OSX). Τέλος η σκληροστίνη, εκφράζεται στα ώριμα οστεοκύτταρα μέσω ενεργοποίησης του γονιδίου SOST, και μειώνει την οστική μάζα αναστέλοντας το σύστημα Wnt/ β -κατενίνης [49].

1.3.2 Ενδοχόνδρια οστεογένεση

Η πλειονότητα των μακρών και βραχέων οστών του σκελετού αναπτύσσονται με ενδοχόνδρια οστεογένεση. Κατά την ενδοχόνδρια οστεογένεση σχηματίζεται ένα πρόπλασμα χόνδρινου ιστού ο οποίος θα αντικατασταθεί στη συνέχεια από οστίτη ιστό. Ακολουθούν αναλυτικά τα στάδια της διαδικασίας [48]. **(Εικόνα 14)**

Η ενδοχόνδρια όπως και η υμενογενής οστεοποίηση ξεκινά με συγκέντρωση των μεσεγχυματικών κυττάρων (mesenchymal condensation). Κατά την 6^η-8^η

εβδομάδα της κύησης, τα μεσεγχυματικά κύτταρα στην περιοχή όπου πρόκειται να αναπτυχθεί το οστό, διαφοροποιούνται σε χονδροκύτταρα. Τα χονδροκύτταρα αυτά αρχίζουν να παράγουν χόνδρινη θεμέλια ουσία που περιλαμβάνει στοιχεία όπως το κολλαγόνο τύπου 2 (Col2a1; collagen type II α1 chain) και η αγκρεκάνη (aggrecan) και τελικά σχηματίζουν ένα χόνδρινο πρόπλασμα του προς ανάπτυξη οστού. Ένας πληθυσμός χονδροκυττάρων στη μεσότητα της διάφυσης υπερτρέφονται και στη συνέχεια αποτιτανώνονται [49].

Καθώς η περιοχή της χόνδρινης θεμέλιας ουσίας αυξάνεται σε πάχος και σταδιακά αποτιτανώνεται, θρεπτικά συστατικά δε διαχέονται εξίσου αποτελεσματικά προς τα εν τω βάθει υπερτροφικά χονδροκύτταρα, οδηγώντας έτσι στην απόπτωσή τους. Η διαδικασία αυτή δημιουργεί ευμεγέθεις κοιλότητες οι οποίες θα σχηματίσουν αργότερα τον ενδομυελικό αυλό. Ταυτόχρονα αιμοφόρα αγγεία εισχωρούν στο χόνδρινο αυτό σχηματισμό, μεταφέροντας στην περιοχή οστεοπρογονικά κύτταρα. Το υπερκείμενο περιχόνδριο μετατρέπεται σε περίοστεο [8].

Στη συνέχεια οστεοβλάστες στην περιοχή αρχίζουν να παράγουν θεμέλια ουσία, οδηγώντας στο σχηματισμό υποπεριοστικού οστέινου δακτυλίου, αποτελούμενου από πρωτογενή οστίτη ιστό. Κατά το 2^ο-3^ο μήνα της εμβρυϊκής ζωής, η ανάπτυξη και διαφοροποίηση των οστικών κυττάρων έχει προχωρήσει και η οστεογένεση αρχίζει να επεκτείνεται σχηματίζοντας τον πρωτογενή πυρήνα οστεώσεως [6]. Σταδιακά ο υποπεριοστικός οστέινος δακτύλιος παχύνεται και αρχίζει να επεκτείνεται προς τις επιφύσεις, μέχρι τελικά να αντικαταστήσει όλο το χόνδρινο ιστό της διάφυσης με οστό [8].

Καθώς πραγματοποιούνται αυτές οι αλλαγές και οστεοβλάστες αντικαθιστούν το χόνδρο με οστίτη ιστό στη διάφυση, τα χονδροκύτταρα συνεχίζουν να παράγουν υαλοειδή χόνδρο στα άκρα του οστού (επιφύσεις), αυξάνοντας έτσι την κατά μήκος διάσταση των οστών. Στο τέλος της εμβρυϊκής ζωής χόνδρος παραμένει μόνο στις αρθρικές επιφάνειες και τις επιφύσεις, που είναι επιφορτισμένες με την ανάπτυξη των οστών μέχρι τα 18-20 έτη. Μετά τη γέννηση, η ίδια αλληλουχία γεγονότων συμπεριλαμβανομένων της αποτίανωσης της χόνδρινης θεμέλιας ουσίας, απόπτωσης των χονδροκυττάρων, διείσδυσης των αιμοφόρων αγγείων από το περίοστεο και οστεοπρογονικών κυττάρων που θα μετατραπούν σε οστεοβλάστες, συμβαίνουν και στις επιφύσεις. Τα κέντρα αυτά ονομάζονται δευτερογενή κέντρα οστεώσεως [6].

Οι πρωτογενείς πυρήνες οστέωσης στα μακρά οστά αναπτύσσονται κατά τη διάρκεια της προγεννητικής περιόδου. Αντίθετα οι δευτερογενείς πυρήνες οστέωσης εμφανίζονται μετά τη γέννηση στην περιοχή της επίφυσης, σε διαφορετικά χρονικά διαστήματα ανάλογα με το είδος και εντόπιση του οστού [48].

Να σημειωθεί εδώ ότι η προέλευση των οστεοβλαστών είναι αμφιλεγόμενο θέμα. Γενικά έχουν προταθεί δύο βασικές θεωρίες. Η πρώτη υποστηρίζει ότι τα υπερτροφικά χονδροκύτταρα στο εσωτερικό της διάφυσης υπόκεινται διαδικασία απόπτωσης και αντικαθίστανται από οστεοπρογονικά κύτταρα που εισέρχονται στην περιοχή μέσω της αγγείωσης. Τα νέα αυτά οστεοπρογονικά κύτταρα θα διαφοροποιηθούν σε οστεοβλάστες οδηγώντας σε παραγωγή του νέου οστίτη ιστού. Εναλλακτικά έχει προταθεί ότι κάποια από τα υπερτροφικά χονδροκύτταρα δεν αποθνήσκουν, αλλά αντίθετα διαφοροποιούνται σε οστεοβλάστες. Η πρώτη θεωρία της απόπτωσης των χονδροκυττάρων παραμένει ευρέως διαδεδομένη και θεωρούνταν δόγμα τα τελευταία 200 περίπου χρόνια [50]. Ωστόσο πρόσφατες

μελέτες με χρήση μεθόδων genetic lineage tracing υποστηρίζουν ότι το κύριο μονοπάτι ενδοχόνδριας οστεογένεσης κατά την ανάπτυξη, και οστική αναδόμηση είναι αυτό της διαφοροποίησης των υπερτροφικών χονδροκυττάρων [51].

1.3.3 Ρύθμιση δράσης χονδροκυττάρων στην ενδοχόνδρια οστεογένεση

Τα χονδροκύτταρα στο συζευκτικό χόνδρο δέχονται επιδράσεις από πληθώρα τοπικών και συστηματικών εξωκυττάρων παραγόντων, και συστατικών της χόνδρινης θεμέλιας ουσίας. Πολλοί μεταγραφικοί παράγοντες και σηματοδοτικά μονοπάτια έχουν αναγνωριστεί για τον καθοριστικό ρόλο τους στη διαδικασία ενδοχόνδριας οστεογένεσης [52]. **(Εικόνα 15)**

Η ενδοχόνδρια οστεοποίηση ξεκινά με συγκέντρωση των μεσεγχυματικών κυττάρων στην περιοχή όπου πρόκειται να σχηματισθεί το νέο οστό. Παρά το γεγονός ότι οι ακριβείς μοριακοί μηχανισμοί είναι ακόμα άγνωστοι, μελέτες σε διαγονιδιακά ζώα έχουν καταστήσει σαφές ότι οι οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες (BMP; bone morphogenetic protein) παίζουν καθοριστικό ρόλο στη διαδικασία συγκέντρωσης των μεσεγχυματικών κυττάρων [53]. Ο αυξητικός παράγοντας των ινοβλαστών (FGF; fibroblast growth factor) είναι επίσης απαραίτητος. Διαγραφή του υποδοχέα του FGF 2 χρησιμοποιώντας Dermo1-Cre ή Prx1-Cre οδήγησε σε αναστολή της χονδρογένεσης [54, 55].

Ένας μεταγραφικός παράγοντας που έχει αποδεδειγμένα σημαντικό ρόλο στη διαδικασία διαφοροποίησης των μεσεγχυματικών κυττάρων σε χονδροκύτταρα είναι ο παράγοντας SRY (Sex Determining Region Y)-Box9 (Sox9) [22, 50]. Γενετικές μελέτες σε επίμυες έχουν δείξει ότι ο Sox9 είναι απαραίτητος για το σχηματισμό στοιχείων του κεντρικού και περιφερικού σκελετού. Κύτταρα χωρίς Sox9 (Sox9-null) δε συμμετείχαν στη διαδικασία συγκέντρωσης των μεσεγχυματικών κυττάρων [53]. Επιπλέον εμβρυονικά κύτταρα από Sox9(-/-) κύτταρα απέτυχαν να σχηματίσουν χόνδρινο ιστό [56]. Παρατηρήθηκε επίσης ότι η διαδικασία της εμβρυικής χονδρογένεσης είναι προβληματική σε ποντίκια Sox9(+/-), τα οποία απεβίωσαν σύντομα μετά τη γέννησή τους λόγω υπερωισχιστίας [57]. Τέλος έχει αναφερθεί ότι έλλειψη του Sox9 κατά τη διάρκεια της συγκέντρωσης των μεσεγχυματικών κυττάρων αναστέλλει την ανάπτυξη των άκρων [58]. Άλλοι παράγοντες που εμπλέκονται στη διαδικασία ενδοχόνδριας οστεογένεσης είναι μεταγραφικοί παράγοντες σχετιζόμενοι με το stress του ενδοπλασματικού δικτύου (ER;

endoplasmic reticulum). Τα χονδροκύτταρα πρέπει να παράγουν μεγάλες ποσότητες θεμέλιας ουσίας στο ενδοπλασματικό δίκτυο μέσα σε σύντομο χρονικό διάστημα, προκειμένου να σχηματίσουν το χόνδρινο πρόπλασμα. Επομένως στα αναπτυσσόμενα χονδροκύτταρα λαμβάνουν συνεχώς χώρα καταστάσεις φυσιολογικού ER stress [59].

Στην επόμενη φάση της ενδοχόνδριας οστεογένεσης τα χονδροκύτταρα σταματούν να αναπτύσσονται και μετατρέπονται σε προ-υπερτροφικά χονδροκύτταρα. Στο στάδιο αυτό εκφράζονται ειδικοί δείκτες, συμπεριλαμβανομένων των Indian Hedgehog (IHH) και του υποδοχέα της σχετιζόμενης με την παραθορμόνη πρωτεΐνης (PTHrP; PTH-related protein receptor). Στη συνέχεια τα προ-υπερτροφικά χονδροκύτταρα καθίστανται ακόμη πιο ευμεγέθη και καταλήγουν σε υπερτροφικά χονδροκύτταρα. Ο κυτταρικός όγκος των προ-υπερτροφικών χονδροκυττάρων δύναται να είναι 10- με 15-φορές μεγαλύτερος συγκριτικά με τα αναπτυσσόμενα χονδροκύτταρα. Η υπερτροφία συμβαίνει κυρίως μέσω κυτταρικού οιδήματος λόγω απορρόφησης νερού [60]. Μελέτες της υπερτροφίας των χονδροκυττάρων έδειξαν ότι η όλη διαδικασία περιλαμβάνει τρία διακριτά στάδια [61]. Το ένα εξ αυτών εξαρτάται από τον ινσουλινοειδή αυξητικό παράγοντα (IGF; insulin-like growth factor). Τα υπερτροφικά χονδροκύτταρα υπόκεινται τελική διαφοροποίηση και παράγουν μεταλοπρωτεΐνάση 13 της θεμέλιας ουσίας (MMP13;

matrix metalloproteinase 13) προκειμένου να αναδιοργανωθεί η χόνδρινη θεμέλια ουσία και να επιτραπεί η διείσδυση αγγείων και η μετέπειτα οστική παραγωγή. Κάποια από τα υπερτροφικά χονδροκύτταρα θα οδηγηθούν τελικά σε απόπτωση. Ο μηχανισμός δεν είναι απόλυτα κατανοητός, αλλά παράγοντες όπως ο Runx2, ο Mef2C (myocyte enhancer factor 2c) και ο Fox (forkhead box) έχουν προταθεί ως καθοριστικοί ρυθμιστές της διαδικασίας.

1.3.4 Κατά μήκος αύξηση του οστού

Ο συζευκτικός χόνδρος είναι υπεύθυνος για την επιμήκυνση των μακρών οστών. Ο σχηματισμός του χόνδρινου ιστού επιτελείται στην επιφυσιική όψη, ενώ η αντικατάσταση από οστίτη ιστό λαμβάνει χώρα στη διαφυσιική όψη του συζευκτικού χόνδρου. Ο συζευκτικός χόνδρος διαιρείται σε 4 διακριτές ζώνες. **(Εικόνα 16)**

I. Ζώνη του ηρεμούντος χόνδρου (Reserve zone). Η ζώνη αυτή είναι η κοντινότερη περιοχή στο επιφυσιικό άκρο του συζευκτικού χόνδρου. Περιέχει μικρά, τυχαίως διατεταγμένα χονδροκύτταρα μέσα σε θεμέλια ουσία. Ο ρόλος των κυττάρων αυτών είναι να συνδέουν το συζευκτικό χόνδρο στο οστέινο τμήμα της επίφυσης.

II. Ζώνη πολλαπλασιασμού (Proliferative zone). Αποτελεί το αμέσως επόμενο στρώμα προς την πλευρά της διάφυσης. Περιέχει ελαφρώς μεγαλύτερα χονδροκύτταρα, τα οποία πολλαπλασιάζονται ταχέως προκειμένου να σχηματίσουν σίχους ισομεγέθων κυττάρων παράλληλων προς την κατεύθυνση αύξησης του οστού.

III. Ζώνη ωρίμανσης και υπερτροφίας (zone of maturation and hypertrophy). Τα χονδροκύτταρα σε αυτή τη στιβάδα τείνουν να είναι μεγαλύτερα και πιο ώριμα σε σχέση με αυτά των προηγούμενων στιβάδων. Τα χονδροκύτταρα ωριμάζουν, υπερτρέφονται και συσσωρεύουν γλυκογόνο στο κυτταρόπλασμά τους. Τα πιο ώριμα κύτταρα βρίσκονται εγγύτερα στο διαφυσιικό άκρο του συζευκτικού χόνδρου. Η διαδικασία της κατά μήκος αύξησης είναι αποτέλεσμα κυτταρικών διαιρέσεων στη ζώνη πολλαπλασιασμού και κυτταρικής ωρίμανσης στη ζώνη ωρίμανσης και υπερτροφίας.

IV. Ζώνη αποτιτανώσεως (zone of calcification). Τα υπερτροφικά χονδροκύτταρα υπόκεινται απόπτωση, οδηγώντας έτσι σε σχηματισμό κοιλοτήτων. Η θεμέλια ουσία

αποτιτανώνεται. Τριχοειδή αγγεία και οστεοπρογονικά κύτταρα αρχίζουν να εισβάλουν στην περιοχή. Ακολουθεί η διαφοροποίηση σε οστεοβλάστες και η έναρξη παραγωγής οστέινης θεμέλιας ουσίας.

Τα οστά συνεχίζουν να μεγαλώνουν σε μήκος μέχρι την ενήλικη ζωή. Ο ρυθμός ανάπτυξης εξαρτάται από διάφορα ορμονικά σήματα. Περί το 20ό έτος της ηλικίας, ο ρυθμός μιτώσεων στη ζώνη πολλαπλασιασμού μειώνεται. Επιπλέον, η ζώνη αποτιτανώσεως και οστέωσης επεκτείνεται και καταλαμβάνει τις ζώνες ηρεμούντος χόνδρου και πολλαπλασιασμού. Όταν τα χονδροκύτταρα πάψουν να πολλαπλασιάζονται και να αντικαθίστανται από οστό, η επιμήκυνση των οστών σταματά. Το μόνο που απομένει από το συζευκτικό χόνδρο είναι η επιφυσιική γραμμή

1.4 Αναδιαμόρφωση του οστίτη ιστού

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω ο σκελετός είναι ένας μεταβολικά ενεργός ιστός που υπόκειται συνεχώς αναδιαμόρφωση. Στην ενήλικη ζωή η ανάπτυξη του

οστού αντιρροπείται από την απορρόφησή του, καθώς αυτό υπόκειται ανασχηματισμό για να ανταποκριθεί στις πιέσεις που ασκούνται πάνω του και να εξασφαλίσει την ακεραιότητα και σωστή λειτουργία του σκελετού. Στα οστά γίνεται συνεχώς ανταλλαγή της ύλης, δηλαδή συνεχής απορρόφηση και εναπόθεση ουσιών. Ο οστίτης ιστός αποικοδομείται από τους οστεοκλάστες και σχηματίζεται συνεχώς από οστεοβλάστες. Οι οστεοκλάστες απομακρύνουν γηρασμένα ή δυσλειτουργικά οστεοκύτταρα και μεσοκυττάρια ουσία. Οι οστεοβλάστες με τη σειρά τους σχηματίζουν καινούρια μεσοκυττάρια ουσία η οποία τελικά ασβεστοποιείται.

Η οστική αναδόμηση λαμβάνει χώρα στη βασική πολυκυτταρική μονάδα (BMU; Basic Multicellular Unit), η οποία αποτελείται από οστεοκλάστες, οστεοβλάστες και οστεοκύτταρα μέσα σε μια κοιλότητα οστικής αναδόμησης [62]. **(Εικόνα 17)** Απαιτείται αυστηρός έλεγχος και ρύθμιση της οστικής αναδόμησης στο επίπεδο της μονάδας BMU σε όλο τον σκελετό προκειμένου να διατηρηθεί η δομική ακεραιότητα των οστών.

Οι μονάδες BMU διαφέρουν σημαντικά μεταξύ συμπαγούς και σπογγώδους οστίτη ιστού όσον αφορά τη δομή τους και τον τρόπο με τον οποίο αντικαθιστούν το οστό. Στο συμπαγές οστό, η αναδόμηση συμβαίνει στην επιφάνεια των οστικών δοκίδων και διαρκεί περί των 200 ημερών σε φυσιολογικά οστά. Ο κύκλος της αναδόμησης μπορεί να είναι σχετικά σύντομος (~100 ημέρες) σε περιπτώσεις

θυρεοτοξίκωσης και πρωτοπαθούς υπερπαραθυρεοειδισμού ή να ξεπερνά τις 1000 μέρες σε μυξοιδηματικές καταστάσεις ή μετά από θεραπεία με διφωσφονικά [63].

Για την έναρξη ενός κύκλου οστικής αναδόμησης απαιτείται αναγνώριση της περιοχής που χρειάζεται να υποστεί τη διαδικασία. Παλαιότερες μελέτες έχουν περιγράψει ως πρώτο βήμα αυτό της οστικής απορρόφησης από οστεοκλάστες. Ωστόσο, άλλοι μηχανισμοί προηγούνται του βήματος αυτού προκειμένου να γίνει σωστά η έναρξη της διαδικασίας [64]. Έχει υποτεθεί ότι όταν υπάρχει ανάγκη οστικής αναδόμησης σε ένα συγκεκριμένο σημείο, επενδυματικά κύτταρα διαχωρίζονται από το υπερκείμενο οστό και σχηματίζουν ένα διαμέρισμα οστικής αναδόμησης (BRC; bone remodeling compartment) [65]. Αυτό το αρχικό γεγονός μπορεί να έχει έναρξη στα οστεοκύτταρα, τα οποία αναγνωρίζουν την ανάγκη αναδιαμόρφωσης μιας περιοχής του οστού και επικοινωνούν την πληροφορία αυτή στα επιφανειακά κύτταρα μέσω των μικροσωληνίσκων [66]. Άλλα σήματα μπορούν να προκύψουν κατά τη διάρκεια της απόπτωσης των οστεοκυττάρων ή των ίδιων των επενδυματικών κυττάρων, γεγονός που οδηγεί σε απελευθέρωση παρακρινικών παραγόντων και κυτταροκινών και άρα προσέλευση οστεοβλαστών, οστεοκλαστών και αγγειακών στοιχείων.

Προγονικά κύτταρα οστεοκλαστών δίνονται μέσω της αιματικής κυκλοφορίας από τριχοειδή που γειτνιάζουν ή εισέρχονται στο BRC, καθώς και μέσω του μυελού των οστών. Τα απαραίτητα για τον προγραμματισμό και ενεργοποίηση των οστεοκλαστών μηνύματα από τον M-CSF, RANKL, VEGF και νιτρικό οξύ προέρχονται από τα κύτταρα της οστεοβλαστικής σειράς, τα ενδοθηλιακά κύτταρα και το BRC [64, 67].

Μετά την ενεργοποίησή τους οι οστεοκλάστες επαναρροφούν τη θεμέλια ουσία του οστίτη ιστού σχηματίζοντας κοιλότητες εξ απορροφήσεως, το βάθος των οποίων ποικίλει από 60μm σε νεαρά άτομα σε 40μm σε μεγαλύτερες ηλικίες. Στο φυσιολογικό οστό ακολουθεί εναπόθεση νέας οστικής ουσίας με πλήρη κάλυψη της κοιλότητας απορροφήσεως. Αντίθετα, σε καταστάσεις όπως η οστεοπόρωση, το βασικό πρόβλημα είναι η αδυναμία της οστεοβλάστης να καλύψει επαρκώς τη δημιουργηθείσα κοιλότητα, οδηγώντας έτσι σε απώλεια οστού σε κάθε κύκλο αναδιαμόρφωσης [63].

Ο έλεγχος της οστικής αναδιαμόρφωσης επηρεάζεται από τοπικούς και συστηματικούς παράγοντες. Οι βασικοί συστηματικοί ρυθμιστές περιλαμβάνουν την παραθορμόνη, την καλσιτριόλη, την αυξητική ορμόνη, τα γλυκοκορτικοειδή, θυρεοειδείς ορμόνες και ορμόνες του φύλου. Εμπλέκονται επίσης παράγοντες όπως οι IGFs, οι προσταγλανδίνες, ο TGF-beta, οι BMPs, και διάφορες κυτταροκίνες. Όσον αφορά την τοπική ρύθμιση σημαντικό ρόλο παίζει το σύστημα OPG/RANK/RANKL [68, 69].

2. Οστεοπόρωση

2.1 Ορισμός

Η οστεοπόρωση είναι μια συστηματική σκελετική νόσος που χαρακτηρίζεται από μείωση της οστικής μάζας και διαταραχή της μικροαρχιτεκτονικής του οστίτη ιστού, με αποτέλεσμα τη μείωση της μηχανικής αντοχής των οστών και την αύξηση του κινδύνου καταγμάτων [70]. **(Εικόνα 18)**

Εικόνα 18. Μακροσκοπική δομή σπογγώδους οστίτη ιστού σε φυσιολογικό (Α) και οστεοπορωτικό (Β) άτομο. Στο οστεοπορωτικό οστό είναι εμφανής η διαταραχή της αρχιτεκτονικής των οστικών δοκίδων.

Η πάθηση μπορεί να είναι εντοπισμένη (όπως στην οστεοπόρωση εξ αχρησίας που αναπτύσσεται σε ένα χρόνια ακινητοποιημένο μέλος) ή μπορεί να αφορά ολόκληρο το σκελετικό σύστημα. Η γενικευμένη οστεοπόρωση μπορεί να εμφανιστεί ως πρωτοπαθής νόσος ή μπορεί να είναι δευτεροπαθής ως αποτέλεσμα κάποιας άλλης συστηματικής νόσου που επηρεάζει και τα οστά [71]. **(Εικόνα 19)**

Η πρωτοπαθής οστεοπόρωση εμφανίζεται με τρεις κλινικούς τύπους: την οστεοπόρωση τύπου I ή μετεμμηνοπαυσιακή, την οστεοπόρωση τύπου II ή γεροντική και την ιδιοπαθή νεανική οστεοπόρωση. Η μετεμμηνοπαυσιακή μορφή της οστεοπόρωσης είναι η συχνότερη και προσβάλλει γυναίκες μετά την εμμηνόπαυση. Η γεροντική οστεοπόρωση εμφανίζεται σε ενηλίκους και των δύο φύλων και η συχνότητα εμφάνισής της αυξάνεται με την πάροδο της ηλικίας. **(Πίνακας 5)** Η δευτεροπαθής οστεοπόρωση οφείλεται στην αρνητική επίδραση επίκτητων αιτίων στον οστικό μεταβολισμό. Οι σημαντικότερες καταστάσεις που οδηγούν σε δευτεροπαθή οστεοπόρωση είναι η λήψη κορτικοστεροειδών, το σύνδρομο Cushing,

ο σακχαρώδης διαβήτης, ο υπερπαραθυρεοειδισμός, νοσήματα του συνδετικού ιστού, παθήσεις του γαστρεντερικού συστήματος και διάφορες νεοπλασίες [72]. Τα αίτια της δευτεροπαθούς οστεοπόρωσης θα περιγραφούν πιο αναλυτικά παρακάτω.

Πίνακας 5. Τύποι πρωτοπαθούς οστεοπόρωσης		
	ΤΥΠΟΣ I	ΤΥΠΟΣ II
Ηλικία εμφάνισης	45-50	>75
Αιτιολογία	Εμμηνόπαυση	Γήρανση
Επίπτωση ανά φύλο	A:Γ=1:6	A:Γ=1:2
Συχνότερο κάταγμα	Σπονδυλική στήλη	Ισχίο
Απώλεια οστίτη ιστού	Σπογγώδης	Συμπαγής

Η απώλεια της οστικής πυκνότητας εξελίσσεται με την πάροδο των χρόνων και η πιθανότητα εμφάνισης οστεοπορωτικών καταγμάτων αυξάνεται με την ηλικία,. Η οστεοπόρωση είναι 3x συχνότερη στις γυναίκες από ότι στους άνδρες. Αυτό

οφείλεται στο ότι οι γυναίκες έχουν χαμηλότερη κορυφαία οστική πυκνότητα και στο ότι υπόκεινται σε ορμονικές αλλαγές κατά τη διάρκεια της εμμηνόπαυσης.

2.2 Μέγεθος του προβλήματος-Επιδημιολογία

Η οστεοπόρωση είναι μία σκελετική νόσος που προσβάλλει 200 εκατομμύρια άτομα παγκοσμίως και προκαλεί περισσότερα από 2.3 εκατομμύρια κατάγματα ετησίως σε Ευρώπη και Αμερική [73]. Συγκεκριμένα έχει υπολογιστεί ότι μια στις δύο γυναίκες και ένας στους πέντε άνδρες άνω των 50 θα υποστούν τουλάχιστον ένα οστεοπορωτικό κάταγμα κατά τη διάρκεια της ζωής τους [74, 75].

Η αύξηση του προσδόκιμου επιβίωσης μεταφράζεται σε αύξηση του κινδύνου οστεοπόρωσης και δη οστεοπορωτικών καταγμάτων. Το 1950 προκλήθηκαν 1.7 εκατομμύρια κατάγματα ισχίου παγκοσμίως και ως το 2050 αναμένεται να φτάσουν τα 6.3 εκατομμύρια. **(Εικόνα 20)** Η προβλεπόμενη αύξηση στις γυναίκες αναμένεται να φτάσει το 240% και στους άνδρες το 310% [76, 77].

Εικόνα 20. Αριθμός οστεοπορωτικών καταγμάτων ισχίου παγκοσμίως. Συγκρίνεται η επίπτωση καταγμάτων του 1950 με την προβλεπόμενη επίπτωση το 2050. [77]

Η οστεοπόρωση είναι μία ασθένεια που επιβαρύνει σημαντικά τα συστήματα υγείας παγκοσμίως. Αποτελεί μία από τις ακριβότερες χρόνιες νόσους, με περισσότερες μέρες ενδονοσοκομειακής νοσηλείας σε σχέση με άλλα χρόνια νοσήματα, όπως το έμφραγμα μυοκαρδίου, τα εγκεφαλικά επεισόδια και άλλα [78]. **(Εικόνα 21)** Στην Ευρώπη το κόστος θεραπείας των οστεοπορωτικών καταγμάτων ξεπερνά τα 31 δις ευρώ και αναμένεται να φτάσει τα 76 δις ευρώ μέχρι το 2050. Αντίστοιχη κατάσταση επικρατεί στις ΗΠΑ με το κόστος των οστεοπορωτικών καταγμάτων να αγγίζει τα 35 δις δολάρια και τα κρεβάτια νοσοκομείων για οστεοπορωτικούς ασθενείς να φτάνουν τα 3.5 εκατομμύρια ετησίως [75].

Μια πρόσφατη αναφορά περιγράφει αναλυτικά το θέμα της επιδημιολογίας και του κόστους της οστεοπόρωσης στις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης [79]. Συνολικά φαίνεται ότι στην Ευρώπη είκοσι δύο εκατομμύρια γυναίκες και πεντέμισι εκατομμύρια άνδρες πάσχουν από οστεοπόρωση. Επιπλέον αναγνωρίστηκαν 3.5×10^6 νέα οστεοπορωτικά κατάγματα και συγκεκριμένα 620,000 κατάγματα ισχίου, 520,000 κατάγματα σπονδυλικής στήλης, 560,000 κατάγματα αντιβραχίου και 1.8×10^6 άλλα κατάγματα (συμπεριλαμβανομένων καταγμάτων πλευρών, βραχιονίου, κνήμης και περόνης, ωμοπλάτης, κλείδας και άλλα). Το οικονομικό φορτίο της οστεοπόρωσης και των σχετιζόμενων με αυτήν καταγμάτων υπολογίστηκε σε 37 δισεκατομμύρια ευρώ το χρόνο, με την αντιμετώπιση των καταγμάτων να αποτελεί

το 95% του κόστους. Το υπόλοιπο 5% του κόστους αφορά θεραπευτική παρέμβαση για μείωση του κινδύνου οστεοπόρωσης ή/και άλλων οστεοπορωτικών καταγμάτων. Επίσης λόγω των καταγμάτων χάθηκαν 1,180,000 ποιοτικά προσδιορισμένα έτη επιβίωσης (QALYs; quality-adjusted life years) μέσα στο 2010. Το κόστος αναμένεται να αυξηθεί κατά 25% το 2025 [79].

Επιδημιολογικά δεδομένα για την Ελλάδα (**Πίνακας 6**) δείχνουν ότι η οστεοπόρωση πλήττει το 30% των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών [80], με τον αριθμό των επιβεβαιωμένων περιστατικών οστεοπόρωσης να φτάνει τις 640000 [81].

Πίνακας 6. Εκτιμηθείς αριθμός ανδρών και γυναικών με οστεοπόρωση στην Ελλάδα το 2010 (Διάγνωση με βάση τιμές μέτρησης DEXA ισχίου) [81]		
Ηλικιακή ομάδα	Άνδρες	Γυναίκες
50–54	9.500	24.822
55–59	12.075	34.080
60–64	18.270	48.620
65–69	17.760	55.550
70–74	19.344	87.048
75–79	21.733	101.625
80+	36.520	155.760

Το 2010 καταγράφηκαν περίπου 86.000 νέα οστεοπορωτικά κατάγματα στην Ελλάδα (κατάγματα ισχίου: 15.000, σπονδυλικής στήλης: 13.000, αντιβραχίου: 15.000, άλλα κατάγματα: 43.000). (**Πίνακας 7**) Η οικονομική επιβάρυνση του συστήματος υγείας από τα περιστατικά οστεοπορωτικών καταγμάτων έχει υπολογιστεί στα €680 εκατομμύρια και τα QALYs στα 31.000 για το ίδιο έτος. Με βάση τις δημογραφικές προβλέψεις για το 2025, ο αριθμός των νέων καταγμάτων αναμένεται να φτάσει τα 107.000, αριθμός που αντιστοιχεί σε 20% αύξηση σε σχέση με το 2010. Ανάλογη αύξηση (20% -> € 814 εκατομμύρια) αναμένεται να παρατηρηθεί στο κόστος αντιμετώπισης και θεραπείας της οστεοπόρωσης και των σχετιζόμενων με αυτή καταγμάτων [81].

Πίνακας 7. Αριθμός νέων καταγμάτων στην Ελλάδα το 2010 [81]					
Φύλο	Ισχίο	ΣΣ	Αντιβράχιο	Άλλα	Συνολικά
Γυναίκες	9.942	8.248	12.309	24.483	54.982
Άνδρες	4.741	5.061	2.268	18.466	30.536

Τα κατάγματα του ισχίου είναι σημαντικός παράγοντας της νοσηρότητας και της θνησιμότητας της οστεοπόρωσης και αποτελούν την πρώτη αιτία αναπηρίας στους ηλικιωμένους. Τα κατάγματα ισχίου σχετίζονται με θνησιμότητα 15-30% [82], με την πλειοψηφία των θανάτων να συμβαίνουν μέσα στους πρώτους 6 μήνες μετά το κάταγμα. Ο κίνδυνος αυξάνει προοδευτικά με την ηλικία. Συσχετίζονται επίσης με αυξημένη νοσηρότητα και ανάγκη για παρατεταμένη ενδονοσοκομειακή νοσηλεία (μέσος όρος: 20-30 ημέρες) [83]. Το 50% των ασθενών θα υποφέρουν από απώλεια κινητικότητας και μόλις ένα 20% θα αποκαταστήσουν πλήρη λειτουργικότητα του άκρου. **(Εικόνα 22)**

Από τα παραπάνω εύκολα καταλαβαίνει κανείς ότι η οστεοπόρωση και τα σχετιζόμενα με αυτήν κατάγματα είναι ένα παγκόσμιο πρόβλημα, καθώς οδηγούν σε μόνιμες αναπηρίες, μακροχρόνια παραμονή σε κέντρα αποκατάστασης ή θάνατο και άρα αποτελούν μια σημαντική αιτία νοσηρότητας, θνητότητας και επιβάρυνσης του συστήματος υγείας. Η σπουδαιότητα και η συνεχώς αυξανόμενη συχνότητα της

οστεοπόρωσης σε παγκόσμιο επίπεδο υπογραμμίζει την επιτακτική ανάγκη για ανάπτυξη στρατηγικών πρόληψης, έγκαιρης διάγνωσης και αποτελεσματικότερης θεραπείας για τη διατήρηση της υγείας, της ποιότητας ζωής και της αυτονομίας των ηλικιωμένων ατόμων.

2.3 Παθοφυσιολογία [84]

Όπως αναφέρθηκε και στο προηγούμενο κεφάλαιο, μπορεί ο σκελετός να μοιάζει ως ένα στατικό σύστημα, στην πραγματικότητα όμως είναι ένας περίπλοκος και πολυδύναμος ιστός, που έχει την ικανότητα να αναδιαμορφώνει τη δομή του και να επισκευάζει τυχόν βλάβες προκειμένου να διατηρήσει τη σταθερότητα και την αντοχή του. Η διαδικασία αυτή είναι γνωστή ως οστική ανανέωση και ακολουθεί τη λογική της αντικατάστασης του παλαιού και λιγότερο ανθεκτικού οστού με νέο.

Περιλαμβάνει την οστική απορρόφηση και οστεοσύνθεση, λειτουργίες που διεκπεραιώνονται από τις οστεοβλάστες, τα οστεοκύτταρα και τις οστεοκλάστες. Κάθε κυτταρικός πληθυσμός παίζει το ρόλο του στη διαδικασία της ανανέωσης. Η οστική απορρόφηση γίνεται από τους οστεοκλάστες. Η δημιουργία του οστού διεκπεραιώνεται από τις οστεοβλάστες. Σημαντικό ρόλο παίζουν και τα οστεοκύτταρα τα οποία έχουν την ικανότητα να εντοπίζουν μικροβλάβες του οστίτη ιστού και επικοινωνώντας με άλλα κύτταρα της περιοχής να σηματοδοτούν την έναρξη της αναδιαμόρφωσης του οστού.

Τέλος, στη ρύθμιση της διαδικασίας αυτής συμμετέχουν και διάφορες ορμόνες όπως τα οιστρογόνα, τα ανδρογόνα, η καλσιτονίνη, βιταμίνη D και η παραθορμόνη καθώς και τοπικά παραγόμενοι αυξητικοί παράγοντες, όπως οι IGF-I και -II, ο TGF, οι ιντερλευκίνες, οι προσταγλανδίνες και ο TNF. Οι αυξητικοί παράγοντες και οι κυτταροκίνες επάγουν την ενεργοποίηση των οστεοκλαστών. Αντίθετα, η καλσιτονίνη εμποδίζει την απορρόφηση του οστού δρώντας άμεσα πάνω στους ώριμους οστεοκλάστες. Προστατευτική δράση ασκούν και τα οιστρογόνα και τα ανδρογόνα αναστέλλοντας την παραγωγή κυτταροκινών. Όταν η απορρόφηση ακολουθείται από δημιουργία ίσης ποσότητας νέου οστού, τότε ο σκελετός παραμένει ακέραιος. Μέχρι την τρίτη δεκαετία της ζωής η οστεοσύνθεση υπερτερεί της αποδόμησης. Ωστόσο, μετά τα 35 η οστική πυκνότητα παρουσιάζει προοδευτική ελάττωση. Ο ρυθμός της οστικής απώλειας είναι περίπου 0,7% ετησίως, αν και οι ρυθμοί ποικίλουν από το ένα οστό στο άλλο, με τις μεγαλύτερες απώλειες να παρατηρούνται στη σπονδυλική

στήλη και τον αυχένα του μηριαίου. Η μείωση της οστικής μάζας οφείλεται σε ανισορροπία λειτουργίας οστεοβλαστών και οστεοκλαστών, δηλαδή στην αύξηση της οστεοκλαστικής δραστηριότητας χωρίς παράλληλη αύξηση της οστεοβλαστικής δραστηριότητας ή/και στην υπερβολική μείωση της οστεοβλαστικής δραστηριότητας.

2.4 Κλινική εικόνα

Η οστεοπόρωση είναι σιωπηλή νόσος και εξελίσσεται για πολλά χρόνια χωρίς άλγος ή άλλη συμπτωματολογία. Μικροκατάγματα των οστικών δοκίδων, τα οποία δεν είναι εμφανή σε απλές ακτινογραφίες, είναι δυνατόν να αποτελούν αιτία οσφυαλγίας ως αποτέλεσμα οστεοπόρωσης. Γενικά τα κατάγματα είναι τα πρώτα κλινικά σημεία που οδηγούν τον ασθενή στην αναζήτηση ιατρικής φροντίδας.

Ως οστεοπορωτικά θεωρούνται τα κατάγματα που προκαλούνται μετά από δράση βίας χαμηλής ενέργειας, η οποία φυσιολογικά δε θα προκαλούσε κάταγμα. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας η δύναμη αυτή ισοδυναμεί με αυτή της πτώσης από όρθια στάση ή και λιγότερο [85]. Τα συχνότερα οστεοπορωτικά κατάγματα είναι αυτά της σπονδυλικής στήλης, του ισχίου και του άπω πέρατος της κερκίδας. Η συχνότητα εμφάνισης των προαναφερθέντων καταγμάτων εξαρτάται από την ηλικία και το φύλο. **(Εικόνα 23)** Πιο συγκεκριμένα, αμέσως μετά την εμμηνόπαυση εμφανίζονται τα κατάγματα Colles. Η επίπτωσή τους παραμένει

σταθερή στην πορεία του χρόνου (δεν αυξάνονται με την αύξηση της ηλικίας). Μετά την εμμηνόπαυση τα συχνότερα κατάγματα είναι αυτά της σπονδυλικής στήλης, η επίπτωση των οποίων αυξάνεται σημαντικά με την αύξηση της ηλικίας. Τέλος σε ηλικίες άνω των 70 ετών παρατηρείται αυξημένη εμφάνιση καταγμάτων ισχίου.

Κατάγματα ισχίου

Τα κατάγματα του εγγύς άκρου του μηριαίου προκαλούνται συνήθως μετά από πτώση από την όρθια στάση ή χαμηλό ύψος. Διακρίνονται σε υποκεφαλικά, διατροχαντήρια και υποτροχαντήρια κατάγματα. **(Εικόνα 24)** Ο επιπολασμός των καταγμάτων ισχίου στους ηλικιωμένους αυξάνεται συνεχώς τα τελευταία χρόνια. Παρά το γεγονός ότι τα κατάγματα ισχίου αποτελούν μικρό μόνο ποσοστό του συνόλου των οστεοπορωτικών καταγμάτων (14%), ευθύνονται για το 72% του συνολικού κόστους των οστεοπορωτικών καταγμάτων [86].

Εικόνα 24. Οστεοπορωτικά κατάγματα ισχίου μετά από πτώση από την όρθια στάση: Διατροχαντήρια (Α), Υποκεφαλικά (Β) και Υποτροχαντήρια (Γ).

Ποσοστό 5-10% των ασθενών θα υποστούν και 2^ο κάταγμα ισχίου μετά από 3.3 χρόνια κατά μέσο όρο [75]. Τα κατάγματα αυτά είναι ιδιαίτερα επώδυνα και απαιτούν νοσοκομειακή περίθαλψη και χειρουργική αποκατάσταση. Σχετίζονται με χρόνιο πόνο, μειωμένη κινητικότητα, αναπηρία και απώλεια της ικανότητας αυτοεξυπηρέτησης καθώς και σημαντική αύξηση της θνησιμότητας μέχρι και 5 χρόνια μετά το κάταγμα [86, 87].

Κατάγματα σπονδυλικής στήλης (ΣΣ)

Τα κατάγματα σπονδυλικής στήλης είναι τα συχνότερα οστεοπορωτικά κατάγματα, με επίπτωση που φτάνει τις 700.000 κατάγματα ανά έτος στις ΗΠΑ. Ευθύνονται για 70.000 νοσηλείες ετησίως με κόστος που ανέρχεται στα 15 δις [88].

Τα κατάγματα σπονδυλικής στήλης μπορεί να είναι συμπτωματικά ή τελείως ασυμπτωματικά, με αποτέλεσμα να βρεθούν τυχαία σε ακτινολογικό έλεγχο. **(Εικόνα**

25) Οξέως μπορούν να εμφανιστούν με την ξαφνική έναρξη έντονου πόνου ή χρονίως με την προοδευτική αύξηση της κύφωσης. Συνοδεύονται από απώλεια ύψους, μείωση κινητικότητας, και πιθανώς αναπνευστικά προβλήματα, συμπτώματα από το γαστρεντερικό και κατάθλιψη. Άτομα με σπονδυλικά κατάγματα έχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης και άλλων οστεοπορωτικών καταγμάτων, σπονδυλικών και μη [89, 90]. Η υποδιάγνωση αυτών των καταγμάτων, όπως θα συζητηθεί και αργότερα, είναι ένα παγκόσμιο φαινόμενο. Έχει υπολογιστεί ότι μόνο το 1/3 αυτών των καταγμάτων

Εικόνα 25. Ακτινογραφική απεικόνιση καταγμάτων σπονδυλικής στήλης.

διαγιγνώσκονται λόγω οξείας συμπτωματολογία, ενώ τα υπόλοιπα παραμένουν αδιάγνωστα μέχρι να συμβούν πολλαπλά κατάγματα, που εμφανίζουν πλέον συμπτώματα [75].

Η διάγνωση γίνεται με απλές ακτινογραφίες σπονδυλικής στήλης. Στις ακτινογραφίες πρέπει να περιλαμβάνεται ολόκληρη η σπονδυλική στήλη καθώς υπάρχει πιθανότητα συνυπάρχοντος κατάγματος σε άλλο επίπεδο στο 20% των περιπτώσεων. Σπάνια απαιτείται περαιτέρω απεικόνιση με αξονική ή μαγνητική τομογραφία [88]. Η θεραπεία των οστεοπορωτικών συμπιεστικών καταγμάτων αφορά κυρίως τον έλεγχο του πόνου και την έναρξη αγωγής για την υποκείμενη οστεοπόρωση.

Κατάγματα άπω πέρατος κερκίδας

Τα κατάγματα του άπω πέρατος κερκίδας (κατάγματα Colles) (**Εικόνα 26**) προκαλούνται από πτώση πάνω σε τεντωμένο άνω άκρο με τον καρπό σε έκταση.

Κλινικά μπορούν να παρατηρηθούν άλγος, οίδημα, εκχυμώσεις, παραμόρφωση και αδυναμία κινήσεων της πηχεοκαρπικής. Ανάλογα με την παρεκτόπιση και συντριπτικότητα του κατάγματος αντιμετωπίζονται είτε συντηρητικά με γύψινο νάρθηκα ή χειρουργικά με

Εικόνα 26. Κατάγματα πηχεοκαρπικής. Είναι συνήθως τα πρώτα κατάγματα που εμφανίζονται αμέσως μετά την εμμηνόπαυση, ως αποτέλεσμα υποκείμενης οστεοπόρωσης

εξωτερική ή εσωτερική οστεοσύνθεση. Πιθανές επιπλοκές περιλαμβάνουν τραυματισμό των νεύρων η/και αγγείων της περιοχής (μέσου και ωλένιου νεύρου ή κερκιδικής και ωλένιας αρτηρίας αντίστοιχα), καθυστερημένη πόρωση ή ψευδάρθρωση, χρόνιο πόνο, περιορισμό της κίνησης και δευτερογενή αρθρίτιδα της άπω κερκιδωλενικής άρθρωσης [91, 92].

Άλλα οστεοπορωτικά κατάγματα

Γενικά τα κατάγματα ισχίου και σπονδυλικής στήλης είναι αυτά που δέχονται περισσότερη προσοχή στην κλινική πράξη και τη βιβλιογραφία. Ωστόσο οστεοπορωτικά κατάγματα συναντώνται και σε άλλες περιοχές του σκελετού, συμπεριλαμβανομένων του βραχιονίου, πυέλου, πλευρών, μηριαίου, πτέρνας κ.ά [93].

Τα μη σπονδυλικά, μη ισχιακά κατάγματα αποτελούν το 90% του συνόλου των οστεοπορωτικών καταγμάτων σε άτομα <80 ετών και το 59% στις μεγαλύτερες ηλικίες. Έχει αναφερθεί σημαντική συσχέτιση μεταξύ μείωσης της περιφερικής οστικής πυκνότητας και του κινδύνου άλλων οστεοπορωτικών καταγμάτων. Η επίπτωση των καταγμάτων αυτών ποικίλει ανάλογα με τη γεωγραφική περιοχή, το φύλο και την ηλικία. Για παράδειγμα σε γυναίκες ηλικίας >80 ετών συναντώνται συχνότερα κατάγματα αντιβραχίου (1^α σε επίπτωση) και υποκεφαλικά βραχιονίου (2^α σε επίπτωση) [94].

Τα ποσοστά μείωσης της ποιότητας ζωής (HRQOL; health-related quality of life) σε γυναίκες με μη σπονδυλικά, μη ισχιακά κατάγματα (εξαιρουμένων των καταγμάτων αντιβραχίου) είναι παρόμοια με αυτά σε ασθενείς με κατάγματα ισχίου. Η θεραπευτική προσέγγιση εξαρτάται από την εντόπιση του κατάγματος [94].

2.5 Παράγοντες κινδύνου

Στη βιβλιογραφία υπάρχουν πολυάριθμες μελέτες που αξιολογούν τους πιθανούς παράγοντες που συμβάλλουν σε αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης οστεοπόρωσης. Οι παράγοντες κινδύνου μπορεί να σχετίζονται με τη μέση οστική πυκνότητα, ή να αυξάνουν την πιθανότητα οστεοπόρωσης ανεξάρτητα από αυτή.

α) Ελαττωμένη κορυφαία οστική πυκνότητα. Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, φυσιολογικά η οστική μάζα αυξάνει σταθερά κατά τη διάρκεια της βρεφικής και της παιδικής ηλικίας και φθάνει στο ανώτερο όριο στην περίοδο της ενηλικίωσης, δηλαδή στους άνδρες στο 30^ο έτος της ζωής τους και στις γυναίκες στο 25^ο έτος. Η κορυφαία οστική πυκνότητα αποτελεί καθοριστικό παράγοντα του μετέπειτα κινδύνου για οστεοπόρωση. Οι παράγοντες που επηρεάζουν την οστική πυκνότητα είναι [95]:

- **Γενετικοί παράγοντες.** Μολονότι πολλοί από τους παράγοντες οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για τη φυσιολογική οστική ανάπτυξη παραμένουν άγνωστοι, ένας καθοριστικός γενετικός τύπος που σχετίζεται με τη μέγιστη οστική πυκνότητα είναι το γονίδιο του υποδοχέα της βιταμίνης D (VDR). Η συμβολή των γενετικών παραγόντων στην οστεοπόρωση θα μελετηθεί αναλυτικά στην επόμενη υποενότητα [96].
- **Πρόσληψη ασβεστίου.** Η κορυφαία οστική πυκνότητα μπορεί να μειωθεί λόγω περιορισμένης διαιτητικής πρόσληψης ασβεστίου κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης, οδηγώντας σε αυξημένο κίνδυνο οστεοπόρωσης αργότερα στη ζωή. Κατά τη διάρκεια της ενήλικης ζωής η φτωχή σε ασβέστιο δίαιτα επάγει το δευτεροπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό και μια αύξηση στην οστική απορρόφηση για τη διατήρηση των επιπέδων ασβεστίου στον ορό σε φυσιολογικά επίπεδα, καταστάσεις που μακροπρόθεσμα αποδεικνύονται ιδιαίτερα επιβλαβείς για τον σκελετό. Με βάση τις οδηγίες του Food and Nutrition Board of the Institute of Medicine-National Academy of Sciences απαιτείται ημερήσια πρόσληψη ασβεστίου 1,000-1,300 mg. Ωστόσο, ο ουδός

για αύξηση κινδύνου οστεοπόρωσης και σχετιζόμενων με αυτή καταγμάτων είναι σημαντικά χαμηλότερος, στα 400-500 mg/μέρα [29].

- **Βιταμίνη D.** Η βιταμίνη D συντίθεται στο δέρμα με την επίδραση της ηλιακής ακτινοβολίας και λαμβάνεται και εξωγενώς με την τροφή. Κύριος ρόλος της είναι η αύξηση των επιπέδων φωσφόρου και ασβεστίου του αίματος διαμορφώνοντας συνθήκες που ευνοούν την ενίσχυση των οστών. Τα ελαττωμένα επίπεδα βιταμίνης D οδηγούν σε ραχίτιδα στα παιδιά και σε οστεομαλακία στους ενήλικες, λόγω της ανεπαρκούς εναπόθεσης αλάτων στη θεμέλιο ουσία του οστού από τους οστεοβλάστες. Συχνότερα παρατηρούνται σε ηλικιωμένους, σε κατοίκους βόρειων χωρών (μειωμένη ηλιοφάνεια) και σε άτομα με δίαιτα φτωχή σε βιταμίνη D, δυσασπορρόφηση, χρόνια νεφρική ή ηπατική νόσο. Μέτρια έλλειψη βιταμίνης D οδηγεί σε δευτεροπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό και σε αυξημένο κίνδυνο οστεοπόρωσης και καταγμάτων [33].
- **Ορμονικοί παράγοντες.** Τα οιστρογόνα είναι απαραίτητα όχι μόνο για τη μεγιστοποίηση της οστικής πυκνότητας, αλλά και για τη διατήρησή της. Έλλειψη οιστρογόνων και χαμηλή οστική μάζα σχετίζονται με την εμμηνόπαυση και με καταστάσεις όπως η νευρική ανορεξία, η προκαλούμενη από άσκηση αμηνόρροια ή με τη λήψη ουσιών που αναστέλλουν την έκκριση γοναδοτροπινών. Η μειωμένη παραγωγή οιστρογόνων οδηγεί σε ανισορροπία μεταξύ οστικής παραγωγής και απορρόφησης. Πιο συγκεκριμένα, αυξάνεται η ενεργοποίηση και η δραστικότητα των οστεοκλαστών, ενώ επιταχύνεται η απόπτωση των οστεοβλαστών [97].
- **Σωματική άσκηση.** Η καθιστική ζωή, όπως σε περιπτώσεις παρατεταμένης κατάκλισης ή παράλυση, οδηγεί σε οστική απώλεια. Μελέτες έχουν δείξει ότι οι αθλητές έχουν μεγαλύτερη οστική μάζα σε σχέση με το γενικό πληθυσμό. Αυτές οι αλλαγές στη σκελετική μάζα συμβαίνουν περισσότερο όταν η άσκηση ξεκινά κατά την ανάπτυξη και πριν την εφηβεία [98, 99].

β) Πρόωρη εμμηνόπαυση πριν την ηλικία των 40 ετών. Η γυναίκα μετά την εμμηνόπαυση χάνει 1-1,5% οστικής μάζας το χρόνο, επειδή ελαττώνονται τα οιστρογόνα. Επομένως η πρόωρη εμμηνόπαυση οδηγεί σε σοβαρότερη οστεοπόρωση [100].

γ) Χαμηλό σωματικό βάρος. Οι οστεοπορωτικές γυναίκες είναι συνήθως αδύνατες. Οι παχύσαρκοι εμφανίζουν μικρότερο ποσοστό οστεοπόρωσης λόγω ενεργοποίησης των οιστρογόνων και αυξημένης μηχανικής αντοχής των οστών [101].

δ) Φυλή. Σε κάθε ηλικιακή ομάδα οι μαύρες γυναίκες έχουν κατά μέσο όρο μεγαλύτερη οστική πυκνότητα απ' ό,τι οι λευκές. Άρα οι λευκές γυναίκες είναι περισσότερο επιρρεπείς στην ανάπτυξη οστεοπόρωσης [101].

ε) Συνήθειες. Δίαιτα πλούσια σε πρωτεΐνες, κάπνισμα, κατάχρηση αλκοολούχων ποτών και καφεΐνης ευνοούν την οστική απώλεια, άρα και την εμφάνιση οστεοπόρωσης [102-103].

στ) Συνοδές παθήσεις. Άλλα υποκείμενα νοσήματα που φαίνεται να σχετίζονται με αύξηση του κινδύνου εμφάνισης οστεοπόρωσης είναι οι παθήσεις του θυρεοειδούς, η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, η χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια, η ρευματοειδής αρθρίτιδα, το σύνδρομο Cushing, σύνδρομο δυσαπορρόφησης, σακχαρώδης διαβήτης, και άλλα [101-103]. Για το σακχαρώδη διαβήτη (ΣΔ) πρόσφατες μελέτες έχουν δείξει ότι και οι δύο τύποι διαβήτη, I και II, αυξάνουν σημαντικά τον κίνδυνο σπονδυλικών [104] και μη σπονδυλικών [105-106] καταγμάτων. Έχει προταθεί ότι ο ΣΔ μπορεί να επηρεάσει τον οστίτη ιστό μέσω διαφόρων παθοφυσιολογικών μηχανισμών όπως η παχυσαρκία, η υπερινσουλιναιμία, εναπόθεση τελικών προϊόντων γλυκοζυλίωσης στις ίνες κολλαγόνου, μειωμένα επίπεδα IGF-1, υπερασβεστιουρία, διαταραχή της νεφρικής λειτουργίας, μικροαγγειοπάθεια και χρόνια φλεγμονή [107]. Ενώ ο ΣΔ τύπου 1 σχετίζεται γενικά με μείωση στην κορυφαία οστική μάζα και τη μέση οστική πυκνότητα [108], ο ΣΔ τύπου 2 χαρακτηρίζεται συνήθως από φυσιολογική ή αυξημένη BMD [109]. Παρά τη φυσιολογική μέση οστική πυκνότητα, ασθενείς με ΣΔ2 συνεχίζουν να παρουσιάζουν αυξημένο καταγματικό κίνδυνο, γεγονός που οφείλεται τόσο στη διαταραγμένη δομή του οστού όσο και στον αυξημένο κίνδυνο πτώσεων από την όρθια στάση, λόγω διαταραχών στην όραση, περιφερικής νευροπάθειας και μειωμένης μυικής ισχύος [110].

ζ) Φάρμακα. Φάρμακα που έχουν συσχετισθεί με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης οστεοπόρωσης είναι τα κορτικοστεροειδή, σε ασθενείς που λαμβάνουν από του στόματος γλυκοκορτικοειδή για τουλάχιστον 2 μήνες σε δόσεις > 5 mg. Κάποια αντιδιαβητικά σκευάσματα έχουν επίσης συσχετισθεί με αυξημένο καταγματικό κίνδυνο [111]. Άλλα φάρμακα που έχουν προταθεί ως πιθανοί παράγοντες κινδύνου είναι η ηπαρίνη, οι αναστολείς αντλίας πρωτονίων, αντιεπιληπτικά και κάποια αντικαρκινικά φάρμακα [102-103].

Ταυτόχρονα έχουν προταθεί κάποια score τα οποία επιχειρούν μια καλύτερη εκτίμηση του κινδύνου εμφάνισης οστεοπόρωσης μέσω συνδυασμού πολλαπλών παραγόντων κινδύνου. Στον Πίνακα 8 παρουσιάζονται ενδεικτικά 10 συγχρονικές μελέτες που περιγράφουν μεθόδους αναγνώρισης γυναικών υψηλού κινδύνου. Απ' τις μελέτες αυτές φαίνεται ότι υπάρχουν ειδικά εργαλεία για την εκτίμηση του κινδύνου εμφάνισης χαμηλής οστικής πυκνότητας ή κατάγματος, τα οποία έχουν μέτρια με αυξημένη ευαισθησία και χαμηλή ειδικότητα. Οι πιο σημαντικοί μεθοδολογικοί περιορισμοί αυτών των μελετών ήταν η αδυναμία γενίκευσης λόγω μικρού ή μη αντιπροσωπευτικού δείγματος και η απουσία εγκυρότητας. Λόγω της σημασίας του και ευρείας χρήσης του το FRAX score θα μελετηθεί ξεχωριστά.

2.6 Διάγνωση

2.6.1 Εργαστηριακός Έλεγχος

Ο γενικός αιματολογικός έλεγχος στην οστεοπόρωση είναι φυσιολογικός. Πραγματοποιείται όμως για τον αποκλεισμό άλλων παθήσεων ή για την εντόπιση κάποιου τύπου δευτεροπαθούς οστεοπόρωσης (**Πίνακας 9**).

Πίνακας 9. Εργαστηριακά ευρήματα στις σημαντικότερες διαταραχές του οστού

	ΑΣΒΕΣΤΙΟ	ΦΩΣΦΟΡΟΣ	ALP	PTH	ΣΧΟΛΙΑ
Οστεοπόρωση	—	—	—	—	Μείωση οστικής μάζας
Οστεοπέτρωση	↓	—	↑	—	Πάχυνση και σκλήρυνση των οστών
Οστεομαλακία/Ραχίτιδα	↓	↓	↑	↑	Μαλάκυνση των οστών
Κυστική ινώδης οστεΐτιδα	↑	↓	↑	↑	"Καφεοειδείς όγκοι" του υπερπαραθυρεοειδισμού
Νόσος Paget	—	—	↑	—	Ανώμαλη αρχιτεκτονική του οστού

Ειδικές εξετάσεις που γίνονται για την οστεοπόρωση είναι οι βιοχημικοί δείκτες οστικής παραγωγής στο αίμα (ολική αλκαλική φωσφατάση, οστικό ισοένζυμο αλκαλικής φωσφατάσης, οστεοκαλσίνη ορού) και οι βιοχημικοί δείκτες οστικής

Πίνακας 8. Μέθοδοι αναγνώρισης υψηλού καταγματού κινδύνου

Συγγραφέας	N	Παράγοντες κινδύνου	Αποτέλεσμα	Αποτελεσματικότητα
Ribot 1992	1565	Βάρος, Εμμηνόπαυση, Διάρκεια εμμηνόπαυσης	BMD οσπονοδύλων < -2 SD	Ευαισθησία 73%, Ειδικότητα 66%.
Elliot, 1993	320	BMD ΣΣ: ηλικία, βάρος, κάπνισμα , ηλικία εμμηναρχής BMD αυχένα μηριαίου: ηλικία, βάρος, οικογενειακό ιστορικό, άσκηση, κάπνισμα	Χαμηλό BMD οσφυικής μοίρας ΣΣ και αυχένα μηριαίου	Οσφυική μοίρα ΣΣ: Ευαισθησία 86%, Ειδικότητα 32%. Αυχένas μηριαίου: Ευαισθησία 89%, Ειδικότητα 25%.
Michaelsson 1996	175	Βάρος > 70kg.	BMD αυχένα μηριαίου < -2.5 SD	Ευαισθησία 94%, Ειδικότητα 36%, ΘΠΑ 21%, ΑΠΑ 97%.
Ballard 1998	1158	Ηλικία, ηλικία εμμηνόπαυσης, ύψος, βάρος, εγκυμοσύνη, χρήση στεροειδών, λήψη θεραπείας αποκατάστασης οιστρογόνων	Οστεοπόρωση αυχένα μηριαίου ή/και ΣΣ	ROC area 0.73.
Lydick 1998	1279	Ηλικία, βάρος, φυλή, λήψη οιστρογόνων, ρευματοειδής αρθρίτιδα, ιστορικό καταγμάτων (SCORE)	BMD αυχένα μηριαίου <= -2 SD	Ευαισθησία 89%, Ειδικότητα 50%; ROC area 0.81.
Goemaere 1999	300	Ερωτηματολόγιο με 18 πιθανούς παράγοντες κινδύνου για οστεοπόρωση (φυλή, απώλεια ύψους, ηλικία, βάρος, κάπνισμα, καφεΐνη, αλκοόλ, γαλακτοκομικά προϊόντα, άσκηση, οικογενειακό ιστορικό, κ.α)	BMD Οσφυικής μοίρας ΣΣ, Αυχένα μηριαίου, Ισχίου	Οσφυική μοίρα ΣΣ: ROC 0.66 Αυχένas μηριαίου: ROC area 0.69; Ισχίο: ROC area 0.76.
Cadarette 2000	926	Ηλικία, βάρος, λήψη θεραπείας αποκατάστασης οιστρογόνων (ORAI)	BMD Ισχίου ή οσφυικής μοίρας ΣΣ <= -2.5	Ευαισθησία 95%, Ειδικότητα 41%.

απορρόφησης στα ούρα (υδροξυπυριδίνη, πυριδινολίνη, δεοξυπυριδινολίνη, τελοπεπτιδίο κολλαγόνου τύπου Ι) [112-114]. Αύξηση των τιμών στους δείκτες αυτούς θα δείξει το βαθμό οστικής παραγωγής ή απορρόφησης, με δυνατότητα παρακολούθησης της εξέλιξης της οστεοπόρωσης.

2.6.2 Απεικόνιση

Ο ακτινολογικός έλεγχος των οστών δεν είναι αξιόπιστη μέθοδος διάγνωσης της οστεοπόρωσης, γιατί αποκαλύπτει τη νόσο όταν έχει χαθεί το 30-50% της οστικής μάζας. Στην αρχή εμφανίζεται με αραίωση των οστικών δοκίδων και λέπτυνση του φλοιού. Η ακτινογραφία δίνει σημαντικές πληροφορίες μόνο όταν πλέον υπάρχουν οστεοπορωτικά κατάγματα.

Σήμερα είναι διαθέσιμες διάφορες τεχνικές για τη μέτρηση της οστικής πυκνότητας σε διάφορα σημεία του σκελετού [115]. Αυτές περιλαμβάνουν:

- **Διπλής ενέργειας απορροφησιομετρία ακτίνων X** (DEXA; Dual-energy x-ray absorptiometry): μέτρηση οστικής πυκνότητας σε αξονικό και περιφερικό σκελετό, σπονδυλική στήλη, ΠΧΚ, ισχίο
- **Μονής ενέργειας απορροφησιομετρία ακτίνων X** (SXA; single-energy X-ray absorptiometry): μέτρηση οστικής πυκνότητας σε ΠΧΚ και πτέρνα
- **Διπλής δέσμης απορροφησιομετρία** (DPA; dual photon absorptiometry) μέτρηση οστικής πυκνότητας σε ΟΜΣΣ, ισχίο ή ολόσωμη.
- **Μονής δέσμης απορροφησιομετρία** (SPA; single photon absorptiometry): μέτρηση οστικής πυκνότητας σε ΠΧΚ
- **Ποσοτική υπολογιστική τομογραφία** (QCT; Quantitative Computed Tomography): μέτρηση οστικής πυκνότητας σε ΟΜΣΣ ή ισχίο
- **Περιφερική ποσοτική υπολογιστική τομογραφία** (PQCT; peripheral QCT): μέτρηση οστικής πυκνότητας στο αντιβράχιο
- **Ποιοτικός υπερηχογραφικός έλεγχος** (QUS; Quantitative Ultrasound): μέτρηση οστικής πυκνότητας στην πτέρνα και το δάχτυλο

Η DEXA είναι μέθοδος εκλογής για τον προσδιορισμό της οστικής πυκνότητας (BMD – Bone Mineral Density) με αποδεκτά περιθώρια λάθους και αναπαραγώγιμα

αποτελέσματα. Επιτρέπει την ακριβή διάγνωση της οστεοπόρωσης, τον προσδιορισμό του κινδύνου κατάγματος και την παρακολούθηση των ασθενών που βρίσκονται υπό θεραπεία. Ο υπολογισμός της οστικής πυκνότητας με DXA είναι ανώδυνος, μη επεμβατικός και δεν απαιτεί τη χορήγηση αναισθησίας, ειδική δίαιτα πριν τη μέτρηση ή άλλου είδους προετοιμασία. Κατά τη διάρκεια της εξέτασης ο ασθενής είναι ξαπλωμένος και η όλη διαδικασία διαρκεί λιγότερο από 5 λεπτά. Επιπλέον το ποσό της ακτινοβολίας που εκπέμπει είναι πολύ μικρότερο από αυτό μιας απλής ακτινογραφίας θώρακος [116].

Η DEXA μετρά τη μέση συγκέντρωση της ανόργανης ουσίας του οστού στην περιοχή που υποβάλλεται σε έλεγχο, δίνοντας έτσι τη δυνατότητα υπολογισμού της οστικής πυκνότητας. Η DEXA χρησιμοποιεί ακτίνες X δύο διαφορετικών ενεργειακών επιπέδων για να προσδιορίσει την οστική μάζα. Αυτό επιτυγχάνεται χρησιμοποιώντας αφαιρετική τεχνική, εκμεταλλευόμενη τη διαφορετική απορρόφηση των ακτινών X μεταξύ των μαλακών ιστών και των οστικών δομών. Το πρόγραμμα του μηχανήματος έχει τη δυνατότητα να υπολογίσει αυτόματα την οστική πυκνότητα, διαιρώντας την οστική μάζα (g) με το εμβαδό της περιοχής ενδιαφέροντος (cm^2), γι' αυτό και η τιμή μέτρησης της BMD είναι g/cm^2 . Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για μετρήσεις σε οποιοδήποτε σημείο του σώματος, όμως η διάγνωση μπαίνει συνήθως με μετρήσεις του ισχίου ή της σπονδυλικής στήλης. Η πιθανότητα του να διαγνωστεί κάποιος με οστεοπόρωση ποικίλει και εξαρτάται από τον τύπο της μεθόδου που χρησιμοποιείται, το τμήμα του σώματος που εξετάζεται, τον τύπο του χρησιμοποιούμενου οστεοπυκνόμετρου κ.ά [116-118].

Αν και το BMD είναι μία απόλυτη τιμή μέτρησης, δεν χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της οστεοπόρωσης. Αντ' αυτού ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) έχει προσδιορίσει την απεικονιστική διάγνωση της οστεοπόρωσης με βάση την τιμή T-score. Με βάση τις συστάσεις του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (ΠΟΥ), οστεοπόρωση έχουμε όταν οι τιμές της οστικής πυκνότητας είναι περισσότερο από 2.5 τυπικές αποκλίσεις χαμηλότερες από τη μέση τιμή οστικής πυκνότητας νεαρών ατόμων του ίδιου φύλου και φυλής (δηλαδή $<-2.5\text{SD}$). Οστική πυκνότητα με T-score μεταξύ -1 και -2.5SD χαρακτηρίζεται ως οστεοπενία, ενώ τιμές $>-1\text{SD}$ θεωρούνται φυσιολογικές [117]. **(Πίνακας 10)**

Η αξονική τομογραφία χρησιμοποιείται για μετρήσεις στη σπονδυλική στήλη, στο αντιβράχιο ή την κνήμη. Το βασικό της πλεονέκτημα είναι ότι υπολογίζει την

αληθή ογκομετρική πυκνότητα, και όχι μόνο την πυκνότητα μιας συγκεκριμένης περιοχής όπως κάνει η DXA. Ωστόσο πρόκειται για ακριβή μέθοδο με μεγαλύτερη ποσότητα ακτινοβολίας και λιγότερο αναπαραγώγιμη.

Πίνακας 10. Ταξινόμηση οστικής πυκνότητας με βάση τις συστάσεις του ΠΟΥ

Ταξινόμηση	T-score
Φυσιολογικό	>-1
Οστεοπενία	-1 έως -2.5
Οστεοπόρωση	<-2.5
Σοβαρή οστεοπόρωση	<-2.5 και ≥1 κατάγματα

Ο ποιοτικός υπερηχογραφικός έλεγχος υπολογίζει την οστική μάζα μετρώντας την εξασθένιση του σήματος καθώς διέρχεται από το οστό ή την ταχύτητα με την οποία διασχίζει το οστό. Δεν μετρούν την οστική πυκνότητα και δεν είναι ακόμη ξεκάθαρο το κατά πόσο μπορούν να αξιολογήσουν την αρχιτεκτονική του οστού. Είναι μια τεχνική με χαμηλό κόστος, χωρίς ακτινοβολία και με τη δυνατότητα μεταφοράς. Ωστόσο βρίσκονται ακόμα υπό μελέτη για το κατά πόσο είναι χρήσιμοι στη διάγνωση της οστεοπόρωσης.

Μέχρι σήμερα η μέτρηση της οστικής πυκνότητας στην περιοχή του ισχίου ή της σπονδυλικής στήλης με τη χρήση της DEXA θεωρείται η πιο αξιόπιστη μέθοδος για την εκτίμηση της οστεοπόρωσης, δηλαδή για τη διάγνωση, την παρακολούθηση της εξέλιξης της νόσου και την αξιολόγηση της ανταπόκρισης στη θεραπεία [119, 120]. Ωστόσο, η μέτρηση BMD δε δίνει πληροφορίες για τη μικροαρχιτεκτονική του οστού (οστική παραγωγή και απορρόφηση) που είναι και βασικό στοιχείο του ορισμού της οστεοπόρωσης. Τιμές οστικής πυκνότητας <-2.5 SD, που σύμφωνα με την WHO θεωρούνται διαγνωστικές για οστεοπόρωση και άρα αποτελούν όριο για την έναρξη χορήγησης θεραπείας [121], αναγνωρίζουν μικρό μόνο ποσοστό των ατόμων που θα εμφανίσουν στην πραγματικότητα οστεοπορωτικά κατάγματα. Άρα απαιτούνται πιο εξειδικευμένοι δείκτες για την έγκαιρη διάγνωση της οστεοπόρωσης.

2.6.3 FRAX

Τα τελευταία χρόνια έχουν αναπτυχθεί αλγόριθμοι (FRAX) για την ακριβέστερη πρόβλεψη του 10ετούς κινδύνου εμφάνισης καταγμάτων ισχίου και

άλλων σημαντικών οστεοπορωτικών καταγμάτων (ΣΣ, αντιβράχιο, βραχιόνιο) [122]. Ο αλγόριθμος αυτός δίνει τον καταγματικό κίνδυνο με βάση κλινικούς παράγοντες ή συνδυασμό κλινικών παραγόντων και BMD. Αναπτύχθηκε από το Πανεπιστήμιο του Sheffield, μετά από εκτενείς μελέτες ασθενών σε Βόρεια Αμερική, Ευρώπη, Ασία και Αυστραλία [123, 124]. Η χρήση του εργαλείου είναι δυνατή σε άνδρες και γυναίκες, ηλικίας 40-90 ετών. Αυτή τη στιγμή είναι διαθέσιμο σε 53 χώρες, σε 28 διαφορετικές γλώσσες [123]. Ο αλγόριθμος FRAX για την εκτίμηση του καταγματικού κινδύνου αναπτύχθηκε για την Ελλάδα το 2012 από το Ελληνικό Ίδρυμα Οστεοπόρωσης και τη Σχολή Δημόσιας Υγείας.

Οι παράγοντες κινδύνου που συμπεριλαμβάνονται στον αλγόριθμο FRAX είναι οι [122]:

- Ηλικία
- Φύλο
- Δείκτης μάζας σώματος (ΔΜΣ)
- Προηγηθέν κάταγμα ευθραυστότητας
- Κάταγμα ισχίου των γονέων
- Κάπνισμα
- Παρατεταμένη από του στόματος χρήση κορτικοστεροειδών
- Ημερήσια κατανάλωση αλκοόλ >μονάδες
- Ρευματοειδής αρθρίτιδα

Επιπρόσθετα συμπεριλήφθηκαν και κάποιοι άλλοι παράγοντες δευτεροπαθούς οστεοπόρωσης:

- Μη αντιμετωπισθείς υπογοναδισμός σε άνδρες και γυναίκες (π.χ. ορχεκτομή, νευρογενής ανορεξία, χημειοθεραπεία για καρίνο του μαστού, υπολειτουργία της υπόφυσης)
- Φλεγμονώδης νόσος του εντέρου (νόσος Crohn και ελκώδης κολίτιδα)
- Παρατεταμένη ακινητοποίηση
- Μεταμόσχευση συμπαγών οργάνων
- Σακχαρώδης διαβήτης τύπου Ι
- Θυρεοειδοπάθειες

Η μέση οστική πυκνότητα του ισχίου μπορεί να προστεθεί επίσης, είτε ως Z-score ή T-score. Όταν συμπληρωθούν όλα τα πεδία το πρόγραμμα δίνει έναν αριθμό, ο οποίος αντιπροσωπεύει τον 10ετή κίνδυνο εμφάνισης οστεοπορωτικού κατάγματος.

Με βάση τις κατευθυντήριες οδηγίες, τα όρια για έναρξη θεραπείας προσαρμόζονται στο 2.5% για πιθανό κάταγμα ισχίου και 10% για άλλο μείζον οστεοπορωτικό κάταγμα. Τα ποσοστά διαφέρουν ελαφρά σε περιπτώσεις ασθενών άνω των 75, με το όριο στο 5% για κάταγμα ισχίου και 15% για άλλο μείζον κάταγμα.

2.7 Προσυμπτωματικός έλεγχος διαλογής

Ο προσυμπτωματικός έλεγχος διαλογής για την οστεοπόρωση βασίζεται στη μέτρηση BMD, συνήθως με DEXA, τα αποτελέσματα του οποίου χρησιμοποιούνται στη συνέχεια για υπολογισμό του καταγματικού κινδύνου. Μετρήσεις οστικής πυκνότητας στο ισχίο μπορούν να προβλέψουν τον κίνδυνο μελλοντικού κατάγματος στο ισχίο. Πολλοί οργανισμοί έχουν δημοσιεύσει συστάσεις για το screening της οστεοπόρωσης με βάση τα δεδομένα της βιβλιογραφίας.

2.7.1 Συστάσεις οργανισμών

Η U.S. Preventive Services Task Force (USPSTF) δημοσίευσε οδηγίες για προσυμπτωματικό έλεγχο διαλογής για την οστεοπόρωση τον Ιανουάριο του 2011. Η USPSTF είναι μία ανεξάρτητη ομάδα ειδικών που εξετάζουν συστηματικά τα δεδομένα αποτελεσματικότητας θεραπειών και μεθόδων screening και αναπτύσσουν οδηγίες για κλινικές υπηρεσίες πρόληψης [125].

Λαμβάνοντας υπόψη α) την ακρίβεια των παραγόντων κινδύνου για την ταυτοποίηση γυναικών που βρίσκονται σε αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης οστεοπόρωσης ή οστεοπορωτικού κατάγματος, β) την ακρίβεια των διαφόρων τεχνικών μέτρησης της οστικής πυκνότητας στην αναγνώριση γυναικών που μπορούν να ωφεληθούν από τη θεραπεία για την οστεοπόρωση και γ) την αποτελεσματικότητα των θεραπευτικών προσεγγίσεων στη μείωση του κινδύνου εμφάνισης οστεοπορωτικού κατάγματος, η USPSTF προχώρησε στις παρακάτω συστάσεις [125]:

1. Η USPSTF συνιστά τον τακτικό προσυμπτωματικό έλεγχο διαλογής για την οστεοπόρωση σε γυναίκες ηλικίας 65 ετών και άνω, καθώς και σε γυναίκες ηλικίας 60-64 ετών που έχουν αυξημένο κίνδυνο για εμφάνιση οστεοπορωτικών καταγμάτων. **(B recommendation)**

Η USPSTF βρήκε αρκετές αποδείξεις που στηρίζουν ότι ο κίνδυνος για οστεοπόρωση και κατάγματα αυξάνεται με την ηλικία και άλλους παράγοντες, ότι η μέτρηση οστικής πυκνότητας μπορεί να προβλέψει με ακρίβεια τον βραχυπρόθεσμο κίνδυνο για κατάγματα και ότι η θεραπεία ασυμπτωματικών γυναικών με οστεοπόρωση μειώνει την πιθανότητα εμφάνισης καταγμάτων. Η USPSTF συμπεραίνει ότι τα οφέλη του screening και της θεραπείας είναι σημαντικά για γυναίκες αυξημένου κινδύνου.

2. Η USPSTF δεν τάσσεται υπέρ ή κατά του τακτικού προσυμπτωματικού ελέγχου για την οστεοπόρωση σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες μικρότερες των 60 ετών ή σε γυναίκες 60-64 ετών που δεν έχουν αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης οστεοπορωτικών καταγμάτων. **(C recommendation)**

Η USPSTF έχει βρει αρκετά δεδομένα που αποδεικνύουν ότι ο έλεγχος γυναικών με χαμηλότερο κίνδυνο εμφάνισης οστεοπόρωσης ή κατάγματος μπορεί να συμβάλλει στην εύρεση επιπλέον γυναικών που ενδέχεται να είναι υποψήφιες για θεραπεία οστεοπόρωσης, αλλά θα απέτρεπε έναν μικρό μόνο αριθμό καταγμάτων. Η USPSTF τελειώνοντας επισημαίνει ότι δεν υπάρχει σαφής ένδειξη ότι τα οφέλη είναι περισσότερα από τους κινδύνους του screening και της θεραπείας, οπότε και δεν μπορεί να γίνει γενική σύσταση γι' αυτή την ηλικιακή ομάδα.

3. Η USPSTF συμπέρανε ότι τα μέχρι τώρα δεδομένα δεν είναι επαρκή για να αξιολογηθεί το κόστος-όφελος του screening για οστεοπόρωση στους άνδρες. **(I recommendation)**

Η USPSTF μελέτησε την επίπτωση της οστεοπόρωσης σε διάφορους πληθυσμούς και τον αριθμό ατόμων που χρειάζεται να ελεγχθούν για να προληφθεί ένα οστεοπορωτικό κάταγμα. Με βάση τις παρατηρήσεις της USPSTF βρέθηκε ότι γυναίκες ηλικίας 65-69 ετών έχουν 5.9-φορές περισσότερες πιθανότητες να

παρουσιάσουν οστεοπόρωση σε σχέση με γυναίκες 50-54 ετών. Η πιθανότητα είναι ακόμη μεγαλύτερη (14.3 φορές) σε γυναίκες 75-79 ετών. Τα οφέλη θεραπείας της οστεοπόρωσης είναι μεγαλύτερα σε γυναίκες με πιο αυξημένο καταγματικό κίνδυνο. Με βάση εκτιμήσεις από πρόσφατες μελέτες η ομάδα εργασίας υπολόγισε τον αριθμό καταγμάτων που θα προλαμβάνονταν μέσα σε 5 χρόνια από το screening. Για τις γυναίκες 55-59 ετών, χρειάζεται έλεγχος 4.338 γυναικών για πρόληψη 1 κατάγματος ισχίου και 1.338 για πρόληψη ενός κατάγματος σπονδυλικής στήλης. Ο αριθμός μειώνεται σημαντικά όσο αυξάνεται η ηλικία. Έτσι για πρόληψη ενός οστεοπορωτικού κατάγματος χρειάζεται έλεγχος σε 1.856 γυναίκες 60-64, 731 ηλικίας 65-69 και 143 σε ηλικίες 75-79. Η παρουσία επιπρόσθετων παραγόντων κινδύνου μειώνει τον αριθμό ατόμων που απαιτείται να εξεταστούν για πρόληψη ενός κατάγματος [126, 127].

Η USPSTF συμπεραίνει ότι: 1) Υπάρχουν επαρκή δεδομένα ότι ο κίνδυνος εμφάνισης οστεοπόρωσης και καταγμάτων αυξάνει με την ηλικία, 2) μέτρηση οστικής πυκνότητας με DEXA παρέχει δυνατότητα πρόβλεψης του καταγματικού κινδύνου, 3) αντιστεοπορωτική θεραπεία μειώνει τον κίνδυνο οστεοπορωτικών καταγμάτων και 4) απαιτούνται το λιγότερο 2 χρόνια μεταξύ συνεδριών ελέγχου BMD με DEXA [125, 126].

Αντίστοιχες οδηγίες δίνονται και από άλλους παρόμοιους οργανισμούς. Το 1998 ο IOF (International Osteoporosis Foundation), σε συνεργασία με άλλους οργανισμούς όπως η Αμερικανική Ακαδημία των Ορθοπαιδικών Χειρουργών, το Αμερικάνικο Κολέγιο Γυναικολογίας, ο Αμερικανικός σύλλογος Γηριατρικής, το Αμερικάνικο Κολέγιο Ακτινολογίας, το Αμερικάνικο Κολέγιο Ρευματολογίας, η Αμερικάνικη Εταιρία κλινικής ενδοκρινολογίας κ.ά., εισήγαγε οδηγίες για προσυμπτωματικό έλεγχο, συνιστώντας τον έλεγχο με μέτρηση BMD σε γυναίκες ηλικίας 65 ετών και άνω και σε νεώτερες μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που παρουσίασαν κάποιο κάταγμα ή έχουν άλλους παράγοντες κινδύνου. Το National Institutes of Health συνιστά προσυμπτωματικό έλεγχο διαλογής ανάλογα με την περίπτωση, σημειώνοντας ότι αυτός είναι απαραίτητος σε περιπτώσεις όπου θα βοηθήσει τον ασθενή στην απόφαση του να πάρει αντιστεοπορωτική αγωγή. Τέλος η International Society for Clinical Densitometry συνιστά έλεγχο οστικής πυκνότητας σε γυναίκες άνω των 65, άνδρες άνω των 70, άτομα με κατάγματα ευθραυστότητας ή συνοδές παθήσεις ή φάρμακα σχετιζόμενα με την οστεοπόρωση, γυναίκες υπό

ορμονική θεραπεία υποκατάστασης για παρατεταμένο χρόνο και οποιοδήποτε επιθυμεί να λάβει θεραπεία οστεοπόρωσης [126].

2.7.2 Κίνδυνοι του screening [125, 127]

Υπάρχουν αρκετοί πιθανοί κίνδυνοι που προκύπτουν από το screening. Οι σημαντικότεροι συνοψίζονται παρακάτω.

1. Έχει αναφερθεί ότι γυναίκες που διαγιγνώσκονται θετικές για οστεοπόρωση μετά από έναν προσυμπτωματικό έλεγχο μπορεί να υποφέρουν από φοβίες και αυξημένο άγχος.
2. Μερικοί ιατροί πιστεύουν ότι τα αποτελέσματα της μέτρησης της οστικής πυκνότητας θα αποτελέσουν κίνητρο για τις ασθενείς να αλλάξουν τρόπο ζωής (περισσότερη άσκηση, αλλαγή διατροφής κτλ) ώστε να μειώσουν τον κίνδυνο κατάγματος. Αντίθετα, οι γυναίκες που πληροφορούνται ότι δεν έχουν οστεοπόρωση θεωρούν ότι αυτό σημαίνει πως δεν πρέπει να λάβουν προληπτικά μέτρα, όπως το να αυξήσουν την πρόσληψη ασβεστίου ή να κόψουν το κάπνισμα.
3. Οι γυναίκες που υποβάλλονται σε προσυμπτωματικό έλεγχο έχουν περισσότερες πιθανότητες να ξεκινήσουν θεραπεία ορμονικής αποκατάστασης, από ότι οι γυναίκες που δε συμμετέχουν σε τέτοια προγράμματα.
4. Ο χρόνος, τα έξοδα και η έκθεση στην ακτινοβολία μετά από επανειλημμένους ελέγχους κατά τη διάρκεια της ζωής δεν έχουν ακόμη καθοριστεί.
5. Άλλοι πιθανοί κίνδυνοι προκύπτουν από ανακρίβειες και παρερμηνείες των αποτελεσμάτων της οστεοπυκνομετρίας. Οι κλινικοί μπορεί να δυσκολεύονται να ερμηνεύσουν τα αποτελέσματα με τέτοιο τρόπο ώστε να παράσχουν στους ασθενείς ακριβείς πληροφορίες σχετικά με την κατάστασή τους, λόγω του ότι υπάρχουν πολλές διαφορετικές τεχνικές μέτρησης της οστικής πυκνότητας και του ότι τα αποτελέσματα αναφέρονται σαν T-scores.

2.8 Θεραπεία Οστεοπόρωσης

Στόχος της θεραπείας της οστεοπόρωσης είναι η μείωση της απώλειας οστικής μάζας και η αύξηση της οστικής αναδόμησης, μειώνοντας έτσι τον κίνδυνο εμφάνισης οστεοπορωτικών καταγμάτων. Μαζί με την επαρκή λήψη ασβεστίου και βιταμίνης D και την άσκηση, έχουν προταθεί πολλοί φαρμακευτικοί παράγοντες για

τη θεραπεία της οστεοπόρωσης. Η επιλογή της θεραπείας πρέπει να είναι εξατομικευμένη και να λαμβάνει υπόψη την κλινική κατάσταση και τις ανάγκες του ασθενούς καθώς και να σταθμίζει τα πιθανά οφέλη και κινδύνους [125].

Τα φάρμακα για την οστεοπόρωση χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες: παράγοντες που μειώνουν την οστική απορρόφηση και αναβολικοί παράγοντες. Στην κατηγορία των παραγόντων που μειώνουν την οστική απορρόφηση περιλαμβάνονται τα οιστρογόνα, οι τροποποιητές των οιστρογονικών υποδοχέων και τα διφωσφονικά και όπως υποδηλώνει και το όνομά τους μειώνουν την οστική αποδόμηση και άρα διατηρούν τα επίπεδα BMD. Οι αναβολικοί παράγοντες περιλαμβάνουν την παραθορμόνη και την τεριπαρατίδη, οι οποίες επάγουν την οστική παραγωγή και άρα αυξάνουν το BMD. Το ρανελικό στρόντιο είναι ένας άλλος παράγοντας που μειώνει τον κίνδυνο καταγμάτων και δρα κυρίως μέσω της επίδρασής του στη μηχανική αντοχή των οστών [125].

2.8.1 Οιστρογόνα

Τα μειωμένα επίπεδα οιστρογόνων αποτελούν την κύρια αιτία της μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης. Η θετική επίδραση της θεραπείας υποκατάστασης με οιστρογόνα στην οστική πυκνότητα είναι παγιωμένη στη βιβλιογραφία. Η θεραπεία αυτή αφορά μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και χορηγείται για διατήρηση της οστικής μάζας και μείωση του κινδύνου καταγμάτων του ισχίου και της ΟΜΣΣ.

Ένας μεγάλος αριθμός μελετών έδειξαν ότι τα οιστρογόνα (οιστραδιόλη, οιστριόλη, οιστρόνη, μεστρανόλη, αιθινυλοιστραδιόλη κ.ά.) μειώνουν την οστική απορρόφηση και μειώνουν την πιθανότητα ανάπτυξης κατάγματος σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Το όφελος από τη χρήση οιστρογόνων είναι μεγαλύτερο σε γυναίκες που ξεκινούν τη θεραπεία αποκατάστασης νωρίς (2-3 έτη μετά την εμμηνόπαυση ή και νωρίτερα αν είναι δυνατόν). Στη μελέτη των Nachtigall et al, που έγινε σε 164 γυναίκες για 10 χρόνια, διαπιστώθηκε ότι στην ομάδα που βρισκόταν υπό θεραπεία ορμονικής αποκατάστασης δεν παρουσιάστηκε κανένα κάταγμα, ενώ στην ομάδα που λάμβανε placebo παρατηρήθηκαν 7 κατάγματα [128]. Το 1992 οι Lufkin et al [129] δημοσίευσαν μια μελέτη που έγινε σε 78 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ηλικίας 47-75 ετών με ένα ή περισσότερα προϋπάρχοντα σπονδυλικά κατάγματα, όπου ελέγχθηκε η αποτελεσματικότητα της

συνδυασμένης χορήγησης οιστρογόνων διαδερμικά και προγεστερόνης από το στόμα. Παρατηρήθηκε μείωση της επίπτωσης των νέων σπονδυλικών καταγμάτων (8 νέα κατάγματα στην ομάδα που έλαβε οιστρογόνα έναντι 20 νέων καταγμάτων στην ομάδα με το placebo), αλλά όχι και του αριθμού των ασθενών που εμφάνισαν τα κατάγματα (7 γυναίκες έναντι 12, αντίστοιχα). Η μελέτη των Komulainen et al το 1998 που πραγματοποιήθηκε σε 464 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες διαπίστωσε μία μείωση στη συχνότητα των μη σπονδυλικών καταγμάτων σε όσες γυναίκες λάμβαναν θεραπεία ορμονικής αποκατάστασης [130]. Τέλος σε μία πρόσφατη μετανάλυση 22 μελετών, που συμπεριέλαβαν συνολικά 43637 γυναίκες, προτάθηκε ότι παρά το γεγονός ότι η ορμονική θεραπεία υποκατάστασης με οιστρογόνα θεωρείται αποτελεσματική στην πρόληψη της οστεοπόρωσης, θεωρείται βιώσιμη επιλογή μόνο για γυναίκες υψηλού κινδύνου στις οποίες όλες οι υπόλοιπες υπάρχουσες θεραπείες δεν ενδείκνυνται [131]. Τα δεδομένα είναι ασαφή όσον αφορά τη μακροχρόνια χρήση αυτών των σκευασμάτων σε περιεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ή μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες πριν την ηλικία των 50.

Όσον αφορά τις παρενέργειες που σχετίζονται με τη χρήση οιστρογόνων, έχει αποδειχθεί πως η συνδυασμένη χορήγηση οιστρογόνων και προγεστερόνης αυξάνει τον κίνδυνο εμφράγματος του μυοκαρδίου. Άλλοι κίνδυνοι είναι η αύξηση της πιθανότητας εμφάνισης εγκεφαλικού επεισοδίου, φλεβοθρόμβωσης και καρκίνου του μαστού. Είναι επίσης γνωστό ότι η χορήγηση οιστρογόνων χωρίς την παράλληλη χορήγηση προγεστερόνης αυξάνει σημαντικά τον κίνδυνο καρκίνου του ενδομητρίου. Τέλος, κάποιες γυναίκες μπορεί να παρουσιάσουν ευαισθησία των μαστών, αιμορραγία από τον κόλπο και αλλαγές διάθεσης.

2.8.2 Τροποποιητές των οιστρογονικών υποδοχέων (SERMs)

Δύο είναι οι κυριότεροι και συχνότερα χρησιμοποιούμενοι SERMs σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες: η ραλοξιφαίνη και η ταμοξιφαίνη. **(Εικόνα 27)** Ανάλογα με τη συγκέντρωσή τους μπορούν να έχουν ρόλο αγωνιστή ή ανταγωνιστή των οιστρογόνων. Η δράση τους στο οστό είναι ανάλογη αυτής των οιστρογόνων. Δρουν μέσω της υψηλής συγγένειας πρόσδεσης με τους οιστρογονικούς υποδοχείς και τη ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης. Όσον αφορά τον οστικό μεταβολισμό και την οστεοπόρωση, μειώνουν τη δράση των οστεοκλαστών οδηγώντας έτσι σε περιορισμό της οστικής απορρόφησης. Σε αντίθεση με τα οιστρογόνα οι SERMs

δεν έχουν επιπτώσεις στο μαστό ή στη μήτρα, εξαλείφοντας έτσι τον αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης καρκίνου του μαστού ή της μήτρας που σχετίζονται με τη χρήση οιστρογονικής θεραπείας [132].

Η ραλοξιφαίνη ήταν ο πρώτος τροποποιητής οιστρογονικών υποδοχέων που εγκρίθηκε για τη θεραπεία και την πρόληψη της μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης. Έχει την ιδιότητα να μειώνει την απώλεια οστού. Στη βιβλιογραφία υπάρχουν περιορισμένα δεδομένα σχετικά με την επίδραση της ταμοξιφαίνης στον κίνδυνο εμφάνισης κατάγματος. Η μεγαλύτερη μελέτη, η MORE (Multiple Outcomes of Raloxifene Evaluation study), περιέλαβε 7.705 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ηλικίας 31-80 ετών. Αυτές οι γυναίκες πληρούσαν τα κριτήρια του WHO για την οστεοπόρωση (χαμηλή

οστική πυκνότητα ή παρουσία σπονδυλικών καταγμάτων). Μετά από θεραπεία 3 ετών, οι γυναίκες που λάμβαναν ραλοξιφαίνη είχαν σημαντικά μειωμένο κίνδυνο για σπονδυλικά κατάγματα σε σχέση με την ομάδα του placebo (RR 0.59; CI 0.50-0.70) [133]. Ο κίνδυνος για κατάγματα σε άλλα τμήματα του σώματος δε μειώθηκε σε σημαντικό βαθμό. Σε μια άλλη μελέτη παρατηρήθηκε επίσης διατήρηση του BMD και μείωση του ετήσιου κινδύνου εμφάνισης νέων καταγμάτων σπονδυλικής στήλης σε ασθενείς που λάμβαναν 60 mg ραλοξιφαίνης σε σχέση με την ομάδα placebo [134].

Οι συχνότερες παρενέργειες περιλαμβάνουν εξάψεις, οίδημα και μυϊκές κράμπες. Η μόνη δυνητικά σοβαρή παρενέργεια που έχει αναφερθεί είναι η σχεδόν τριπλάσια αύξηση του σχετικού κινδύνου φλεβικού θρομβοεμβολικού επεισοδίου.

2.8.3 Διφωσφονικά

Τα διφωσφονικά είναι συνθετικά ανάλογα του πυροφωσφορικού που συνδέονται με κρυστάλλους υδροξυαπατίτη του οστού και δρουν καταστέλλοντας την οστεοκλαστική δραστηριότητα μέσω αναστολής της φαρνεσυλικής πυροφωσφορικής συνθάσης, ένα ένζυμο στο μονοπάτι της HMG-CoA αναγωγής. (Εικόνα 28) Τα

διφωσφονικά χρησιμοποιούνται ευρέως στη θεραπεία της στεοπόρωσης. Οι τέσσερις σημαντικότεροι παράγοντες αυτής της κατηγορίας που χρησιμοποιούνται στην κλινική πράξη είναι το ζολενδρονικό, η ρισενδρονάτη, αλενδρονάτη και ιβανδρονάτη. [135]. Τα διφωσφονικά οδηγούν σε ταχεία και σημαντική μείωση της οστικής αποδόμησης, με το μέγιστο αποτέλεσμα να παρατηρείται σε 3–6 μήνες και να διατηρείται για τουλάχιστον 10 χρόνια με συνεχή θεραπεία [136].

Τα διφωσφονικά έχουν ελεγχθεί σε πολλές κλινικές μελέτες και έχει αποδειχθεί ότι μειώνουν τα σπονδυλικά κατάγματα και αυξάνουν μέτρια την οστική μάζα της ΣΣ. Η αρχική έγκριση της χρήσης διφωσφονικών στις ΗΠΑ βασίστηκε σε μελέτες διάρκειας 3–4 ετών. Ωστόσο κάποιες μελέτες έχουν συνεχιστεί για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, με την αλενδρονάτη, τη ρισενδρονάτη και το ζολενδρονικό οξύ να δείχνουν αποτελεσματικότητα για 10 [137, 138], 7 [139] και 6 χρόνια αντίστοιχα [140].

Όσον αφορά την επίδραση των διφωσφονικών σε συγκεκριμένους τύπους καταγμάτων, μια μετα-ανάλυση 11 τυχαιοποιημένων μελετών που συμπεριέλαβαν 12855 γυναίκες οδήγησε στο συμπέρασμα ότι η αλενδρονάτη μειώνει σημαντικά τον κίνδυνο για σπονδυλικά κατάγματα (RR= 0.52; 95% CI, 0.43-0.65), για κατάγματα του αντιβραχίου (RR= 0.48; 0.29-0.78), για κατάγματα του ισχίου (RR= 0.63; 0.43-0.92) και για άλλα μη σπονδυλικά κατάγματα (RR= 0.51; 0.38-0.69) [141]. Τα οφέλη της θεραπείας

Παράγοντας	R1 αλυσίδα	R2 πλάγια αλυσίδα
Ετινδρονάτη	-OH	-CH ₃
Κλοδρονάτη	-Cl	-Cl
Τιλουδρονάτη	-H	-S-
Παμιδρονάτη	-OH	-CH ₂ -CH ₂ -NH ₂
Νεριδρονάτη	-OH	-(CH ₂) ₅ -NH ₂
Ολπαδρονάτη	-OH	-(CH ₂) ₂ N(CH ₃) ₂
Αλενδρονάτη	-OH	-(CH ₂) ₃ -NH ₂
Ιμπανδρονάτη	-OH	-CH ₂ -CH ₂ N
Ριζεδρονάτη	-OH
Ζολενδρονικό	-OH

Εικόνα 28. Διφωσφονικά και δομή των πλάγιων αλυσίδων τους.

της οστεοπόρωσης είναι μεγαλύτερα σε γυναίκες υψηλού κινδύνου για εμφάνιση καταγμάτων, απ' ότι σε γυναίκες με χαμηλό κίνδυνο. Η μελέτη FIT (Fracture Intervention Trial) συμπεριέλαβε 2 ομάδες συμμετεχόντων: 2027 γυναίκες υψηλού κινδύνου με T-scores $\geq$ -1.6 και προϋπάρχοντα σπονδυλικά κατάγματα και 4.432 γυναίκες με συγκρίσιμα T-scores, αλλά χωρίς προϋπάρχοντα σπονδυλικά κατάγματα

[142]. Μετά από 3 χρόνια θεραπείας, στις γυναίκες υψηλού κινδύνου η αλενδρονάτη μείωσε τον κίνδυνο κατάγματος ισχίου (1.1% vs. 2.2 % στην ομάδα placebo; σχετικός κίνδυνος [RR], 0.49 [0.23-0.99]). Στις γυναίκες που δεν παρουσίαζαν προϋπάρχοντα σπονδυλικά κατάγματα, μόνο μια υποομάδα ασθενών που είχαν ένα T-score μικρότερο από -2.5 παρουσίασε σημαντική μείωση σε όλα τα κατάγματα μετά τη θεραπεία από 19.6% σε 13.1% (RR= 0.64; 0.50-0.82). Αντίθετα η αλενδρονάτη δεν είχε αποτέλεσμα σε γυναίκες χαμηλότερου κινδύνου (T-scores μεταξύ -1.6 και -2.5) [142]. Αυτά τα αποτελέσματα αποδεικνύουν ότι η θεραπεία συμβάλλει θετικά κυρίως σε γυναίκες με περισσότερους παράγοντες κινδύνου για κάταγμα (μεγαλύτερη ηλικία, πολύ χαμηλή οστική πυκνότητα ή προϋπάρχοντα κατάγματα).

Παρατεταμένη χρήση των διφωσφονικών έχει συνδεθεί με δύο σπάνιες αλλά πιθανές παρενέργειες: οστεονέκρωση της γνάθου και άτυπα κατάγματα μηριαίου [143]. Έτσι προέκυψε η ιδέα της αναστολής χορήγησης θεραπείας («drug holiday»), προκειμένου να μειωθεί ο κίνδυνος εμφάνισης των παρενεργειών αυτών. Ο FDA συνιστά την επανεκτίμηση της ανάγκης συνέχισης της θεραπείας με διφωσφονικά σε ασθενείς που τα λαμβάνουν πέρα των 3-5 χρόνων [144]. Ο FDA πρότεινε ότι διακοπή της θεραπείας δε θα έπρεπε να γίνεται σε ασθενείς υψηλού κινδύνου. Γενικά συστήνεται:

- Ασθενείς χαμηλού κινδύνου: δεν απαιτείται θεραπεία με διφωσφονικά. Εάν για κάποιο λόγο έχουν χορηγηθεί διφωσφονικά, θα πρέπει να διακοπούν και να μην ξαναδοθούν εκτός και ο ασθενής πληρεί στο μέλλον τα κριτήρια έναρξης θεραπείας.
- Ασθενείς ήπιου κινδύνου: θεραπεία διφωσφονικών για 3–5 χρόνια και στη συνέχεια επανεκτίμηση για διακοπή της θεραπείας. Η διακοπή μπορεί να διαρκέσει μέχρι να παρατηρηθεί σημαντική μείωση στο BMD ή ο ασθενής εμφανίσει κάταγμα.
- Ασθενείς μέτριου κινδύνου: θεραπεία διφωσφονικών για 5-10 χρόνια και στη συνέχεια επανεκτίμηση για διακοπή της θεραπείας για 3–5 χρόνια ή μέχρι να παρατηρηθεί σημαντική μείωση του BMD ή εάν προκληθεί στο μεταξύ οστεοπορωτικό κάταγμα.
- Ασθενείς αυξημένου κινδύνου (οστεοπορωτικό κάταγμα, κορτικοστεροειδή, σημαντικά χαμηλό BMD): θεραπεία διφωσφονικών για 10 χρόνια και στη συνέχεια επανεκτίμηση για διακοπή της θεραπείας για 1-2 χρόνια ή μέχρι να

παρατηρηθεί σημαντική μείωση του BMD ή εάν προκληθεί στο μεταξύ οστεοπορωτικό κάταγμα. Θεραπεία με άλλους παράγοντες θα πρέπει να δίνεται κατά το χρονικό διάστημα αποχής από τα διφωσφονικά (π.χ. ραλοξιφαίνη ή τεριπαρατίδη)

Άλλες ανεπιθύμητες ενέργειες που έχουν αναφερθεί αφορούν συμπτώματα από το γαστρεντερικό, όπως οισοφαγίτιδα, στένωση του οισοφάγου και έλκη του οισοφάγου.

2.8.4 Παραθορμόνη

Η ανθρώπινη ανασυνδιασμένη παραθορμόνη ή αλλιώς τεριπαρατίδη είναι ένας αναβολικός παράγοντας ο οποίος αυξάνει τη BMD μέσω ενεργοποίησης της οστικής παραγωγής και αναστολή της οστικής αποδόμησης [127]. Ο αναλυτικός μηχανισμός δράσης της έχει αναφερθεί στα προηγούμενα κεφάλαια. Χορηγείται μέσω καθημερινών ενέσεων και συνιστάται για χρήση μέχρι 2 χρόνια, λόγω του ότι δεν έχουν πραγματοποιηθεί μακροχρόνιες μελέτες που να ελέγχουν την ασφάλεια και αποτελεσματικότητα της εν λόγω αγωγής. Για τη διατήρηση ή αύξηση της BMD, η θεραπεία με τεριπαρατίδη ακολουθείται συνήθως από χορήγηση διφωσφονικών [145]. Μελέτες σε αρουραίους έχουν αναδείξει ανάπτυξη οστεοσαρκώματος μετά από χρήση τεριπαρατίδης, οπότε και αντενδείκνυται η χορήγησή της σε ασθενείς με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης οστεοσαρκώματος ή ιστορικό ακτινοθεραπείας [127].

Μια μεγάλη τυχαιοποιημένη μελέτη ελέγχου σε 2532 ασθενείς μελέτησε την επίδραση της παραθορμόνης στον κίνδυνο εμφάνισης καταγμάτων μετά από 18 μήνες χορήγησης σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με T-score ≤ -3.0 και απουσία σπονδυλικών καταγμάτων ή T-score ≤ -2.5 και 1-4 κατάγματα σπονδυλικής στήλης [146]. Σε γυναίκες με προηγηθέν κάταγμα, η παραθορμόνη μείωσε την πιθανότητα εμφάνισης νέου κατάγματος ΣΣ από 2.1% σε 0.7% (RR=0.32, 95% CI, 0.14–0.75). Ανάμεσα σε όλους τους συμμετέχοντες δεν παρατηρήθηκε διαφορά στον κίνδυνο νέων μη σπονδυλικών καταγμάτων (RR=0.97, 95% CI, 0.71–1.33) [146].

Μία άλλη τυχαιοποιημένη καλής ποιότητας μελέτη, εκτίμησε τον καταγματικό κίνδυνο σε άνδρες με οστεοπόρωση 11 μήνες μετά τη θεραπεία με τεριπαρατίδη [147]. Τα αποτελέσματα ανέδειξαν μια τάση για μείωση του κινδύνου καταγμάτων σπονδυλικής στήλης (RR=0.49, 95% CI, 0.22–1.09) και άλλων εντοπίσεων

(RR=0.51, 95% CI, 0.10–2.48) μετά από χορήγηση τεριπαρατίδης, αλλά τα αποτελέσματα δεν έφτασαν στατιστική σημαντικότητα λόγω του μικρού αριθμού παρατηρήσεων [147, 148].

Από τα παραπάνω φαίνεται πως η παραθορμόνη και το ανάλογό της (τεριπαρατίδη) δύνανται να μειώσουν τον κίνδυνο εμφάνισης σπονδυλικών καταγμάτων, αλλά μέχρι σήμερα τα αποτελέσματά της στα μη σπονδυλικά κατάγματα είναι ασαφή [149].

2.8.5 Καλσιτονίνη

Η καλσιτονίνη είναι ένα πολυπεπτίδιο που αναστέλει την οστεοκλαστική λειτουργία μέσω διαδικασίας σύνδεσης σε συγκεκριμένους υποδοχείς. Συνθετικές ή προερχόμενες από σολωμό παρασκευές είναι διαθέσιμες για χορήγηση σε ενέσιμη μορφή ή ως ενδορινικά spray. Η καλσιτονίνη είχε αρχικά εγκριθεί για χρήση σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με οστεοπόρωση (τουλάχιστον 5 χρόνια σε εμμηνόπαυση) [127, 145]. Φαίνεται να μειώνει το οξύ μετακαταγματικό άλγος, όμως τα δεδομένα σχετικά με τη μείωση του καταγματικού κινδύνου είναι περιορισμένα [150]. Η κλινική δοκιμή PROOF (the Prevent Recurrence of Osteoporotic Fractures trial) έδειξε ότι η καλσιτονίνη ως θεραπευτικός παράγοντας για τη μετεμμηνοπαυσιακή οστεοπόρωση μείωσε ελαφρά τον κίνδυνο καταγμάτων ΣΣ σε σχέση με το placebo (RR=0.79, 95% CI, 0.62–1.00) [151]. Η επίδραση της καλσιτονίνης στα μη σπονδυλικά κατάγματα είναι ακόμη πιο αμφίβολη με τα αποτελέσματα διαφόρων μελετών να μη φτάνουν στατιστικώς σημαντική διαφορά (RR=0.52, 95% CI, 0.22–1.23) [151-153].

Πρόσφατα αναφέρθηκε επίσης συσχέτιση μεταξύ της χρήσης καλσιτονίνης και καρκινογένεσης [154]. Ο συνδυασμός της ασαφούς αποτελεσματικότητας της θεραπείας με καλσιτονίνη και οι ανεπιθύμητες ενέργειες οδήγησαν τον FDA να ψηφίσει ενάντια της συνέχισης χορήγησης καλσιτονίνης σε ασθενείς με οστεοπόρωση.

2.8.6 Ρανελικό στρόντιο

Το ρανελικό στρόντιο (Strontium ranelate), ένα άλας στρόντιου του ρανελικού οξέως, είναι ένας θεραπευτικός αντιστεοπορωτικός παράγοντας. Ο παράγοντας

αυτός είναι ιδιαίτερος καθώς δρα ταυτόχρονα και στις δύο φάσεις της οστικής αναδόμησης, μειώνοντας την οστική απορρόφηση και αυξάνοντας την οστική παραγωγή [155]. Συγκεκριμένα, όσον αφορά την οστεοπαραγωγική του δράση, το στρόντιο αυξάνει την *in vitro* διαφοροποίηση προγονικών κυττάρων σε οστεοβλάστες καθώς, επάγει τη δράση και επιβίωση των οστεοβλαστών και επηρεάζει την ισοροπία οστεοβλαστών-οστεοκλαστών τόσο *in vitro* όσο και *in vivo*. Στη διαδικασία οστικής απορρόφησης, το στρόντιο μειώνει τη διαφοροποίηση και δραστηριότητα των οστεοκλαστών, αυξάνοντας παράλληλα την απόπτωσή τους [156].

Ανάλυση βιοψιών οστίτη ιστού σε ασθενείς που λάμβαναν ρανελικό στρόντιο για τουλάχιστον 3 χρόνια έδειξαν σημαντική βελτίωση στη μικροαρχιτεκτονική του ιστού, τόσο σε σπογγώδες όσο και σε συμπαγές οστό. Παρομοίως, μελέτη της γεωμετρίας του ισχίου σε άτομα που λάμβαναν θεραπεία >5 έτη έδειξε καλύτερη οστική δομή και αυξημένη μηχανική δύναμη του οστού στο ισχίο [156].

Κλινικά φαίνεται να μειώνει τα ποσοστά εμφάνισης οστεοπορωτικών καταγμάτων σε όλες τις θέσεις του σκελετού (σπονδυλική στήλη και περιφερικό σκελετό), με αποτελεσματικότητα ανεξαρτήτως της βαρύτητας της νόσου και της ηλικίας των ασθενών. Ενδείκνυται στην θεραπεία της οστεοπόρωσης σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες για τη μείωση του κινδύνου σπονδυλικών καταγμάτων και καταγμάτων ισχίου [157]. Η συνιστώμενη δόση είναι ένας φακελλίσκος των 2 g μία φορά ημερησίως από το στόμα.

Ανησυχίες σχετικά με την ασφάλεια του φαρμάκου στο καρδιαγγειακό οδήγησαν σε περιορισμό της χρήσης του στρόντιου μόνο σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ή άνδρες με σοβαρή οστεοπόρωση και αυξημένο κίνδυνο κατάγματος [158]. Από τον Αύγουστο του 2017 η εταιρία παραγωγής του Protelos® (ρανελικό στρόντιο 2gr) διέκοψε τη διάθεσή του σε παγκόσμιο επίπεδο, λόγω της περιορισμένης χρήσης του φαρμάκου [159].

2.8.7 Denosumab

Το denosumab είναι ένα ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα (IgG2) που στοχεύει και συνδέεται με υψηλή συγγένεια και ειδικότητα με το RANKL, προλαμβάνοντας την ενεργοποίηση του υποδοχέα του, του RANK, στην επιφάνεια των πρόδρομων και ώριμων οστεοκλαστών. Η παρεμπόδιση της αλληλεπίδρασης

RANKL/RANK αναστέλλει τον σχηματισμό, τη λειτουργία και την επιβίωση των οστεοκλαστών, μειώνοντας έτσι την οστική απορρόφηση [160]. Σε αντίθεση με τα διφωσφονικά που απλά αναστέλλουν τη δράση των οστεοκλαστών, το denosumab οδηγεί σε κυτταρικό θάνατο των οστεοκλαστών. Χορηγείται υποδορίως κάθε 6 μήνες [161]. **(Εικόνα 29)**

Το denosumab φαίνεται να μειώνει σημαντικά τον κίνδυνο σπονδυλικών και μη σπονδυλικών καταγμάτων και ενδείκνυται για την θεραπεία της οστεοπόρωσης σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με αυξημένο κίνδυνο καταγμάτων, τη θεραπεία οστικής απώλειας που σχετίζεται με ορμονικό αποκλεισμό σε άνδρες με καρκίνο του προστάτη ή σε ασθενείς όπου έχουν αποτύχει ή αντενδείκνυνται οι άλλοι αντιοστεοπορωτικοί παράγοντες [162]. Η πολυκεντρική, παγκόσμια, τυχαιοποιημένη μελέτη «Fracture Reduction Evaluation of Denosumab in Osteoporosis» (FREEDOM) έδειξε ότι 36 μήνες θεραπείας

με denosumab μείωσε σημαντικά τον κίνδυνο σπονδυλικών και μη σπονδυλικών καταγμάτων σε γυναίκες ηλικίας 60-90 ετών με διάγνωση οστεοπόρωσης [163]. Γενικά δε χρησιμοποιείται ως πρώτη γραμμή θεραπείας της οστεοπόρωσης, αλλά μπορεί να φανεί χρήσιμη σε ασθενείς αυξημένου κινδύνου για εμφάνιση μελλοντικού κατάγματος.

3. Γενετικό υπόβαθρο της οστεοπόρωσης

Τα τελευταία χρόνια το ενδιαφέρον στρέφεται προς το γενετικό υπόβαθρο της οστεοπόρωσης και την ανεύρεση μοριακών δεικτών που θα μπορούσαν να προβλέψουν την πιθανότητα εμφάνισης οστεοπόρωσης και καταγμάτων. Η στροφή αυτή οφείλεται στο γεγονός ότι η οστεοπόρωση έχει αναγνωριστεί πλέον ως πολυπαραγοντική νόσος και ότι η εμφάνισή της είναι αποτέλεσμα διαφόρων γονιδιακών πολυμορφισμών σε συνδυασμό με κλινικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες [164].

Μελέτες σε δίδυμα και οικογένειες έδειξαν ότι οι γενετικοί παράγοντες παίζουν καθοριστικό ρόλο στην παθογένεια της ασθένειας και είναι κληρονομήσιμοι στο 40%-85% των περιπτώσεων. Γενετικοί παράγοντες φαίνεται να καθορίζουν σημαντικά την οστική πυκνότητα, την επιρρέπεια σε κατάγματα ευθραυστότητας, καθώς και την ίδια τη μικροαρχιτεκτονική του οστίτη ιστού [165]. Έχει αναφερθεί ότι η οστική πυκνότητα καθορίζεται κατά 50-85% από γονιδιακούς παράγοντες, ενώ η επιρρέπεια σε κατάγματα κατά 25-68% [166, 167]. Επιπλέον οι Andrew T et al. (2005) έδειξαν ότι το ρίσκο κατάγματος Colles σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες είναι κληρονομικό, ιδιαίτερα σε κατάγματα που εμφανίζονται πριν την ηλικία των 70 ετών [168].

Η πρώτη αναγνώριση ότι γονιδιακοί παράγοντες σχετίζονται με την ευθραυστότητα των οστών έγινε τη δεκαετία του 1990 μέσω της μελέτης μονογονιδιακών συνδρόμων με διαταραγμένο σκελετικό φαινότυπο όπως η ατελής οστεογένεση (διαταραχή στα γονίδια COL1A1 και COL1A2) και η οστεοπέτρωση (ανωμαλία στον T Cell Immune Regulator 1-TCIRG1) [169]. Το 2001, βρέθηκε ότι το μονοπάτι του Wnt εμπλέκεται στη ρύθμιση της οστικής αναδόμησης, ανακάλυψη που κατέστη δυνατή μέσω μελέτης σπάνιων νοσημάτων (π.χ. σύνδρομο οστεοπόρωσης-ψευδογλοιώματος: μεταλλάξεις lipoprotein receptor-related protein 5-LRP5, σκληροστέωση: ελλείματα στη σκληροστίνη-SOST). Πιο πρόσφατα, μελέτη σε άτομα με ακραίους φαινότυπους της οστεοπόρωσης, όπως η ιδιοπαθής νεανική οστεοπόρωση και η σχετιζόμενη με την εγκυμοσύνη οστεοπόρωση, έχουν φέρει στο προσκήνιο τους παράγοντες WNT1 and PLS3 ως σημαντικούς ρυθμιστές της οστικής ισχύος [170, 171].

Η έλευση ευρέων μελετών συσχέτισης συνολικού γονιδιώματος (GWAS; genome-wide association studies) επέτρεψε την περαιτέρω διερεύνηση του γενετικού υποβάθρου της οστεοπόρωσης. Ενδεικτικά αναφέρονται δύο από τις

πρώτες μεγάλες GWAS μελέτες το 2008 [172, 173] που αναγνώρισαν πέντε σημαντικούς γενετικούς τόπους που σχετίζονται με τη BMD, τέσσερις από τους οποίους ήταν ήδη γνωστοί ή ύποπτοι για την εμπλοκή τους στην οστεοπόρωση (RANKL, OPG, ESR1, LRP5). Από τότε έχουν πραγματοποιηθεί περισσότερες από είκοσι GWAS για τη διερεύνηση της συσχέτισης γενετικών παραγόντων με τη BMD ή τον καταγματικό κίνδυνο, οδηγώντας σε αναγνώριση τουλάχιστον 66 γενετικών τόπων που σχετίζονται με τη ρύθμιση της μέσης οστικής πυκνότητας [164]. Γονίδια και σηματοδοτικά μονοπάτια που έχουν μελετηθεί διεξοδικά αναφορικά με την εμπλοκή τους στην παθογένεια της οστεοπόρωσης είναι: ο υποδοχέας α του οιστρογόνου (ERα gene), ο υποδοχέας της βιταμίνης D (VDR gene), το κολλαγόνο τύπου I A1 (COL1A1 gene), το μονοπάτι του αυξητικού παράγοντα μετασχηματισμού β1 (TGF-β1), το μονοπάτι του Wnt, ο LRP-5 (lipoprotein receptor-related protein 5 gene), η ιντερλευκίνη 6 (IL-6), η απολιποπρωτεΐνη E (ApoE) και ο υποδοχέας 2 του παράγοντα TNF (TNFR2) [174, 175].

Η τροποποίηση των περιβαλλοντικών παραγόντων μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην πρόληψη καταγμάτων και επιπλοκών. Η κατανόηση των γενετικών παραγόντων μπορεί όμως να οδηγήσει σε ακόμα καλύτερα αποτελέσματα, μέσω χρήσης των γενετικών δεδομένων στην ανάπτυξη εξατομικευμένων θεραπειών, που μπορούν να χρησιμοποιηθούν τόσο για την πρόληψη της οστεοπόρωσης σε άτομα υψηλού κινδύνου, όσο και την στοχευμένη και αποτελεσματική θεραπεία των σχετιζόμενων με την οστεοπόρωση επιπλοκών.

Στη συνέχεια θα γίνει αναφορά στα σημαντικότερα σηματοδοτικά μονοπάτια και γονίδια στόχους που εμπλέκονται στην παθογένεια της οστεοπόρωσης.

3.1 Σηματοδοτικό μονοπάτι TGF-β

Η υπερικογένεια του TGF-β είναι μια ομάδα πολυλειτουργικών πεπτιδίων που ελέγχουν τον πολλαπλασιασμό, τη διαφοροποίηση και πολλές άλλες λειτουργίες σε διάφορους τύπους κυττάρων. Περιλαμβάνει περισσότερους από 30 αυξητικούς παράγοντες συμπεριλαμβανομένων των TGF-β, των ακτιβινών (A, B) και ινχιμπινών (A, B), των οστικών μορφογενετικών πρωτεϊνών (BMPs), των αυξητικών παραγόντων διαφοροποίησης (GDFs; Growth Differentiation Factors), των προερχόμενων από τη γλοία νευροτροφικών παραγόντων (GDNF; Glia-derived

Neurotrophic Factors), Nodal, Lefty και τη Müllerian Inhibiting Substance (MIS) [176].
(Εικόνα 29)

Τα σημαντικότερα μέλη του σηματοδοτικού μονοπατιού του TGF-β είναι [177]:

- Η οικογένεια των TGF-β: Υπάρχουν τρεις ισομορφές του TGF-β, ο TGF-β1, ο TGF-β2 και ο TGF-β3. Ο TGF-β εκφράζεται σε αφθονία στο οστό. Παράγεται από τις οστεοβλάστες και ενσωματώνεται στη θεμέλια ουσία των οστών. Κατά τη φάση απορρόφησης της οστικής αναδόμησης, ο TGF-β απελευθερώνεται στην ενεργή του μορφή και εμπλέκεται στη ρύθμιση πληθώρας λειτουργιών στον οστίτη ιστό. Ο TGF-β1 είναι αυτός που μελετάται συνήθως λόγω του ότι αποτελεί την κύρια ισομορφή του TGF-β στο οστό.
- Υποδοχείς TGF-β: Τα περισσότερα μέλη των TGF-β υποδοχέων δρουν μέσω του σχηματισμού συμπλόκων δύο διαφορετικών τύπων υποδοχέων κινάσης σερίνης θρεονίνης: του υποδοχέα τύπου I 50-55 kDa και του υποδοχέα τύπου II 75 kDa. Κάθε είδος προσδέτη συνδέεται με ένα συγκεκριμένο υποδοχέα τύπου II. Στα θηλαστικά έχουν αναγνωρισθεί 7 υποδοχείς τύπου I και 5 τύπου II.
- SMADs: Οι SMADs είναι πρωτεΐνες που δρουν ως αγγελιοφόροι στο μονοπάτι του TGF-β. Συνολικά έχουν αναγνωρισθεί οκτώ διαφορετικές SMAD πρωτεΐνες (SMAD1- SMAD8). Χωρίζονται σε 3 επιμέρους υποομάδες ανάλογα με τη δομή και τη λειτουργία τους: στις περιοριζόμενες από το μονοπάτι SMADs (R-SMADs), τις κοινές μεσολαβητικές SMADs (Co-SMADs) και τις ανασταλτικές SMADs (I-SMADs) [178].
- BMP: Οι οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες είναι μία ομάδα αυξητικών παραγόντων που συγκροτούν μια ομάδα μορφογενετικών σημάτων, συντονίζοντας την ανάπτυξη και τη διατήρηση της αρχιτεκτονικής των ιστών σε όλο το σώμα. Ιδιαίτερα σημαντικός είναι ο ρόλος τους στη διατήρηση του χόνδρινου και του οστίτη ιστού. Οι υποκινητές των BMP-2 και BMP-4 περιέχουν αλληλουχίες πρόσδεσης του μεταγραφικού παράγοντα Runx2, ο οποίος ρυθμίζει την οστεοβλαστογένεση καθώς και την λειτουργία των ώριμων οστεοβλαστών.

Ligand	Type II R	Type I R	R-Smad	Co-Receptor	Regulating Molecules (sharing direct interaction with ligand)	
TGF-β	TGF-β RII	ALK-5 ALK-2 ALK-1	Smad2/3 Smad1/5/8	Betaglycan (TGF-β2+) Endoglin (ALK-1 specific) CD109	α ₂ -Macroglobulin BAMBI/NMA♦ Biglycan Cripto♦ Decorin	KCP/Crim 2 LAP Soluble Betaglycan Soluble TGF-β RII
Activin	Act RII/IIB	ALK-4 ALK-2	Smad2/3 Smad1/5/8		Activin AC/BC/AE/CE BAMBI/NMA♦ Cripto DAN FLRG	Endoglin Follistatin Inhibin: Betaglycan♦ KCP/Crim 2 Soluble Act RII/IIB
Inhibin	Act RII/IIB BMP RII/IIB	--	--	Betaglycan+		
BMP	BMP RII/IIB	ALK-1 ALK-2 ALK-3 ALK-6	Smad1/5/8	RGM-A/-B/-C	BAMBI/NMA♦ Chordin:Tsg Endoglin FLRG Follistatin Gremlin Inhibin: Betaglycan♦ KCP/Crim 2	Nodal: BMP-7 Noggin Noggin: SOST PRDC Soluble ALK-3 SOST USAG-1
	Act RII/IIB	ALK-4 ALK-5 ALK-7 ALK-2	Smad2/3 Smad1/5/8			
GDF	BMP RII	ALK-5 ALK-6	Smad2/3 Smad1/5/8	Cripto (GDF-1/3)+	DAN Follistatin Propeptide (GDF-8,11)	
	Act RII/IIB	ALK-4 ALK-5 ALK-6	Smad2/3 Smad1/5/8			
Nodal	Act RII/IIB	ALK-4 ALK-7	Smad2/3	Cripto+	BMP-7: Nodal Cerberus	DAN Lefty
Lefty	Act RII/IIB	--	--	Cripto (+Nodal)+		
MIS	MIS RII	ALK-2 ALK-3 ALK-6	Smad1/5/8		Abbreviations: MIS: Müllerian Inhibiting Substance BAMBI: BMP and Activin Membrane-Bound Inhibitor KCP: Kielin/Chordin-like Protein FLRG: Follistatin-Related Gene	ALK: Activin-Like Kinase Tsg: Twisted Gastrulation PRDC: Protein Related to DAN and Cerberus SOST: Sclerostin USAG-1: Uterine Sensitization-Associated Gene-1
te: The GDNF family utilizes a Receptor Tyrosine Kinase (RET) for signal transduction and is not included in the chart above.				Key: + Required ♦ Membrane-bound		

Εικόνα 30. Υπεροικογένεια TGF-β. Δίνονται συνοπτικά τα μέλη της υπεροικογένειας του TGF-β, μαζί με τους αντίστοιχους υποδοχείς τους και αλληλεπιδράσεις με άλλα μόρια.

Οι συνδέτες της υπεροικογένειας του TGF-β σχηματίζουν διμερή τα οποία συνδέονται με ετεροδιμερή σύμπλοκα υποδοχέων αποτελούμενα από υπομονάδες τύπου I και II με περιοχές κινασών σερίνης/θρεονίνης. Μετά τη σύνδεση με τον προσδέτη, ο υποδοχέας τύπου II φωσφορυλιώνει τον υποδοχέα τύπου I, ξεκινώντας έτσι το σηματοδοτικό μονοπάτι των Smad. Στους περισσότερους κυτταρικούς

τύπους ενεργοποιούνται πρώτα οι Smad2 και Smad3. Εναλλακτικά μπορεί να ενεργοποιηθούν οι Smad1 και Smad5. Οι ενεργοποιημένες Smad πρωτεΐνες συνδέονται με τη Smad4 και μεταφέρονται στον πυρήνα, όπου ενεργοποιούν επιπρόσθετους μεταγραφικούς παράγοντες, ρυθμίζοντας έτσι την έκφραση του γονιδίου στόχου [179]. **(Εικόνα 31)** Άλλες πρωτεΐνες, όπως διαλυτοί ή μεμβρανικοί υποδοχείς, μπορούν επίσης να επηρεάσουν τη σηματοδότηση του TGF-β.

Τέλος να αναφερθεί ότι το μονοπάτι του TGF-β μπορεί να ενεργοποιήσει ένα μεγάλο αριθμό σηματοδοτικών μονοπατιών σχηματίζοντας ένα ευρύ και πολύπλοκο δίκτυο σηματοδότησης. Για παράδειγμα οι Smads αλληλεπιδρούν με το μονοπάτι Wnt pathway (μέσω των μεταγραφικών παραγόντων Lef/TCF και της β-κατενίνης), το μονοπάτι του Hedgehog (μέσω των μεταγραφικών παραγόντων Gli) και το

μονοπάτι Hippo (μέσω των TAZ και YAP) [180, 181]. Άλλα μονοπάτια που ενεργοποιούνται από τον TGF- β ανεξάρτητα από τις Smad είναι τα Ras/MAPK, PI 3-K/Akt, p38, JNK και RhoA/ROCK [179]. Μελέτες έχουν δείξει ότι ο TGF- β 1 παίζει καθοριστικό ρόλο στην ανάπτυξη και διατήρηση του σκελετού. Έχει προταθεί ότι ο TGF- β 1 δρα ως συνδετικός παράγοντας μεταξύ των διαδικασιών οστικής παραγωγής και απορρόφησης. Επιπλέον γονίδια του σηματοδοτικού μονοπατιού του TGF- β έχουν μελετηθεί εκτενώς σε σχέση με την πιθανή εμπλοκή τους στην παθογένεση της οστεοπόρωσης. Η σημασία του TGF- β 1 φαίνεται από πειραματικές μελέτες σε επίμυες. Σε TGF- β 1 knockout ποντίκια παρατηρήθηκε σημαντικά μειωμένη οστική μάζα και ελαστικότητα του οστού. Μεταλλάξεις στον TGF- β 1 μπορούν να οδηγήσουν σε εμφάνιση του συνδρόμου Camurati-Engelmann, το οποίο χαρακτηρίζεται από αυξημένη BMD κυρίως στα μακρά οστά των άνω και κάτω άκρων [182]. Ο υποδοχέας III του TGF- β (TGF β R3) φαίνεται να ρυθμίζει τη βιολογική λειτουργία του BMP2. Σε μοριακό επίπεδο η ειδική για τη SMAD E3 ubiquitin-protein ligase (SMURF1) συνδέεται με το RUNX2 και αναστέλει τη μεταγραφή του γονιδίου της SMAD6 gene transcription, ενώ η SMAD1 έχει θετική επίδραση εμποδίζοντας την αλληλεπίδραση του SMURF1 με το RUNX2 [183].

Πολλά μέλη της υπεροικογένειας του TGF- β έχουν προταθεί ως γονίδια στόχοι στην παθογένεση της οστεοπόρωσης, συμπεριλαμβανομένων των TGF- β 1, BMP-2, BMP-4 και SOST [176]. Πολυμορφισμοί του TGF- β 1 έχουν αναγνωριστεί σε ασθενείς με οστεοπόρωση; G(-1639)-A, C(-1348)-T, C(-765)-insC, T(29)-C, G(74)-C, 713-8delC, C(788)-T, and T(816-20)-C [184]. Κάποιοι από αυτούς τους πολυμορφισμούς σχετίζονται με αυξημένα επίπεδα TGF- β 1 στον ορό και χαμηλή οστική μάζα [185], ενώ άλλοι καθιστούν τους ασθενείς η ανταποκρινόμενους στη θεραπεία με βιταμίνη D [186]. Μία άλλη μελέτη αναγνώρισε μονονουκλεοτιδικούς πολυμορφισμούς σε αρκετά από τα μέλη του μονοπατιού του TGF- β (TGFB1, TGFB2, SMAD2, SMAD3, SMAD4 και SMAD7) σε ασθενείς με οστεοπόρωση [187]. Η ακριβής δράση αυτών των πολυμορφισμών δεν έχει ακόμα εξακριβωθεί. Τέλος και οι BMP φαίνεται να σχετίζονται με την οστεοπόρωση καθώς αποτελούν κύριους ρυθμιστές της ομοιοστασίας του οστού. Πολυμορφισμοί στο BMP-2 έχουν συσχετισθεί με χαμηλή οστική πυκνότητα και αυξημένη επίπτωση καταγμάτων, ενώ ένας πολυμορφισμός στο BMP-4 φαίνεται να επηρεάζει την οστική πυκνότητα του ισχίου σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες [176].

3.2 Σηματοδοτικό μονοπάτι OPG-RANK-RANKL

Το RANKL είναι μία τύπου II μεμβρανική πρωτεΐνη και αποτελεί μέλος της οικογένειας του παράγοντα νέκρωσης των όγκων (TNF). Έχει αναγνωρισθεί ως σημαντικός παράγοντας ρύθμισης του ανοσιακού συστήματος καθώς και των διαδικασιών οστικής παραγωγής και αποδόμησης. Ουσιαστικά είναι ένα γονίδιο ρύθμισης της απόπτωσης, προσδέτης του RANK και ελεγκτής του κυτταρικού πολλαπλασιασμού μέσω ρύθμισης των επιπέδων των Id4, Id2 και cyclin D1. [188, 189] Το RANKL εκφράζεται σε διάφορους ιστούς και όργανα, συμπεριλαμβανομένων των σκελετικών μυών, του θύμου, του γαστρεντερικού, των οστεοβλαστών και άλλων [189].

Το RANK (Receptor activator of nuclear factor-κB) είναι επίσης μέλος της οικογένειας του παράγοντα νέκρωσης των όγκων (TNF) που εκφράζεται από τις πρόδρομες και ώριμες μορφές των οστεοκλαστών [190]. Η αλληλεπίδραση του RANK με τον προσδέτη του RANKL έχει αναγνωρισθεί ως το τελικό μονοπάτι ρύθμισης της διαδικασίας οστικής αποδόμησης [190]. Σύνδεση του RANKL στον υποδοχέα RANK στην επιφάνεια των πρόδρομων οστεοκλαστών επάγει τη διαφοροποίηση, πολλαπλασιασμό και επιβίωση των οστεοκλαστών [191].

Το τρίτο μέλος του συστήματος αυτού είναι η οστεοπροτεγερίνη (OPG). Η OPG, γνωστή επίσης και ως ανασταλτικός παράγοντας οστεοκλαστογένεσης (OCIF), ή μέλος 11B της υπεροικογένειας του παράγοντα νέκρωσης των όγκων (TNFRSF11B), είναι μια πρωτεΐνη που κωδικοποιείται στο γονίδιο TNFRSF11B στους ανθρώπους [192]. Η OPG είναι μία βασική γλυκοπρωτεΐνη αποτελούμενη από 401 αμινοξέα διατεταγμένα σε 7 δομικούς τομείς [193]. Συνδεόμενη με το RANKL, η OPG εμποδίζει την ενεργοποίηση του παράγοντα NF-κB (που γίνεται μέσω του RANK) ο οποίος αποτελεί σημαντικό μεταγραφικό παράγοντα γονιδίων που συμμετέχουν στην ανοσιακή απάντηση, φλεγμονή και κυτταρική επιβίωση και πολλαπλασιασμό. Στο οστό η οστεοπροτεγερίνη παράγεται από οστεοβλάστες και δρα δεσμεύοντας τον RANKL, εμποδίζοντας έτσι την πρόσδεσή του και ενεργοποίηση του υποδοχέα του RANK. **(Εικόνα 32)** Η OPG μπορεί μέσω αυτής της αλληλεπίδρασης α) να μειώσει την παραγωγή των οστεοκλαστών, αναστέλλοντας τη διαφοροποίηση των προγονικών κυττάρων των οστεοκλαστών σε ώριμες οστεοκλάστες και β) να ρυθμίσει την οστική απορρόφηση από τις οστεοκλάστες in vitro και in vivo. Η έκφραση της OPG ρυθμίζεται στις οστεοβλάστες όχι μόνο από

κυτταροκίνες, ορμόνες και αυξητικούς παράγοντες, αλλά επίσης από το μονοπάτι του Wnt/ β -κατενίνης [194]. Το μονοπάτι αυτό συμμετέχει επίσης στη ρύθμιση της οστεοβλαστικής παραγωγής του οστίτη ιστού και τη διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών κυττάρων σε οστεοβλαστες. Το μονοπάτι Jagged1/Notch1 επηρεάζει αρνητικά την παραγωγή των οστεοκλαστών τόσο άμεσα στα προγονικά κύτταρα των οστεοκλαστών όσο και έμμεσα επηρεάζοντας τον λόγο OPG/RANKL στα κύτταρα του στρώματος [194]. **(Εικόνα 32)**

Ο σημαντικός ρόλος του συστήματος OPG/RANKL/RANK στην οστική απορρόφηση έχει αποδειχθεί σε πολλές *in vitro* και *in vivo* μελέτες. RANKL knockout ποντίκια δεν είχαν καθόλου οστεοκλάστες και εμφάνισαν σοβαρή οστεοπέτρωση [195]. Από την άλλη μεριά, επίμυες με έλλειψη γονιδίου OPG εμφάνισαν γενικευμένη οστεοπόρωση λόγω αυξημένης δραστηριότητας του RANKL και άρα αυξημένης οστικής απορρόφησης [196].

Χορήγηση ανασυνδυασμένης OPG σε φυσιολογικά ποντίκια οδήγησε σε αύξηση της οστικής πυκνότητας στη μετάφυση της κνήμης και του άπω μηριαίου [192].

Ο οστεοπροστατευτικός ρόλος της OPG στους ανθρώπους έχει αποδειχθεί σε μελέτες ατόμων με νεανική νόσο του Paget ομόζυγων για μεταλλάξεις της OPG.

Διαγραφή στο γονίδιο της OPG σε αυτή τη νόσο οδηγεί σε αυξημένο οστικό μεταβολισμό, οστεοπενία και κατάγματα [197]. Επιπλέον, κάποιοι ασθενείς με ιδιοπαθή υπερφωσφατασία, μια αυτοσωμική υπολειπόμενη διαταραχή του οστού κατά την οποία τα προσβληθέντα παιδιά παρουσιάζουν αυξημένο οστικό

μεταβολισμό και δυσπλασία των μακρών οστών και κύφωση, έχουν μεταλλάξεις αποσιώπησης στο εξόνιο 3 της OPG [198].

Διαταραχές στο λόγο OPG και RANKL εμφανίζονται σε περιπτώσεις μείωσης των οιστρογόνων, υπερπαραθυρεοειδισμό και άλλες παθήσεις που σχετίζονται με αυξημένη οστική απορρόφηση. Ο RANKL εκφράζεται επίσης σε λεμφοκύτταρα και ινοβλάστες της αρθρικής μεμβράνης και μπορεί να σχετίζεται με την οστική απώλεια που παρατηρείται σε φλεγμονώδεις παθήσεις. Η ανακάλυψη του μονοπατιού RANK/RANKL/OPG και η εμπλοκή του στην παθογενεση της οστεοπόρωσης παρέχει πιθανούς στόχους για νέες θεραπείες της οστεοπόρωσης [199].

Αναφορικά με την εμπλοκή του συστήματος OPG/RANK/RANKL, μεγάλες GWAS και μεταanalύσεις έδειξαν συσχέτιση των πολυμορφισμών του RANK με οστεοπορωτικά κατάγματα και τη μέση οστική πυκνότητα [200]. Επιπλέον, η παρατήρηση ότι μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί του γενετικού τόπου του OPG σχετίζονται με τη BMD σε πολλές μελέτες GWASs και μελέτες διδύμων επιβεβαίωσαν το ρόλο του TNFRSF11B (OPG) ως γονιδίου στόχου για την οστεοπόρωση [200]. Μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί του OPG φαίνεται να εμπλέκονται στην αύξηση του κινδύνου για εμφάνιση μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης. Σε μια σειρά μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών στη Σλοβενία, οι πολυμορφισμοί 209 G→A και 245 T→G στην περιοχή του εκκινητή της OPG επηρέασαν αρνητικά τις τιμές BMD στην ΟΜΣΣ, αλλά όχι στον αυχένα του μηριαίου [201]. Μια άλλη γενετική μελέτη στη Δανία έδειξε ότι οι πολυμορφισμοί 163 A→G και 245 T→G στον εκκινητή του γονιδίου OPG ήταν πιο συχνοί σε ασθενείς με κατάγματα σπονδυλικής στήλης [202]. Άλλες μελέτες εκτίμησης των πολυμορφισμών της OPG σε σειρές ασθενών από διαφορετικά εθνικά υπόβαθρα δεν έδειξαν σαφή συσχέτιση μεταξύ των γονότυπων της OPG και της BMD, των οστεοπορωτικών καταγμάτων και δεικτών οστικής αποδόμησης [203-205].

3.3 Μονοπάτι του Wnt

Οι Wnts αποτελούν μια οικογένεια 19 γλυκοπρωτεϊνών που παίζουν καθοριστικό ρόλο σε πληθώρα κυτταρικών διεργασιών συμπεριλαμβανομένων του κυτταρικού πολλαπλασιασμού, πολικότητας, μετανάστευσης και διαφοροποίησης. Οι πρωτεΐνες Wnt δρουν μέσω των υποδοχέων Frizzled, οι οποίοι με τη σειρά τους μεταδίδουν το σήμα μέσω δύο ξεχωριστών σηματοδοτικών μονοπατιών: το κανονικό

σηματοδοτικό μονοπάτι της Wnt/β-κατενίνης ή το μη κανονικό μονοπάτι. Το κανονικό σηματοδοτικό μονοπάτι της Wnt οποίο περιλαμβάνει το σχηματισμό συμπλέγματος μεταξύ των πρωτεϊνών Wnt με τους υποδοχείς Frizzled (FZD) και τον υποδοχέα LRP5 ή LRP6. Στο μη κανονικό μονοπάτι Wnt, οι υποδοχείς FZD ενεργοποιούν τις ετεροδιμερείς G πρωτεΐνες και αυξάνουν τη συγκέντρωση του ενδοκυττάριου ασβεστίου μέσω μηχανισμών σχετιζόμενων με την πρωτεϊνική κινάση C ή επάγουν αλλαγές στον κυτταροσκελετό της ακτίνης μέσω της Rho- ή c-Jun N-τελική κινάσης (JNK) [206].

Στα κύτταρα του οστίτη ιστού, δρα το κανονικό μονοπάτι της Wnt/β-κατενίνης [207]. Όταν δεν υπάρχει σύνδεση μεταξύ υποδοχέων και Wnt πρωτεϊνών, η β-κατενίνη φωσφορυλιώνεται μέσω της GSK-3β (glycogen-synthase kinase-3β), γεγονός που οδηγεί σε αποδόμηση της β-κατενίνης στο προτεόσωμα. Αντίθετα, σύνδεση των Wnt στους υποδοχείς Frizzled και στους συνυποδοχείς LRP -5 και -6, οδηγεί σε αναστολή της GSK-3β και σταθεροποίηση της β-κατενίνης. Στη συνέχεια η β-κατενίνη μετατοπίζεται στον πυρήνα όπου θα συνδεθεί με τον παράγοντα 4 των κυττάρων T (T cell factor 4) ή τον συνδετικό παράγοντα 1 της λεμφικής ενίσχυσης (lymphoid enhancer binding factor 1) για να ρυθμίσει τη διαδικασία της μεταγραφής [208]. **(Εικόνα 33)**

Το σηματοδοτικό μονοπάτι της Wnt/β-κατενίνης είναι απαραίτητο για την διαφοροποίηση των οστεοβλαστών και την οστική παραγωγή. Η Wnt/β-catenin σηματοδότηση ενεργοποιεί την παραγωγή οστεοβλαστών μέσω διαφοροποίησης των μεσεγχυματικών κυττάρων σε κύτταρα της οστικής σειράς, ενώ ταυτόχρονα αναστέλει την ενεργοποίηση σημάτων που θα έσπρωχναν τα MSCs προς χόνδρινες σειρές ή σειρές λιπώδους ιστού [209]. Συγκεκριμένα το Wnt/β-catenin μονοπάτι επάγει την περαιτέρω διαφοροποίηση των κυττάρων που εκφράζουν Osterix1 (Osx1) σε οστεοπαραγωγά κύτταρα. Επιπλέον, οι Wnts προλαμβάνουν την απόπτωση των ώριμων οστεοβλαστών παρατείνοντας έτσι το χρόνο επιβίωσής τους μέσω μονοπατιών που σχετίζονται ή όχι με τη β-κατενίνη [210]. Τέλος, έχει προταθεί ότι ένας από τους μηχανισμούς με τον οποίο το κανονικό Wnt μονοπάτι επάγει την οστική παραγωγή είναι μέσω ενεργοποίησης του σημαντικότερου για την οστεογένεση μεταγραφικού παράγοντα, του RUNX2 [211]. Ο RUNX2 (runt domain transcription factor family) παίζει καθοριστικό ρόλο στην οστεογένεση, μέσω επίδρασης στα μεσεγχυματικά κύτταρα προς διαφοροποίησή τους σε οστεοβλάστες.

Η ρύθμιση του RUNX2 μέσω του μονοπατιού Wnt/β-κατενίνης φαίνεται να είναι εξίσου σημαντική με τη σηματοδότηση του μονοπατιού των BMP, που επίσης ενεργοποιούν το γονίδιο RUNX2 [211]. **(Εικόνα 34)**

Το μονοπάτι Wnt/β-κατενίνης επιδρά επίσης στη λειτουργία των οστεοκλαστών, αναστέλλοντας τη διαφοροποίηση των οστεοκλαστών μέσω ενεργοποίησης της παραγωγής και έκκρισης OPG. Εκτός από την έμμεση αυτή δράση του μέσω ενεργοποίησης της OPG, το μονοπάτι Wnt δρα και άμεσα στις οστεοκλάστες, με τρόπο που δεν είναι ακόμα πλήρως κατανοητός. Πάντως έχειδειχθεί ότι εξάλειψη της β-κατενίνης στις οστεοκλάστες οδηγεί σε αύξηση του αριθμού των ώριμων οστεοκλαστών με αποτέλεσμα την συζημένη οστική απορρόφηση και μείωση της οστικής μάζας [212].

Το μη κανονικό σηματοδοτικό μονοπάτι δρα κυρίως κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης, αλλά μπορεί να ενεργοποιηθεί από ορισμένες Wnts προκειμένου να

επάγει την διαφοροποίηση των οστεοβλαστών και οστική παραγωγή. Είναι επίσης σημαντικό να αναφερθεί ότι το μη κανονικό μονοπάτι μπορεί να επάγει την αποδόμηση της β-κατενίνης και άρα να αντισταθεί στη δράση του κανονικού Wnt μονοπατιού [208].

Η σημασία του σηματοδοτικού μονοπατιού Wnt/β-κατενίνης έχει διαπιστωθεί μέσω εκτεταμένων μελετών σκελετικών και μη σκελετικών διαταραχών που συμβαίνουν όταν υπάρχουν αλλαγές στο μονοπάτι αυτό. Μεταλλάξεις στους υποδοχείς της Wnt οδηγούν σε σημαντικές αλλαγές στην οστική μάζα [207]. Μεταλλάξεις ενεργοποίησης του συνυποδοχέα LRP-5 που εμποδίζουν τη σύνδεσή του με αναστολείς του Wnt οδηγούν σε αυξημένη οστική μάζα. Αντίθετα, μεταλλάξεις στον LRP-5 που εμποδίζουν τη σηματοδότηση Wnt/β-catenin οδηγούν σε οστεοπενία. Έχει επίσης δειχθεί ότι χρήση γλυκοκορτικοειδών οδηγεί σε αναστολή της Wnt/β-catenin στο οστό, εξηγώντας έτσι τις παρατηρήσεις μειωμένης οστεοβλαστογένεσης μετά από έκθεση σε γλυκοκορτικοειδή [213]. Επομένως, το μονοπάτι αυτό θα μπορούσε να χρησιμεύσει ως θεραπευτικός στόχος για την ανάπτυξη φαρμάκων προς αντιμετώπιση της προκαλούμενης από στεροειδή οστεοπόρωσης [214].

Η δράση των Wnt ρυθμίζεται από εξωκυττάριους ανταγωνιστές, διαμεμβρανικούς ρυθμιστές ή ενδοκυττάρια σήματα [215]. Οι ανταγωνιστές των Wnt μπορούν να δράσουν είτε συνδεδεμένοι άμεσα με τη Wnt είτε παρεμποδίζοντας την αλληλεπίδραση της Wnt με τον υποδοχέα Frizzled ή τους συνυποδοχείς LRP-5/6. Ανταγωνιστές που αλληλεπιδρούν άμεσα με τη Wnt είναι ο ανασταλτικός παράγοντας της Wnt (WIF; Wnt inhibitory factor), εκκρινόμενες πρωτεΐνες σχετιζόμενες με τους υποδοχείς Frizzled και Cerberus. Ανταγωνιστές που αλληλεπιδρούν με το μονοπάτι σε επίπεδο συνυποδοχέων LRP-5/6 περιλαμβάνουν τη σκληροστίνη και τον Dickkopf (Dkk-1). Οι ανταγωνιστές αυτοί έχουν μελετηθεί σε βάθος για τη δράση τους στα κύτταρα της οστεοβλαστικής σειράς και την οστική παραγωγή [208, 215].

Σκληροστίνη. Παράγωγο του γονιδίου *sost*. Εκφράζεται από οστεοβλάστες, οστεοκύτταρα και οστεοκλάστες. Είναι ανταγωνιστής των Wnt και των BMP. Η σύνθεση της σκληροστίνης σε οστεοβλάστες και οστεοκύτταρα αναστέλλεται μετά από χορήγηση παραθορμόνης, γεγονός που οδηγεί σε αυξημένη ενεργοποίηση του

μονοπατιού Wnt συμβάλλοντας έτσι στην αναβολική δράση της παραθορμόνης [216].

Dickkopf. Η οικογένεια Dickkopf αποτελείται από πέντε μέλη: Dkk-1, -2, -3, -4, και μια μοναδική σχετιζόμενη με το Dkk-3 πρωτεΐνη που αποτελεί προϊόν του soggy. Το Dkk-1 συνδέεται με τον συνυποδοχέα των Wnt LRP-5/6 και επάγει την ενδοκυττάρωσή του διακόπτοντας έτσι το μονοπάτι των Wnt. Μεταλλάξεις στον LRP-5 που εμποδίζουν όποιες αλληλεπιδράσεις με το Dkk-1 οδηγούν σε αυξημένη οστική μάζα. Υπερέκφραση του Dkk-1 σε διαγονιδιακά πειραματόζωα προκαλεί οστεοπενία ενώ απενεργοποίηση του Dkk-1 οδηγεί σε αυξημένη οστική παραγωγή και οστική μάζα [215].

Cerberus. Το γονίδιο Cerberus (CER1) αρχικά περιγράφηκε το 1999, ως ένας πολυσθενής αυξητικός παράγοντας που δρα στον εξωκυτταρικό χώρο και δεσμεύεται στο Nodal, στις BMP και στις Wnt πρωτεΐνες σε ανεξάρτητες θέσεις κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης. Μαζί με τις δομικά όμοιες πρωτεΐνες Dan και DRM/Gremlin, αποτελούν μια ομάδα ανταγωνιστών των οστικών μορφογενετικών πρωτεϊνών που δεσμεύονται απευθείας στις BMPs και απενεργοποιούν τη δράση τους. Αποτελεί ένα νέο υποψήφιο γονίδιο για την εμφάνιση οστεοπόρωσης [178].

Εικόνα 34. Κύρια σηματοδοτικά μονοπάτια που σχετίζονται με τη ρύθμιση του Runx2. Το μονοπάτι του Wnt παίζει κεντρικό ρόλο στην ενεργοποίηση του Runx2 μέσω σταθεροποίησης της β-κατενίνης. Αυτή η διαδικασία αναστέλλεται από τον DKK1/2. Η αναστολή μπορεί να αντιστραφεί από το μονοπάτι των BMP μέσω των SMADs και της ιντερλευκίνης-11. Τα BMP έχουν και άλλες άμεσες δράσεις στον Runx2. Τα μονοπάτια του TGF-β και του Notch εμπλέκονται επίσης στη ρύθμιση του Runx2. (Rutkovskiy A et al. Med Sci Monit Basic Res. 2016)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Β

ΣΚΟΠΟΣ

Η οστεοπόρωση και τα σχετιζόμενα με αυτήν κατάγματα αποτελούν μια σημαντική αιτία νοσηρότητας, θνησιμότητας και επιβάρυνσης του συστήματος υγείας παγκοσμίως, αφού συχνά οδηγούν σε μόνιμες αναπηρίες, μακροχρόνια παραμονή σε κέντρα αποκατάστασης ή θάνατο. Η σπουδαιότητα και η συνεχώς αυξανόμενη συχνότητα της οστεοπόρωσης σε παγκόσμιο επίπεδο υπογραμμίζει την επιτακτική ανάγκη για ανάπτυξη στρατηγικών πρόληψης, έγκαιρης διάγνωσης και αποτελεσματικότερης θεραπείας για τη διατήρηση της υγείας, της ποιότητας ζωής και της αυτονομίας των ηλικιωμένων ατόμων.

Η οστεοπόρωση συνήθως δε διαγιγνώσκεται σε πρώιμο στάδιο, γεγονός που οφείλεται αφενός στο ότι παραμένει ασυμπτωματική για μεγάλο χρονικό διάστημα και αφετέρου στο ότι δεν υπάρχει επαρκής και αποτελεσματικός προσυμπτωματικός έλεγχος. Στις περισσότερες περιπτώσεις η διάγνωση τίθεται μετά το πρώτο κάταγμα. Μέχρι σήμερα η μέτρηση της οστικής πυκνότητας (BMD) στην περιοχή του ισχίου ή της σπονδυλικής στήλης με τη χρήση της DEXA είναι η πιο αξιόπιστη μέθοδος για την εκτίμηση της οστεοπόρωσης, δηλαδή για τη διάγνωση, την παρακολούθηση της εξέλιξης της νόσου και την αξιολόγηση της ανταπόκρισης στη θεραπεία. Ωστόσο, η μέτρηση BMD δε δίνει πληροφορίες για τη μικροαρχιτεκτονική του οστού (οστική παραγωγή και απορρόφηση) που είναι και βασικό στοιχείο του ορισμού της οστεοπόρωσης. Τιμές οστικής πυκνότητας $<-2.5SD$, που σύμφωνα με τον WHO θεωρούνται διαγνωστικές για οστεοπόρωση και άρα αποτελούν όριο για την έναρξη χορήγησης θεραπείας, αναγνωρίζουν μικρό μόνο ποσοστό των ατόμων που θα εμφανίσουν στην πραγματικότητα οστεοπορωτικά κατάγματα. Οπότε εύκολα καταλαβαίνει κανείς ότι απαιτούνται πιο αποτελεσματικοί δείκτες για την έγκαιρη διάγνωση της οστεοπόρωσης.

Στα πλαίσια, λοιπόν, της προσπάθειας για αναγνώριση ασθενών σε αυξημένο κίνδυνο για εμφάνιση της νόσου και των σχετιζομένων με αυτή καταγμάτων ευθραυστότητας πέρα από τη μέτρηση της BMD προτείνεται η αναλυτική και εμπειριστατωμένη μελέτη κλινικών παραγόντων που ιστορικά έχουν συσχετισθεί με την οστεοπόρωση, συμπεριλαμβανομένων μη τροποποιήσιμων παραγόντων, αιτίων δευτεροπαθούς οστεοπόρωσης, και παραγόντων από τον τρόπο ζωής. Επιπλέον για

την ακριβέστερη εκτίμηση της υγείας του οστίτη ιστού και τον προσδιορισμό του κινδύνου για εμφάνιση οστεοπορωτικού κατάγματος, έχει προταθεί και η χρήση κάποιων βιολογικών δεικτών. Οι βιολογικοί αυτοί δείκτες δίνουν τη δυνατότητα εκτίμησης της οστικής παραγωγής και απορρόφησης και περιλαμβάνουν την αλκαλική φωσφατάση και την οστεοκαλσίνη στο αίμα και την υδροξυπρωλίνη, την πυριδινολίνη, τη δεοξυπυριδινολίνη, το N-τελοπεπτίδιο κολλαγόνου τύπου I (NTX) και το C-τελοπεπτίδιο κολλαγόνου τύπου I (CTX) σε δείγματα ούρων.

Τα τελευταία χρόνια το ενδιαφέρον στρέφεται και προς το γενετικό υπόβαθρο της οστεοπόρωσης και την ανεύρεση μοριακών δεικτών που θα μπορούσαν πιθανώς να προβλέψουν ακριβέστερα την πιθανότητα εμφάνισης οστεοπόρωσης. Πολυάριθμα γονίδια και σηματοδοτικά μονοπάτια φαίνεται να εμπλέκονται στην εμφάνιση της οστεοπόρωσης, με σημαντικότερα τον οιστρογονικό υποδοχέα α (ER α gene), τον υποδοχέα της βιταμίνης D (VDR gene), το κολλαγόνο τύπου I A1 (COL1A1 gene), το σηματοδοτικό μονοπάτι του αυξητικού παράγοντα μετασχηματισμού β 1 (TGF- β 1), την απολιποπρωτεΐνη E (ApoE), τον υποδοχέα 2 του παράγοντα TNF (TNFR2) και άλλα.

Από τα παραπάνω καθίσταται σαφές ότι η οστεοπόρωση είναι πολυπαραγοντική νόσος και ως τέτοια πρέπει να προσεγγίζεται. Έχει πλέον αποδειχθεί ότι γενετικοί παράγοντες εμπλέκονται στην παθογένεια της οστεοπόρωσης, αλλά είναι ασαφές αν από μόνοι τους αποτελούν ικανή συνθήκη για την εμφάνιση της νόσου. Στην παρούσα διατριβή μελετάται η επίδραση γονιδίων στη ρύθμιση της οστικής μάζας και του οστικού μεταβολισμού και η συσχέτιση μεταξύ τους αλλά και με διάφορους περιβαλλοντικούς παράγοντες, στην ανάπτυξη οστεοπόρωσης. Μελετήθηκαν, δηλαδή, γονιδιακοί δείκτες σε επίπεδο πολυμορφισμών και έκφρασης στο περιφερικό αίμα και σε οστικά τεμάχια, βιολογικοί δείκτες οστικής παραγωγής και αποδόμησης καθώς και κλινικές παράμετροι, με στόχο τη συσχέτιση του κλινικού φαινότυπου με τα πρότυπα έκφρασης καθοριστικών σηματοδοτικών μοπατιών.

Αναλυτικά στη συγκεκριμένη μελέτη διερευνήθηκαν:

α) Κλινικές και απεικονιστικές παράμετροι σε υποομάδες ασθενών αυξημένου κινδύνου για εμφάνιση οστεοπόρωσης. Έμφαση δόθηκε στο κατά πόσο γνωστοί

παράγοντες κινδύνου επηρέασαν την απόφαση των ιατρών για περαιτέρω έλεγχο/θεραπεία στους εν λόγω ασθενείς.

β) Γονιδιακή ανάλυση του CER1 και DKK1 σε επίπεδο πολυμορφισμών και του RUNX2 και γονιδίων του μονοπατιού του TGF- β σε επίπεδο έκφρασης σε οστοπορωτικά (περιφερικό αίμα και οστό) και υγιή (περιφερικό αίμα) άτομα. Οι παράγοντες αυτοί επιλέχθηκαν λόγω της μεγάλης σημασίας των σηματοδοτικών μονοπατιών στα οποία ανήκουν, ονομαστικά το μονοπάτι TGF- β /BMP και Wnt/ β -κατενίνης.

γ) Συσχέτιση των ανωτέρω γονιδίων με κλινικά χαρακτηριστικά, μετρήσεις DEXA και οστικούς μεταβολικούς δείκτες (Παραθορμόνη, IGF-1, Λεπτίνη, Καλσιτονίνη και Οστεοκαλσίνη).

Απώτερος στόχος της παρούσας διατριβής είναι να παρέχει καλύτερη κατανόηση των κλινικών παραγόντων κινδύνου και του γενετικού προφίλ των οστεοπορωτικών ασθενών και να θέσει το υπόβαθρο για ανάπτυξη τεχνικών ακριβέστερης διάγνωσης και πρόβλεψης του κινδύνου εμφάνισης καταγμάτων μέσω της συνδυασμένης χρήσης στοιχείων από το ιστορικό των ασθενών, δεδομένων μέτρησης BMD, ειδικών βιολογικών δεικτών οστικού μεταβολισμού στο αίμα και δεδομένων από το γενετικό έλεγχο του κάθε ασθενούς.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Γ

ΥΛΙΚΟ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ

1. Σχεδιασμός μελέτης

Η εν λόγω μελέτη σχεδιάστηκε ως αναλυτική έρευνα παρατήρησης και αποτελεί συνδυασμό αναδρομικής και προοπτικής μελέτης. Συνοπτικά, έγινε χρήση δεδομένων από το ιστορικό και την κλινική εξέταση, αποτελεσμάτων του απεικονιστικού ελέγχου καθώς και ανάλυση βιολογικών δειγμάτων. Τα δείγματα που μελετήθηκαν χωρίστηκαν σε πάσχοντες και μάρτυρες, ανάλογα με την ύπαρξη ή όχι οστεοπόρωσης, όπως καθορίστηκε από το ιστορικό και τον συνοδό ακτινολογικό έλεγχο. Το πρωτόκολλο της μελέτης εγκρίθηκε από την Επιτροπή Ηθικής του Πανεπιστημιακού Νοσοκομείου Λάρισας και είναι σε συμφωνία με την συνθήκη του Ελσίνκι (1964).

1.1 Πληθυσμός μελέτης

Η δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε στις εγκαταστάσεις του τμήματος ορθοπαιδικής (τμήμα επειγόντων περιστατικών, εξωτερικά ιατρεία, κλινική, και χειρουργεία) του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας (ΠΓΝΛ) κατά το χρονικό διάστημα Ιανουρίου 2007 έως και Φεβρουάριο 2013. Στη μελέτη συμμετείχαν άτομα ηλικίας άνω των 40 ετών που νοσηλεύτηκαν στην ορθοπαιδική κλινική του ΠΓΝΛ για επεμβάσεις οστεοσύνθεσης καταγμάτων (τραυματικών ή μη) ή επανορθωτικές ορθοπαιδικές επεμβάσεις ρουτίνας, καθώς και ασθενείς που αντιμετωπίστηκαν στα ορθοπαιδικά εξωτερικά ιατρεία και τμήμα επειγόντων περιστατικών του ΠΓΝΛ.

Ασθενείς με ενεργό οστεομυελίτιδα ή σηπτική αρθρίτιδα, ενεργό κακοήθεια (πρωτοπαθή ή μεταστατική) ή νόσο Paget's αποκλείστηκαν από τη μελέτη. Σε περιπτώσεις βαριάς άνοιας ή ψυχιατρικής νόσου η συνέντευξη πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια συγγενικού προσώπου. Σε περιπτώσεις αδυναμίας λήψης ιστορικού, λόγω απουσίας συγγενικού προσώπου ή μη συναίνεσης του ασθενούς, ο ασθενής εξαιρέθηκε από τη μελέτη.

1.2 Συλλογή των δεδομένων

Δείγματα που συνελέγησαν πριν τον Οκτώβριο του 2010 συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη αναδρομικά. Για τους εν λόγω ασθενείς η συλλογή των δεδομένων έγινε αναδρομικά μέσω ανασκόπησης του ηλεκτρονικού φακέλου του ασθενούς ή

τηλεφωνικής συνέντευξης. Ασθενείς που αντιμετωπίστηκαν στην Ορθοπαιδική κλινική του ΠΓΝΛ, με σχετικές παθήσεις, μετά τον Οκτώβριο του 2010 συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη προοπτικά, με τη λήψη ιστορικού, κλινική εξέταση και συλλογή βιολογικού δείγματος να λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια της νοσηλείας ή επανεξέταση του ασθενούς. Η ομάδα, που ανέλαβε τη δειγματοληψία έλαβε εκπαίδευση για τους στόχους και τον τρόπο διεξαγωγής της μελέτης, με έμφαση στην προφορική συνέντευξη και την ορθή συμπλήρωση του ιστορικού. Ο δειγματολήπτης ενημέρωνε τον συμμετέχοντα ή/και το συνοδό για το σκοπό της μελέτης προτού ξεκινήσει η συμπλήρωση του ιστορικού.

2. Ιστορικό και κλινική εξέταση

2.1 Λήψη Ιστορικού

Για τη συλλογή των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε τυποποιημένη (standardized) φόρμα ιστορικού σε έντυπη μορφή (Παράρτημα Α). Το πρώτο τμήμα του ιστορικού αφορούσε συλλογή δημογραφικών στοιχείων. Συνελέγησαν επίσης πληροφορίες σχετικά με το αίτιο προσέλευσης, παράγοντες κινδύνου σχετιζόμενους με την εμφάνιση οστεοπόρωσης, ιστορικό οστεοπόρωσης ή προηγθέντος κατάγματος χαμηλής ενέργειας και χρήση αντιοστεοπορωτικής αγωγής. Οι παράγοντες κινδύνου που καταγράφηκαν μπορούν να ταξινομηθούν σε τέσσερις κατηγορίες: α) μη τροποποιήσιμοι (genetic/constitutional) παράγοντες, β) συνοδά νοσήματα σχετιζόμενα με πιθανά αίτια δευτεροπαθούς οστεοπόρωσης, γ) σχετικά φάρμακα και δ) τρόπος ζωής [101-103]. **(Πίνακας 11)**

Πίνακας 11. Παράγοντες κινδύνου για ανάπτυξη οστεοπόρωσης και οστεοπορωτικών καταγμάτων			
Μη τροποποιήσιμοι	Συνοδά νοσήματα	Φάρμακα	Συνήθειες
Φύλο	Παθήσεις θυρεοειδούς	Κορτικοστεροειδή	Ανεπαρκής πρόσληψη ασβεστίου
Ηλικία	Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια	Αντιεπιληπτικά	Ατεκνία
Οικογενειακό ιστορικό οστεοπόρωσης/κατάγματος ισχίου	Σύνδρομο δυσαπορρόφησης	Αναστολείς αντλίας πρωτονίων	Κάπνισμα
Προηγούμενο κάταγμα	Υπερπαραθυρεοειδισμός	Προγεστίνη	Χαμηλός ΔΜΣ (<20kg/m ²)
Καθυστερημένη εμμηναρχή (ηλικία >15 ετών)	Υπερκορτιζολαιμία	Ταμοξιφαίνη	
Πρώρη εμμηνόπαυση (ηλικία <40 ετών)	Χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια	Αναστολείς αρωματάσης	
	Ρευματοειδής αρθρίτιδα	Ηπαρίνη	
	Σακχαρώδης Διαβήτης		
	Παρατεταμένη κατάκλιση		

Οι ασθενείς ερωτήθηκαν επίσης για προηγθέντα κατάγματα καθώς και το μηχανισμό κάκωσης, αριθμό, και εντόπισή τους. Ως οστεοπορωτικά θεωρήθηκαν

όλα τα κατάγματα άπω πέρατος κερκίδας, σπονδυλικής στήλης, ισχίου ή άλλης εντόπισης, που προκλήθηκαν από πτώση απ'την όρθια ή καθιστή θέση, ή παρουσιάστηκαν απουσία τραυματικού γεγονότος. Ως εμμηνόπαυση ορίστηκε η απουσία εμμήνου ρύσεως για τουλάχιστον 12 μήνες. Σε περίπτωση ύπαρξης προηγηθέντος κατάγματος στο ιστορικό οι ασθενείς ερωτήθηκαν αν είχαν υποβληθεί σε περαιτέρω έλεγχο για οστεοπόρωση κατά τη διάρκεια της νοσηλείας τους ή της μετέπειτα παρακολούθησης σε εξωτερική βάση, μετά το πρωτοπαθές κάταγμα και εάν συνταγογραφήθηκε αντιοστεοπορωτική αγωγή (π.χ. ασβέστιο και βιταμίνη D, διφωσφωνικά, καλσιτονίνη, παραθορμόνη, ρανελικό στρόντιο, εκλεκτικοί αναστολείς υποδοχέων οιστρογόνων).

Τέλος, προκειμένου να μελετηθεί η σχέση μεταξύ οστεοπόρωσης και οστεοαρθρίτιδας, ασθενείς με οστεοπορωτικά κατάγματα ερωτήθηκαν αν έχουν γνωστό ιστορικό οστεοαρθρίτιδας (ισχίου, γόνατος ή πολυγωνομετακάρπιου) ή έχουν υποβληθεί σε ολική αρθροπλαστική ισχίου ή/και γόνατος για οστεοαρθρίτιδα.

2.2 Ορισμοί και διαγνωστικά κριτήρια

Ως καθυστερημένη εμμηναρχή θεωρήθηκε η απουσία έναρξης εμμήνου ρύσεως μέχρι την ηλικία των 15 ετών [217]. Η πρόωρη εμμηνόπαυση ορίστηκε ως απουσία εμμήνου ρύσεως για τουλάχιστον 12 μήνες πριν την ηλικία των 40 ετών [100]. Δείκτες μάζας σώματος $<20\text{kg/m}^2$ ορίστηκαν ως χαμηλοί. Η χρήση κορτικοστεροειδών θεωρήθηκε ως παράγοντας κινδύνου για εμφάνιση οστεοπόρωσης σε ασθενείς που έκαναν χρήση από του στόματος κορτικοστεροειδών σε δόσεις $\geq 5\text{ mg}$ για τουλάχιστον 2 μήνες. Ο όρος σακχαρώδης διαβήτης (ΣΔ) στους παράγοντες κινδύνου χρησιμοποιήθηκε ισοδύναμα και για τους δύο τύπους διαβήτη (I και II). Δεν επιχειρήσαμε να διαφοροποιήσουμε τους δύο τύπους ΣΔ καθώς υπάρχουν δεδομένα στη βιβλιογραφία που υποστηρίζουν την ύπαρξη αυξημένου κινδύνου καταγμάτων σε ασθενείς με ΣΔ τύπου I και II [107]. Ελλιπής πρόσληψη ασβεστίου χαρακτηρίστηκε η ημερήσια πρόσληψη ασβεστίου $<500\text{mg}$ [218]. Η παρατεταμένη ακινητοποίηση αναγνωρίστηκε ως παράγοντας κινδύνου σε ασθενείς με χρόνια πάρεση ή ημιπάρεση/ημιπληγία ως αποτέλεσμα τραύματος, πολυομυελίτιδας, σκλήρυνσης κατά πλάκας ή εγκεφαλικών συμβαμάτων [99].

2.3 Κλινική εξέταση

Μετρήθηκε το ύψος και το βάρος του ασθενούς ώστε να υπολογισθεί ο δείκτης μάζας σώματος [Βάρος (kg) / Ύψος² (m)]. Εκτιμήθηκε επίσης η ύπαρξη ευαισθησίας στη θωρακική και οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης. Τέλος έγινε αδρή εκτίμηση της κινητικότητας, ισορροπίας και όρασης.

2.4 Πρόβλεψη καταγματικού κινδύνου

Χρησιμοποιήθηκε επίσης ο αλγόριθμος FRAX προκειμένου να υπολογιστεί ο 10-ετής κίνδυνος οστεοπορωτικών καταγμάτων για όλους τους ασθενείς <90 ετών. Ο υπολογισμός του FRAX έγινε μέσω διαδικτύου, με βάση τα συλλεχθέντα από το ιστορικό επιδημιολογικά στοιχεία και κλινικούς παράγοντες κινδύνου, χωρίς την προσθήκη του BMD. Η επεξεργασία των δεδομένων αυτών από το πρόγραμμα παρέχει μία εκτίμηση με τη μορφή ποσοστού επί τις εκατό για τη δεκαετή πιθανότητα που εμφανίζει ο ασθενής να υποστεί κάταγμα ισχίου ή κάποιο άλλο μείζον οστεοπορωτικό κάταγμα. (<https://www.sheffield.ac.uk/FRAX/tool.aspx?country=49>)

FRAX[®] Εργαλείο αξιολόγησης του κινδύνου κατάγματος

Αρχική Εργαλείο υπολογισμού Διαγράμματα Συχνές ερωτήσεις Βιβλιογραφία

Εργαλείο υπολογισμού

Παρακαλείστε να απαντήσετε στις παρακάτω ερωτήσεις για τον υπολογισμό της δεκαετούς πιθανότητας κατάγματος βάσει της οστικής πυκνότητας.

Χώρα: **Ελλάδα** Όνομα/Κωδικός: Σχετικά με τους παράγοντες κινδύνου

Ερωτηματολόγιο:

- Ηλικία (μεταξύ 40 και 90 ετών) ή την ημερομηνία γέννησης
Ηλικία: Ημερομηνία γέννησης: Ε: Μ: Η:
- Φύλο ☐ Άνδρας ☒ Γυναίκα
- Βάρος (κιλά)
- Ύψος (εκατοστά)
- Προηγούμενο κάταγμα ☐ Όχι ☒ Ναι
- Ιστορικό κατάγματος ισχίου σε γονέα ☒ Όχι ☐ Ναι
- Κάννισμα ☐ Όχι ☒ Ναι
- Γλυκοκορτικοειδή ☒ Όχι ☐ Ναι
- Ρευματοειδής αρθρίτιδα ☒ Όχι ☐ Ναι
- Δευτεροπαθής οστεοπόρωση ☐ Όχι ☒ Ναι
- 3 ή περισσότερες μονάδες αλκοόλ ημερησίως ☒ Όχι ☐ Ναι
- BMD αυχένα μηριαίου (g/cm²)
επιλέξτε BMD

ΔΜΣ: 27.7
Η δεκαετής πιθανότητα κατάγματος (%)

χωρίς BMD

Μείζον οστεοπορωτικό κάταγμα	22
Κάταγμα ισχίου	9.2

3. Απεικονιστικός έλεγχος

3.1 Απλές Ακτινογραφίες

Απλές ακτινογραφίες (προσθιοπίσθιες και πλάγιες) πραγματοποιήθηκαν κατά την αρχική εκτίμηση του ασθενούς στο τμήμα επειγόντων περιστατικών ή στα εξωτερικά ιατρεία. Οι ακτινογραφίες ήταν στοχευμένες στο να αναγνωρίσουν την εκάστοτε παθολογία (κάταγμα, οστεοαρθρίτιδα, κτλ) και έγιναν αποκλειστικά στα πλαίσια της κλασσικής φροντίδας. Οι ασθενείς δεν υποβλήθηκαν σε επιπρόσθετο ακτινογραφικό έλεγχο για λόγους έρευνας. Κατάγματα, οστεοπορωτικά και μη, ή άλλη οστική παθολογία καταγράφηκαν στο φάκελο του ασθενούς. Σε περιπτώσεις απώλειας >30% της οστικής μάζας, η ακτινογραφία ήταν δυνατό να αποκαλύψει αραίωση των οστικών δοκίδων και λέπτυνση του φλοιού και άρα ύπαρξη προχωρημένης οστεοπόρωσης. Σε κάθε περίπτωση, η διάγνωση οστεοπόρωσης επιβεβαιώθηκε με χρήση DEXA.

Κλίμακα Kellgren-Lawrence	
Βαθμός 0	Χωρίς ακτινογραφικά ευρήματα ΟΑ
Βαθμός 1	Αμφίβολη στένωση μεσάρθριου διαστήματος (ΜΔ), πιθανή ύπαρξη οστεοφύτων
Βαθμός 2	Υπαρξη οστεοφύτων, πιθανή στένωση ΜΔ
Βαθμός 3	Πολλαπλά οστεόφυτα, στένωση ΜΔ, σκλήρυνση, πιθανή παραμόρφωση οστού
Βαθμός 4	Μεγάλα οστεόφυτα, σημαντική στένωση ΜΔ, σημαντική σκλήρυνση, οστική παραμόρφωση

Επιπρόσθετα στην υποομάδα ασθενών με κατάγματα ισχίου, έγινε χρήση των υπάρχοντων προσθιοπίσθιων ακτινογραφιών λεκάνης-ισχίων προκειμένου να εκτιμηθεί η ύπαρξη και βαρύτητα οστεοαρθρίτιδας ισχίου με βάση την κλίμακα κατά Kellgren και Lawrence [219]. Βαθμολογία >2 κατά Kellgren και Lawrence ορίστηκε ως οστεοαρθρίτιδα.

3.2 Μέτρηση οστικής πυκνότητας

Η Dual energy x-ray absorptiometry (DEXA) θεωρείται σήμερα η πιο αξιόπιστη μέθοδος για τη διάγνωση της οστεοπόρωσης καθώς και για την παρακολούθηση της εξέλιξης της νόσου και την αξιολόγηση της ανταπόκρισης στη θεραπεία. Ταυτόχρονα πρόκειται για μια μέθοδο που υπολογίζει την οστική πυκνότητα ανώδυνα, γρήγορα, μη επεμβατικά, με την ελάχιστη δυνατή έκθεση σε ακτινοβολία. Γενικά μπορεί να χρησιμοποιηθεί για μετρήσεις σε οποιοδήποτε σημείο του σώματος, ωστόσο προβλέπει ακριβέστερα τον κίνδυνο οστεοπορωτικό κατάγματος με μετρήσεις στο ισχίο ή/και τη σπονδυλική στήλη.

Επομένως, για τη μελέτη μας αποφασίστηκε η μέτρηση της οστικής πυκνότητας να γίνεται με χρήση DEXA στη σπονδυλική στήλη και το ισχίο. Μετά την πραγματοποίηση της οστικής πυκνομετρίας καταγράφηκαν οι τιμές οστικής πυκνότητας (BMD) καθώς και το T- και Z-score. Η κατάταξη των ασθενών σε οστεοπορωτικούς και μη έγινε με βάση τις συστάσεις του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας. Ως οστεοπορωτικοί χαρακτηρίστηκαν οι ασθενείς με τιμές οστικής πυκνότητας χαμηλότερες από τη μέση τιμή οστικής πυκνότητας νεαρών ατόμων του ίδιου φύλου και φυλής κατά τουλάχιστον 2.5 τυπικές αποκλίσεις (T-score < -2.5SD). Οστεοπενικοί θεωρήθηκαν οι ασθενείς με T-score μεταξύ -1 και -2.5SD, ενώ τιμές >-1SD θεωρήθηκαν φυσιολογικές.

Κατηγοριοποίηση	T-score
Φυσιολογικό	>-1
Οστεοπενία	-1 έως -2.5
Οστεοπόρωση	<-2.5
Σοβαρή Οστεοπόρωση	<-2.5 ΚΑΙ ≥1 κατάγματα

4. Μέτρηση δεικτών οστικού μεταβολισμού

Προκειμένου να προσδιοριστεί ο ρυθμός οστικού μεταβολισμού (παραγωγής ή/και απορρόφησης) αποφασίστηκε να γίνει μέτρηση ορισμένων δεικτών σε δείγματα περιφερικού αίματος. Χρησιμοποιήθηκαν οι ακόλουθοι δείκτες:

α) Παραθορμόνη (φυσιολογικές τιμές: 8-76pg/ml). Η παραθορμόνη ρυθμίζει τη συγκέντρωση ασβεστίου στον ορό, μέσω της επίδρασης της στα οστά, τους νεφρούς και το έντερο. Στα οστά, προάγει την οστική απορρόφηση μέσω έμεσης ενεργοποίησης των οστεοκλαστών, προκειμένου να απελευθερωθεί ασβέστιο και να αυξηθούν τα επίπεδά του στο αίμα [220].

β) Καλσιτονίνη (φυσιολογικές τιμές: 0-10pg/ml). Η καλσιτονίνη συμμετέχει στη ρύθμιση του μεταβολισμού του ασβεστίου και φωσφόρου. Δρα πρωταρχικά στο σκελετό προστατεύοντας τα οστά από απώλεια ασβεστίου, ιδιαίτερα σε περιόδους κινητοποίησης των αποθηκών ασβεστίου (π.χ. κύηση, θηλασμός), μέσω αναστολής της οστεοκλαστικής δραστηριότητας. Ουσιαστικά έχει την αντίθετη δράση από την παραθορμόνη και τη βιταμίνη D [221].

γ) Οστεοκαλσίνη (φυσιολογικές τιμές: 5-25ng/ml). Η οστεοκαλσίνη παράγεται αποκλειστικά από τους οστεοβλάστες και η σύνθεσή της εξαρτάται από την παρουσία 1,25(OH)₂D₃, βιταμίνης K και βιταμίνης C. Τα επίπεδα οστεοκαλσίνης αποτελούν δείκτη οστικής σύνθεσης εν εξελίξει, καθώς υποδεικνύουν την παρουσία νέας οστεοβλαστικής δραστηριότητας [222].

δ) IGF-1. Ο αυξητικός παράγοντας της ινσουλίνης 1 (Insulin-like growth factor 1; IGF-1) παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη του σκελετού και τη διατήρηση της οστικής μάζας, δρώντας πάνω στους οστεοβλάστες, οστεοκύτταρα, οστεοκλάστες αλλά και μεσοκυττάρια θεμέλια ουσία [223, 224].

ε) Λεπτίνη (Επίπεδα: 0–1,529 ng/ml). Η λεπτίνη ανήκει στις αδιποκίνες, μια ομάδα κυτταροκινών που παράγονται από το λιπώδη ιστό και φαίνεται να εμπλέκονται στο μεταβολισμό των οστών, μέσω της δράσης τους στην οστική παραγωγή και αποδόμηση [225, 226].

Η αιμοληψία πραγματοποιήθηκε κατά την εισαγωγή του ασθενούς ή εξέταση στα ΤΕΠ. Τα δείγματα υποβλήθηκαν σε φυγοκέντρηση εντός 4 ωρών και στη

συνέχεια αποθηκεύτηκαν στους -80°C. Η επεξεργασία των δειγμάτων αίματος και μέτρηση των επιπέδων των παραπάνω βιοδεικτών έγιναν στο Εργαστήριο Πυρηνικής Ιατρικής του Πανεπιστημιακού Γενικού Νοσοκομείου Λάρισας, με βάση πρότυπες μεθόδους, όπως έχει περιγραφεί και στο παρελθόν [227]. Εν συντομία, η παρορμόνη, οστεοκαλσίνη και καλσιτονίνη μετρήθηκαν με ανοσοραδιομετρική ανάλυση (immunoradiometric-IRMA), ενώ τα επίπεδα IGF-1 και λεπτίνης προσδιορίστηκαν μέσω της μεθόδου ραδιοανοσοπροσδιορισμού (radioimmunoassay-RIA).

Αρχικά είχε αποφασιστεί η πραγματοποίηση μετρήσεων δεικτών οστικής απορρόφησης (υδροξυπρολίνη, πυριδινολίνη, δεοξυπυριδινολίνη, N-τελοπεπτιδίο κολλαγόνου τύπου I, C-τελοπεπτιδίο κολλαγόνου τύπου I) σε δείγματα ούρων [228]. Ωστόσο, αποφασίστηκε -για λόγους περιστολής κόστους- ο έλεγχος βιοδεικτών να περιοριστεί σε δείγματα αίματος, καθώς οι ειδικές εξετάσεις ούρων δεν πραγματοποιούνται στο ΠΓΝΛ.

5. Ανάλυση γονιδιακής έκφρασης

5.1 Γενικά

Η συλλογή δειγμάτων αίματος πραγματοποιήθηκε σε όλους τους πάσχοντες και μάρτυρες που συμμετείχαν στη μελέτη. Τα δείγματα υποβλήθηκαν σε επεξεργασία για εξαγωγή DNA ή/και RNA και στη συνέχεια αποθηκεύτηκαν κατάλληλα για περαιτέρω χρήση. Η επιλογή των δειγμάτων για μελέτη γονιδιακής έκφρασης έγινε μετά από προσεκτική μελέτη των υπαρχόντων στοιχείων για κάθε ασθενή (ιστορικό, στοιχεία κλινικής εξέτασης, αποτελέσματα DEXA) και έλεγχο των απομονοθέντων DNA και RNA (**Εικόνα 35**). Ασθενείς με ελλιπές ιστορικό ή απουσία DEXA αποκλείστηκαν από περαιτέρω ανάλυση. Επιπλέον αποκλείστηκαν δείγματα που θεωρήθηκαν ακατάλληλα για περαιτέρω επεξεργασία και ανάλυση (ανεπαρκή ποσότητα DNA/RNA, ή φτωχή ποιότητα απομονοθέντων DNA/RNA).

Από τα 518 δείγματα πασχόντων και 140 μαρτύρων που θεωρήθηκαν αποδεκτά για γονιδιακή ανάλυση και ακόλουθες συσχετίσεις, επιλέχθηκαν 150 και 50

αντίστοιχα με τυχαιοποίηση. Η απόφαση για τον αριθμό δειγμάτων βασίστηκε στα αποτελέσματα της power analysis, όπως περιγράφεται στη στατιστική ανάλυση.

Επίσης συνελέγησαν 100 οστικά τεμάχια προερχόμενα από ασθενείς που υποβλήθηκαν σε επεμβάσεις οστεοσύνθεσης καταγμάτων ή επανορθωτικές ορθοπαιδικές επεμβάσεις.

5.2 Απομόνωση RNA από περιφερικό αίμα

Κατά μέσο όρο συνελέχθησαν 5-6ml αίματος από κάθε συμμετέχοντα. Η αιμοληψία έγινε σε αποστειρωμένα σωληνάρια γενικής αίματος κενού των 3ml με αντιπηκτικό K₂EDTA. Η επεξεργασία των δειγμάτων έγινε μέσα σε 4 ώρες από τη φλεβοκέντηση.

Αρχικά απομονώθηκαν τα λευκοκύτταρα από το δείγμα περιφερικού αίματος, μέσω φυγοκέντρησης διαβάθμισης πυκνότητας (density gradient centrifugation). Τα βήματα δίνονται αναλυτικά παρακάτω:

1. Το δείγμα αίματος μεταφέρθηκε σε σωληνάριο φυγόκεντρου τύπου falcon των 15ml και αναμείχθηκε με ίσο όγκο στείρου ρυθμιστικού διαλύματος αλάτων (phosphate-buffered saline-PBS; Caisson Laboratories, North Logan, UT).
2. Σε νέο σωληνάριο των 15ml προστέθηκε υψηλής πυκνότητας διάλυμα φικόλλης (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), σε όγκο τέτοιο ώστε να αποτελεί το 1/3 του συνολικού όγκου αίματος. Το εναιώρημα αίματος-PBS επιστοιβάχθηκε στη φικόλλη με αργές και προσεκτικές κινήσεις με το σωληνάριο σε κλίση, προκειμένου να αποφευχθεί ανάμιξη του διαλύματος αίματος με τη φικόλλη. Ακολούθησε φυγοκέντρηση στα 400G χωρίς φρένο για 30 λεπτά.
3. Μετά τη φυγοκέντρηση είναι εμφανής ο διαχωρισμός των στοιχείων του αίματος σε 3 φάσεις (από πάνω προς τα κάτω): πλάσμα, φικόλλη και ίζημα ερυθροκυττάρων και πολυμορφοπύρηνων. Τα μονοπύρηννα λευκοκύτταρα (μονοκύτταρα και λεμφοκύτταρα) βρίσκονται στη μεσόφαση, μεταξύ πλάσματος και φικόλλης. **(Εικόνα 36)** Το στρώμα των λευκοκυττάρων συνελέγη με προσεκτική αναρρόφηση με χρήση πιπέτας Pasteur μίας χρήσης και μεταφέρθηκε σε νέο σωληνάριο.
4. Ακολούθησαν δύο πλύσεις με διάλυμα PBS και φυγοκέντρηση για 5 λεπτά στα 300G με φρένο.

5. Το κυτταρικό ίζημα που προέκυψε από την παραπάνω διαδικασία επωάσθηκε για 1 λεπτό με ACK (Ammonium-Chloride-Potassium) Lysing Buffer (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) προκειμένου να απομακρυνθούν τυχόν εναπομείναντα ερυθρά αιμοσφαίρια.

6. Τα κύτταρα ξεπλύθηκαν δύο φορές με τριπλάσιο όγκο PBS και φυγοκεντρήθηκαν για 5 λεπτά στα 300G.

7. Ο αριθμός των απομονοθέντων κυττάρων εκτιμήθηκε με τη χρήση χρωστικής Trypan Blue και αιματοκυτταρόμετρου.

Η απομόνωση του RNA έγινε με χρήση του Qiagen RNeasy mini kit, με βάση τις οδηγίες του κατασκευαστή. **(Εικόνα 37)**

1. Αρχικά, στο κυτταρικό ίζημα προστέθηκε διάλυμα RLT (350μl-600 μl, ανάλογα με τον αριθμό λευκοκυττάρων), για λύση της πλασματικής μεμβράνης των λευκοκυττάρων. Ανάμιξη και ομογενοποίηση του δείγματος έγινε με vortex για 1 λεπτό.

2. Στο διάλυμα προστέθηκε και αναμείχθηκε με πιπετάρισμα ίσος όγκος 70% αιθανόλης.

3. Στη συνέχεια, το δείγμα (μέγιστος επιτρεπόμενος όγκος 700μl) μεταφέρθηκε σε στήλη καθαρισμού τοποθετημένη μέσα σε σωληνάριο errendorf των 2ml και φυγοκεντρήθηκε για 15 δευτερόλεπτα στα $\geq 8000G$. Με τη μέθοδο αυτή το RNA προσκολλάται στο φίλτρο της στήλης καθαρισμού, ενώ τα υπόλοιπα συστατικά απορρίπτονται.

4. Σε περιπτώσεις όπου το δείγμα ξεπερνούσε σε όγκο τα 700μl, επαναλήφθηκε το βήμα 3 με χρήση της ίδιας στήλης καθαρισμού.

5. Ακολούθησε πλήση του RNA, με προσθήκη 700μl διαλύματος RW1 στη στήλη καθαρισμού και φυγοκέντρωση για 15 δευτερόλεπτα στα $\geq 8000G$.

6. Η δεύτερη πλήση πραγματοποιήθηκε με 500μl διαλύματος RPE και φυγοκέντρωση για 15 δευτερόλεπτα στα $\geq 8000G$. Το βήμα επαναλείφθηκε για καλύτερα αποτελέσματα και καθαρότερο RNA.

7. Η στήλη καθαρισμού μεταφέρθηκε σε νέο σωλήνα errendorf του 1.5 ml. Τέλος προστέθηκε στη στήλη νερό απαλλαγμένο από RNάσες (30–50μl).

8. Το RNA συνελέγη μετά από σύντομη φυγοκέντρωση (1 λεπτό, $\geq 8000G$). Ακολούθησε έλεγχος της ποιότητας του RNA με ηλεκτροφόρηση σε gel αγαρόζης 1,5%. Ο ποσοτικός έλεγχος του RNA πραγματοποιήθηκε με φωτομέτρηση στα 260 και 280nm, με τον επιθυμητό λόγο της απορρόφησης (optical density-OD) στα 260nm/280nm να κυμαίνεται από 1,8 έως 2 ($OD_{260}/OD_{280}=1.8-2$). Τιμές λόγου

μικρότερες ή μεγαλύτερες από τις παραπάνω θεωρήθηκαν ενδεικτικές ύπαρξης προσμίξεων και μη καθαρότητας του RNA.

9. Το δείγμα αποθηκεύτηκε στους -80°C για περαιτέρω χρήση.

5.3 Απομόνωση RNA από οστικό τεμάχιο

Η συλλογή οστικών τεμαχίων έγινε κατά τη διάρκεια επεμβάσεων οστεοσύνθεσης καταγμάτων (κυρίως εγγύς μηριαίου ή άπω πέτατος κερκίδας) ή ολικών αρθροπλαστικών ισχίου ή γόνατος. Το δείγμα τοποθετήθηκε σε αποστειρωμένο δοχείο και μεταφέρθηκε άμεσα στο εργαστήριο για περαιτέρω επεξεργασία και χρήση. Τα οστικά τεμάχια καθαρίστηκαν προσεκτικά από μυς και άλλα μαλακά μόρια με κατάλληλα χειρουργικά εργαλεία κάτω από στείρες συνθήκες. Ακολούθησε πλήση με φυσιολογικό ορό (0,9% NaCl) για την απομάκρυνση στοιχείων αίματος ή μυελού των οστών. Το οστό τεμαχίστηκε σε μικρότερα διακριτά κομμάτια, για διευκόλυνση της περαιτέρω διαδικασίας, και τοποθετήθηκε σε σωληνάριο τύπου falcon. Στη συνέχεια στο σωληνάριο προστέθηκε RNAzol (TRIzol, Invitrogen) ανάλογο του όγκου των οστικών τεμαχίων. Τα οστικά τεμάχια διατηρήθηκαν στους -80°C μέχρι και 2 μήνες πριν την απομόνωση του RNA.

Η κονιορτοποίηση του οστού έγινε με τη βοήθεια ομογενοποιητή. Πριν τη χρήση και για αποφυγή επιμόλυνσης μεταξύ των δειγμάτων η άκρη του ομογενοποιητή καθαρίστηκε με 10ml 0.4M NaOH σε μέγιστη ταχύτητα για 15 δευτερόλεπτα και ακολούθως με πλήση σε 10ml 70% αιθανόλης για 15 δευτερόλεπτα.

Μετά την ομογενοποίηση το δείγμα μεταφέρθηκε σε νέο σωληνάριο τύπου erppendorf. Προστέθηκε χλωροφόρμιο σε όγκο 1/10 του RNAzol. Το διάλυμα που προέκυψε επωάστηκε στον πάγο για 15 λεπτά με περιοδική ανάδευση με vortex για 15sec. Ακολούθησε φυγοκέντρηση στις 12.000rpm για 15 λεπτά στους 4°C, προκειμένου να επιτευχθεί ο διαχωρισμός του δείγματος σε υπερκείμενη υδατική φάση (RNA), μεσόφαση και υποκείμενη φάση (φαινόλη-χλωροφόρμιο). Το υπερκείμενο απομονώθηκε σε διαφορετικό σωληνάριο, αναμείχθηκε με ίσο όγκο 70% ισοπροπυλικής αλκοόλης και διατηρήθηκε στους -20°C μέχρι την επόμενη μέρα (overnight) [229].

Την επόμενη μέρα το δείγμα φυγοκεντρήθηκε για 30 λεπτά στις 12000 rpm στους 4 °C. Το ίζημα, που προέκυψε αποτελεί το ολικό RNA που απομονώθηκε. Το ίζημα διαλύεται σε RLN buffer και καθαρίζεται με τη βοήθεια του kit της Qiagen (RNAeasy mini kit) όπως περιγράφηκε παραπάνω.

5.4 Σύνθεση cDNA

Γενικά, η ενίσχυση (amplification) του RNA απαιτεί τη μεταγραφή του σε DNA. Αυτό επιτυγχάνεται μέσω της χρήσης κάποιας αντίστροφης μεταγραφάσης, όπως για παράδειγμα του ιού AMV (avian myeloblastis virus) ή του ιού M-MuLV (moloney murine leukemia virus). Το cDNA που προκύπτει από αυτή τη διαδικασία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για ανάλυση με PCR. Στη συγκεκριμένη μελέτη αποφασίστηκε η χρήση της αντίστροφης μεταγραφάσης του ιού AMV λόγω των προτερημάτων της σε σχέση με τις αντίστροφες μεταγραφάσεις άλλων ιών. Η σημαντικά ανώτερη θερμοσταθερότητα του ενζύμου αυτού επιτρέπει την πραγματοποίηση της αντίδρασης στους +42°C, παρέχοντας έτσι καλύτερη ειδικότητα και ευαισθησία σε σχέση με αντιδράσεις που πραγματοποιούνται στους +37°C.

Προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί ο κίνδυνος επιμόλυνσης του δείγματος με RNάσες, όλα τα σκεύη και οι πιπέτες που επρόκειτο να χρησιμοποιηθούν αποστειρώθηκαν πριν την έναρξη του πειράματος. Τα διαλύματα αποψύχθηκαν σε πάγο και στη συνέχεια φυγοκεντρήθηκαν για 15 δευτερόλεπτα. Το απομονωθέν ολικό RNA (~1 µg) αναμείχθηκε με τα κατάλληλα αντιδραστήρια με βάση τις οδηγίες του κατασκευαστή (1st Strand cDNA Synthesis Kit for RT-PCR/AMV, Roche, Basel, Switzerland). Ο τελικός όγκος του μίγματος ήταν 100 µl. Για την αντίδραση χρησιμοποιήθηκαν εκκινητές p(dN)6 (random primers). Οι ποσότητες για το κάθε αντιδραστήριο δίνονται στον **Πίνακα 12**. Η αντίδραση ξεκινά στους +25°C για 10 min και μετά στους +42°C για 60min. Κατά τη διάρκεια της πρώτης φάσης (+25°C), οι εκκινητές προσδένονται στο RNA. Στη δεύτερη φάση (+42°C) το RNA υπόκειται αντίστροφη μεταγραφή, οδηγώντας έτσι στη σύνθεση του επιθυμητού cDNA. Το επόμενο βήμα της αντίδρασης έγινε στους +99°C για 5 min με ακόλουθη ψύξη στους +4°C για 5 λεπτά προκειμένου να αποσυντεθεί η AMV αντίστροφη τρανσκριπτάση.

Ο τελικός όγκος του cDNA (20 µl) αραιώθηκε σε αναλογία 1:10 σε τελικό όγκο 200 µl όπως συνιστάται.

Πίνακας 12. Αντιδραστήρια για τη σύνθεση cDNA.

Reagent	Volume (per sample)	
10x Reaction buffer	2μl	Master Mix
25nM MgCl ₂	4μl	
<u>Deoxynucleotide mix</u>	2μl	
Primer Random Primer p(dN) ₆	2μl	
<u>RNase inhibitor</u>	1μl	
AMV reverse transcriptase	0.8μl	
Water, PCR grade	Variable	
RNA sample	Variable	
Total	20μl	

Το γονίδιο για τον υποδοχέα του ρετινοϊκού οξέος (RARα-retinoic acid receptor α) χρησιμοποιήθηκε σαν positive control, έτσι ώστε να αποκλεισθεί το ενδεχόμενο ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων από αδυναμία ενίσχυσης του RNA. Το συγκεκριμένο γονίδιο επιλέχθηκε λόγω της ιδιότητάς του να εκφράζεται σε όλους τους ιστούς. Για την ενίσχυση του cDNA του RARα χρησιμοποιήθηκε συμβατική PCR. Όλα τα απαραίτητα διαλύματα και αντιδραστήρια δίνονται στον **Πίνακα 13**.

Παρατίθενται εν συντομία τα βήματα της αντίδρασης (**Εικόνα 38**):

α) Αρχική αποδιάταξη στους 95°C για 5 λεπτά

β) Σαράντα κύκλοι στους οποίους πραγματοποιείται ενίσχυση της αλληλουχίας. Κάθε κύκλος περιλαμβάνει ένα στάδιο αποδιάταξης (94°C, 1 λεπτό), ένα στάδιο σύνδεσης εκκινητών (53°C, 1 λεπτό) και ένα στάδιο επιμήκυνσης των μορίων DNA (72°C, 1 λεπτό).

γ) Η τελική επιμήκυνση των μορίων DNA γίνεται στους 72°C για 10 λεπτά.

Πίνακας 13. Αντιδραστήρια για την ενίσχυση του cDNA του RARα.

Reagent	Volume
10x Reaction buffer	5μl
50nM MgCl ₂	2μl
Deoxynucleotide mix	1μl
Primer RAR6 *	2μl
Primer RAR8 *	2μl
DNA polymerase	0.5μl
Water, PCR grade	34.5μl
cDNA	3 μl
Total	50μl

*RAR6: 5' GGTGCCTCCCTACGCCTTCT 3'

RAR8: 5' GGCGCTGACCCCATAGTGGT 3'

5.5 Ποσοτική PCR πραγματικού χρόνου

Τα γονίδια που μελετήθηκαν ήταν το RUNX2, FST, ITGB5, SOX-4 και SMAD1. Το γονίδιο της αφυδρογενάσης της 3-φωσφορικής γλυκεραλδεϋδης (GADPH: Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase) χρησιμοποιήθηκε ως γονίδιο αναφοράς.

Για την εκτίμηση της έκφρασης των υπό μελέτη γονιδίων χρησιμοποιήθηκε ποσοτική αντίδραση PCR πραγματικού χρόνου. Η αντίδραση PCR πραγματικού χρόνου (real-time PCR) είναι μία ποσοτική αντίδραση PCR κατά την οποία η ενίσχυση του DNA στόχου και η ανίχνευση του προϊόντος γίνονται ταυτόχρονα στο ίδιο σωληνάριο. Στην ποσοτική PCR τα δεδομένα συλλέγονται όταν η αντίδραση είναι ακόμη στη φάση της εκθετικής αύξησης, χρησιμοποιώντας την τεχνολογία των φθορίζουσών χρωστικών. Η σημαντικότερη παράμετρος για την ποσοτικοποίηση

είναι η τιμή Ct (threshold cycle), που αντιστοιχεί στον κύκλο κατά τον οποίο ο φθορισμός των προϊόντων της PCR ξεπερνά προσεγγίζει ένα συγκεκριμένο όριο (threshold). Η τιμή του ορίου αυτού ορίζεται πάνω από την αντίστοιχη του μη ειδικού σήματος (background). Ο ποσοτικός προσδιορισμός βασίζεται στο ότι όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός των μορίων DNA ή cDNA στο αρχικό δείγμα τόσο μικρότερος είναι ο αριθμός των κύκλων πολλαπλασιασμού που χρειάζονται για να παραχθεί ικανός αριθμός προϊόντων ώστε ο φθορισμός του δείγματος να ξεπεράσει το επίπεδο ανίχνευσης. Επομένως δείγματα με πολλά αντίγραφα του γονιδίου στόχου έχουν μικρότερο Ct από δείγματα με λιγότερα αντίγραφα [230, 231].

Οι ανιχνευτές φθορισμού που χρησιμοποιούνται στη real-time PCR διακρίνονται σε μη ειδικούς και ειδικούς. **(Εικόνα 39)** Στα μη ειδικά συστήματα ανίχνευσης χρησιμοποιείται μια φθορίζουσα χρωστική η οποία ενσωματώνεται σε δίκλωννα μόρια DNA (dsDNA). Η πιο κοινά χρησιμοποιούμενη είναι η χρωστική SYBR green I. Αντίθετα, στα ειδικά συστήματα ανίχνευσης γίνεται χρήση ανιχνευτή, ειδικού για την αλληλουχία-στόχο. Σ'αυτή την κατηγορία περιλαμβάνονται οι ανιχνευτές υδρόλυσης, οι ανιχνευτές υβριδισμού και οι απλοί ανιχνευτές (π.χ. molecular beacons).

Στη συγκεκριμένη μελέτη επιλέχθηκε η χρήση της χρωστικής SYBR Green για την πραγματοποίηση ελέγχου της γονιδιακής έκφρασης των RUNX-2, FST, ITGB5, SOX-4 και SMAD1 (και του GADPH).

Εικόνα 39. Συστήματα ανίχνευσης φθορισμού που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για RT-PCR. (α) Χρωστική SYBR Green I. Όταν η χρωστική βρίσκεται ελεύθερη στο διάλυμα δεν παράγεται φθορισμός. Η χρωστική φθορίζει όταν συνδέεται με dsDNA. Η ένταση του φθορισμού είναι ανάλογη της συγκέντρωσης των προϊόντων της PCR. (β) Ανιχνευτές υδρόλυσης. Γίνεται χρήση 2 εκκινήτων και ενός ανιχνευτή που αναγνωρίζει και προσδένεται ειδικά σε εσωτερική αλληλουχία του πολλαπλασιαζόμενου προϊόντος της PCR. Η δράση 5-νουκλεάσης της DNA πολυμεράσης, συμβάλλει στην υδρόλυση του ανιχνευτή, και κατ' επέκταση στην απελευθέρωση της φθορίζουσας χρωστικής που βρίσκεται στο 5' άκρο. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή φθορισμού, ο οποίος αυξάνεται ανάλογα με την ποσότητα του παραγόμενου προϊόντος κατά την αντίδραση ενίσχυσης. (γ) Ανιχνευτές υβριδισμού. Οι δύο ανιχνευτές (δότης και δέκτης) δεσμεύονται σε παρακείμενες θέσεις πάνω στο προϊόν της αντίδρασης, οπότε επιτυγχάνεται η μεταφορά ενέργειας μέσω φθορισμού. Έτσι, η διέγερση του δότη, με ακτινοβολία κατάλληλου μήκους κύματος, οδηγεί στην εκπομπή φθορίζουσας ακτινοβολίας από το δέκτη, σε διαφορετικό μήκος κύματος. Η ένταση του παραγόμενου φθορισμού είναι ανάλογη της συνολικής ποσότητας DNA που παράγεται κατά την αντίδραση.

Ακολουθούν αναλυτικά τα βήματα της διαδικασίας:

1. Τα δείγματα αραιώθηκαν (1/100), προσθέτωντας νερό ελεύθερο νουκλεασών.
2. Σε ένα σωληνάριο των 1.5mL, προετοιμάστηκε το μίγμα αντίδρασης για όλα τα δείγματα cDNA που θα αναλύονταν στον ίδιο κύκλο PCR. Χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω όγκοι (οι τιμές δίνονται ανά δείγμα):

SYBR Green PCR Master Mix: 10 μ L

Forward primer: 1 μ L

Reverse primer: 1 μ L

H₂O ελεύθερο νουκλεασών: 4 μ L

3. Προετοιμάστηκαν μικροσωληνάρια 1.5 mL, ένα για κάθε δείγμα
4. Στη συνέχεια 4 μ L cDNA από το κάθε δείγμα μεταφέρθηκε στο αντίστοιχο μικροσωληνάριο
5. Απαλή ανάδευση
6. Σύντομη φυγοκέντρηση των δειγμάτων (15sec, >8000g) έτσι ώστε όλο το μίγμα να συγκεντρωθεί στον πάτο του σωληναρίου και να εξαφανιστούν τυχόν μικροφυσαλίδες.
7. Μεταφορά κάθε αντίδρασης (δείγμα και μίγμα εκκινήτων/SYBR Green) σε ένα MicroAmp® Optical 96-Well Reaction plate (συνολικός όγκος ανά πηγάδι: 20 μ L)
8. Κάλυψη με μικροφίλμ
9. Φυγοκέντρηση για συγκέντρωση των δειγμάτων στον πάτο των πηγαδιών
10. Μεταφορά στο μηχάνημα PCR και ρύθμιση για ποσοτικοποίηση της έκφρασης με τη μέθοδο $\Delta\Delta$ CT (SYBR Green)

Για όλα τα προαναφερθέντα γονίδια, η μέτρηση του αριθμού των μεταγράφων του γονιδίου αναφοράς και των γονιδίων στόχων έγινε εις τριπλούν για κάθε δείγμα. Ο αριθμός των μεταγράφων για το κάθε γονίδιο ορίστηκε ως ο μέσος όρος των τιμών των τριών μετρήσεων. Στη συνέχεια, για κάθε δείγμα, ο αριθμός μεταγράφων για κάθε γονίδιο στόχο διαιρέθηκε με τον αριθμό μεταγράφων του γονιδίου αναφοράς.

Πίνακας 15. Εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν στην αντίδραση RT-PCR με χρήση της χρώσης SYBR Green

Γονίδιο στόχος	Εκκινητές
RUNX2	Primer F: 5'-AAGAGCCAGGCAGGTGCT-3'
	Primer R: 5'-CCTGACGAAGTGCCATAGTAGAGATAT-3'
SOX4	Primer F: 5'-GGTCTCTAGTTCTTGCACGCTC-3'
	Primer R: 5'-CGGAATCGGCACTAAGGAG-3'
SMAD1	Primer F: 5'-ACCTGCTTACCTGCCTCCTG-3'
	Primer R: 5'-CATAAGCAACCGCCTGAACA-3'
FST	Primer F: 5'-GCCGAATGAACAAGAAGAACAAC-3'
	Primer R: 5'-TCAGGTGACAGGCACTGGGGTA-3'
ITGB5	Primer F: 5'-GGAGTTTGCAAAGTTTCAGAGC-3'
	Primer R: 5'-TGTGCGTGGAGATAGGCTTT-3'
GADPH	Primer F: 5'-GAAGGTAGAAGGTCGGAGTC-3'
	Primer R: 5'-GAAGATGGTGATGGGATTTC-3'

6. Ανάλυση πολυμορφισμών

Τα γονίδια που μελετήθηκαν σε επίπεδο πολυμορφισμών με τη διαδικασία αλληλούχισης (sequencing) είναι τα Cerberus 1 (CER1) και Dickkopf 1 (DKK1).

6.1 Απομόνωση DNA

Ολικό DNA απομονώθηκε από δείγματα περιφερικού αίματος, μετά από απομόνωση των λευκοκυττάρων όπως περιγράφηκε παραπάνω. Η διαδικασία πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το QIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN), με βάση τις οδηγίες του κατασκευαστή. Δίνονται αναλυτικά τα βήματα:

1. 20μl πρωτεϊνάσης K τοποθετούνται σε σωληνάριο 1.5ml.
2. Στη συνέχεια στο σωληνάριο αυτό προστίθεται το δείγμα αίματος (200 μl).
3. Προσθήκη 200 μl διαλύματος AL και σύντομη ανάδευση με vortex.
3. Επώαση του δείγματος στους 56°C για 10 λεπτά.
4. Σύντομη φυγοκέντριση για συγκέντρωση όλου του δείγματος στον πάτο του σωληναρίου.
5. Προσθήκη 200μl αιθανόλης (96%-100%) και ανάδευση με vortex για 15sec. Ακολουθεί σύντομη φυγοκέντριση.
6. Μεταφορά του δείγματος σε στήλη QIAamp, τοποθετημένη μέσα σε σωληνάριο συλλογής των 2ml. Φυγοκέντριση στις 6000g για 1 min.
7. Αντικατάσταση του σωληναρίου συλλογής με νέο σωληνάριο των 2ml.
8. Προσθήκη 500 μl διαλύματος AW1 στη στήλη και φυγοκέντριση στις 6000g για 1 min. Αντικατάσταση σωληναρίου συλλογής.
9. Προσθήκη στη στήλη 500μl διαλύματος AW2 και φυγοκέντριση στις 20000g για 3 min.
10. Αντικατάσταση σωληναρίου συλλογής και φυγοκέντριση στις 20000g (1 min).
11. Τοποθέτηση της στήλης σε σωληνάριο erpendorf (1.5 ml) και προσθήκη 100μl ddH₂O στη στήλη.

12. Παραμονή σε θερμοκρασία δωματίου για 5 min και μετά φυγοκέντρωση στις 6000g για 1 min.
13. Το DNA περιέχεται πλέον στο σωληνάριο.

Μετά τη διαδικασία απομόνωσης DNA τα δείγματα φωτομετήθηκαν και ηλεκτροφορήθηκαν σε πήκτωμα αγαρόζης για τον προσδιορισμό της ποσότητας και ποιότητας του DNA. Τα δείγματα διατηρήθηκαν στους 4oC για περαιτέρω χρήση.

6.2 Διαδικασία αλληλούχισης

Για την ανεύρεση πιθανών μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών των προαναφερθέντων γονιδίων, CER1 και DKK1, μελετήθηκε ολόκληρη η αλληλουχία των γονιδίων. Σχεδιάστηκαν κατάλληλοι εκκινητές (**Πίνακας 16**), με βάση στοιχεία αλληλούχισης της βάσης δεδομένων της GenBank, οι οποίοι χώρισαν το κάθε γονίδιο σε επιμέρους τμήματα που εκτείνονται σε μήκος 480bp έως και 700bp. Για το γονίδιο CER1 (2985bp) σχεδιάστηκαν 6 ζεύγη εκκινητών [sequence αναφοράς για το CER1: NC_000009.11 (14719731..14722715), MIM: 603777, ID: 9350]. Εφτά ζεύγη εκκινητών χρησιμοποιήθηκαν για το DKK1 (3377bp) [sequence αναφοράς: NC_000010.10 (54074041..54077417), MIM: 605189, ID: 22943].

Η αντίδραση της PCR για κάθε γονίδιο πραγματοποιήθηκε σε θερμικό κυκλοποιητή (Mastercycler epgradient, Eppendorf), όπως περιγράφηκε και παραπάνω. Τα προϊόντα της PCR χρησιμοποιήθηκαν για ταυτοποίηση της αλληλουχίας με τη μέθοδο Sequencing (MegaBase 1000 DNA Sequencing System), με βάση προηγούμενες αναφορές [178]. Η ανάγνωση των αλληλουχιών έγινε με χρήση των προγραμμάτων Chromas Lite 2.01 και ChromasPro 1.5. Μετά την αλληλούχιση του γονιδίου χρησιμοποιήθηκε το Βασικό Εργαλείο Αναζήτησης με Τοπική Στοίχιση (BLAST), προκειμένου να συγκριθούν οι αλληλουχίες που ενισχύθηκαν με αυτή του φυσιολογικού γονιδίου που υπάρχει καταχωρημένο στη βάση δεδομένων NCBI (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Πίνακας 16. Αλληλουχίες εκκινητών για τα γονίδια CER1, DKK1 και TOB1

Γονίδιο Στόχος	Forward primer 5'→3' Αλληλουχία	Reverse primer 5'→3' Αλληλουχία	Θέση
CER1	A: CTTTGGGCCT CATCATTTAC	CCCAATGTACTTCATGGCTT	1-504
	B: CTGGCACCACTTCATGTTTAC	TGGAGTTGACCTGCTCATCC	434-980
	C: CTGTAGCTATCTTTCTGCAC	TGGGTAGCATTACTCGACT	938-1501
	D: GTCGAGTAATGCTACCCAA	GGCTTTGTGCATAGTAGGCT	1483-1953
	E: GGGAGCCTACTATGCACAA	CGGAGGAAAGTTCAGTGCAG	1941-2490
	G: GCGCAGCACTCCCATACCT	AGCAATCATCTAGGTCGGGT	2419-2985
DKK1	A: GCAGAGCTCTGTGCTCCCT	ACCGCACACATTCAGCACG	1-490
	B: AGGTGAGAGGGGTCGGGCAC	CGGAGGAAGATAAGGACCTC	396-1043
	C: CGCTGAAGTATCTTCATTGCA	GGAGACCTCTTTAGCTGTCT	963-1470
	D: AGCACAGATCCACTAACTT	GGAAGCAGGAAATAGTGATT	1407-2010
	E: GCCACTGTCACAGCTGTTA	TGGTGATCTTTCTGTATCCG	1945-2481
	G: CCAGCGTTGTTACTGTGGA	CCAAGAGATCCTTGCGTTC	2427-2965
	H: CGCAAGGATCTCTTGGAATGA	TAGGTATTATTAATTTATTGG	2950-3377

7. Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση έγινε με το πρόγραμμα SPSS Statistics 21 με το επίπεδο σημαντικότητας να έχει τεθεί στο 0.05. Τα δημογραφικά χαρακτηριστικά, η παρουσία παραγόντων κινδύνου και τα ποσοστά διάγνωσης/θεραπείας υπολογίστηκαν στο σύνολο των ασθενών και μαρτύρων καθώς και ανάλογα με τον τύπο του κατάγματος ή άλλης ορθοπαιδικής πάθησης. Τα αριθμητικά δεδομένα παρουσιάζονται ως μέσος όρος και τυπική απόκλιση, ενώ οι ποιοτικές μεταβλητές ως απόλυτες αριθμητικές τιμές και ποσοστά.

Σε όλες τις υποαναλύσεις και υποομάδες ασθενών ή/και μαρτύρων, όλες οι συνεχείς μεταβλητές ελέγχθηκαν αρχικά για κανονικότητα με τη χρήση του Shapiro-Wilks test. Ανάλογα με τα αποτελέσματα του εν λόγω test αποφασίστηκε η χρήση παραμετρικών ή μη παραμετρικών δοκιμασιών για κάθε μεταβλητή.

Κατά τη μελέτη του συνόλου των ασθενών (πασχόντων και μαρτύρων) για δημογραφικά στοιχεία, σύγκριση της ηλικίας, BMI και T-score έγινε με independent samples t-test, ενώ συγκρίσεις στην ηλικία εμμηνόπαυσης, ηλικία εμμηναρχής και BMD έγιναν με Mann-Whitney U test. Mann-Whitney U test πραγματοποιήθηκε επίσης για τη σύγκριση των τιμών παραθορμόνης, οστεοκαλσίνης, καλσιτονίνης, λεπτίνης και IGF-1. Η σύγκριση των ποιοτικών μεταβλητών (φύλο, κορτικοστεροειδή, οικογενειακό ιστορικό οστεοπόρωσης, μειωμένη πρόσληψη ασβεστίου και κάπνισμα) μεταξύ πασχόντων και μαρτύρων επί του συνόλου των συμπεριληφθέντων στη βάση δεδομένων ασθενών αλλά και κατά τη μελέτη των πολυμορφισμών των υπό μελέτη γονιδίων έγινε με χρήση του χ^2 test. Όταν ένα ή περισσότερα κελιά είχαν μικρό αριθμό παρατηρήσεων (≤ 5), δόθηκαν αποτελέσματα του Fisher's exact test. Σε όλες τις υπόλοιπες περιπτώσεις δίνονται αποτελέσματα του Pearson χ^2 test. Τέλος Independent samples t-test χρησιμοποιήθηκε για την πραγματοποίηση συγκρίσεων στη γονιδιακή έκφραση του RUNX2 μεταξύ πασχόντων και μαρτύρων και paired-samples t-test μεταξύ δειγμάτων αίματος και οστού.

Όσον αφορά τις αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν στις ομάδες ασθενών με οστεοπορωτικά κατάγματα ισχίου, ΠΧΚ και σπονδυλικής στήλης, πραγματοποιήθηκε one-way ANOVA με συνοδό ανάλυση με το test Bonferroni για τη σύγκριση ηλικίας, ΔΜΣ, και ηλικία εμμηνόπαυσης μεταξύ ασθενών με διαφορετικούς τύπους

καταγμάτων. Independent samples t-test χρησιμοποιήθηκε για συγκρίσεις στην ηλικία και το ΔΜΣ μεταξύ ανδρών και γυναικών καθώς και ασθενών με ή χωρίς ιστορικό οστεοπορωτικής θεραπείας. Mann-Whitney U test και Kruskal-Wallis test χρησιμοποιήθηκαν για συγκρίσεις στο FRAX score μεταξύ ασθενών με ή χωρίς γνωστό ιστορικό οστεοπόρωσης και μεταξύ ασθενών με διαφορετικούς τύπους καταγμάτων αντίστοιχα. Το χ^2 test, με πίνακες 2x2 ή 2x3, χρησιμοποιήθηκε για όλους τους υπόλοιπους υπολογισμούς. Τέλος πραγματοποιήθηκε πολυπαραγοντική ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης για την εκτίμηση παραγόντων που μπορεί να σχετίζονται με την χορήγηση ή όχι αντιοστεοπορωτικής αγωγής σε ασθενείς υψηλού κινδύνου. Στην πολυπαραγοντική ανάλυση συμπεριλήφθηκαν μόνο μεταβλητές με $p < 0.05$ στην μονοπαραγοντική ανάλυση.

Να αναφερθεί εδώ ότι για τη μελέτη των γενετικών παραμέτρων έγινε power analysis για την επιλογή του μεγέθους του δείγματος από το σύνολο των ασθενών. Η power analysis έδειξε ότι απαιτούνται τουλάχιστον 150 δείγματα αίματος οστεοπορωτικών ασθενών και 45 μαρτύρων για την ανίχνευση διαφορών μεταξύ των διαφορετικών γονότυπων των πολυμορφισμών του CER1 με στατιστική δύναμη 80%.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Δ

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. Γενικά χαρακτηριστικά δείγματος

Στα πλαίσια της παρούσας διατριβής συνελέγησαν δεδομένα και δείγματα από 939 ασθενείς: 548 πάσχοντες και 244 μάρτυρες. Όπως αναφέρθηκε και στην ενότητα «Υλικά και Μέθοδοι», εξήντα εννιά δείγματα ήταν αδύνατο να ταξινομηθούν λόγω ελλειπών στοιχείων από το ιστορικό ή απουσία ελέγχου οστεοπόρωσης με DEXA. Στη συνέχεια δημιουργήθηκε βάση δεδομένων excel και spss στις οποίες καταχωρήθηκαν όλα τα αποτελέσματα και παρατηρήσεις. Σε περιπτώσεις όπου διαπιστώθηκαν σοβαρές ελλείψεις στο ιστορικό (>20%) και ήταν παράλληλα αδύνατη η επικοινωνία με τον ασθενή για συμπλήρωση των στοιχείων ή επανεξέταση, ο συγκεκριμένος ασθενής εξαιρούνταν από την περαιτέρω ανάλυση. Εξαιρέθηκαν επίσης άτομα ≤ 40 ετών από την ομάδα μαρτύρων. Τελικά λοιπόν μελετήθηκαν, 518 πάσχοντες και 140 μάρτυρες.

1.1 Κλινικά χαρακτηριστικά

Τα αίτια προσέλευσης ταξινομήθηκαν σε 4 μεγάλες κατηγορίες για τους πάσχοντες (κατάγματα, οστεοαρθρίτιδα, παρακολούθηση για οστεοπόρωση και άλλες ορθοπαιδικές επεμβάσεις) και 3 για τους μάρτυρες (όπως παραπάνω εκτός της οστεοπόρωσης). Όσον αφορά τα κατάγματα, όσα ήταν αποτέλεσμα βίας χαμηλής ενέργειας με βάση τα κριτήρια του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας, θεωρήθηκαν κατάγματα ευθραυστότητας και άρα ταξινομήθηκαν στους οστεοπορωτικούς, ανεξάρτητα παρουσίας φυσιολογικού DEXA. Αντίθετα, κατάγματα που προέκυψαν ως αποτέλεσμα τραυματικού γεγονότος (π.χ. τροχαίο, αθλητική κάκωση, πτώση από ύψος), ελέγχθηκαν με DEXA και ανάλογα με τα αποτελέσματα αυτού ταξινομήθηκαν στην αντίστοιχη ομάδα (πάσχοντες ή μάρτυρες). Αντίστοιχα, ασθενείς με οστεοαρθρίτιδα ή άλλες ορθοπαιδικές επεμβάσεις ταξινομήθηκαν μετά από DEXA ισχίου ή/και σπονδυλικής στήλης. Στις «άλλες ορθοπαιδικές επεμβάσεις» συμπεριλήφθηκαν επεμβάσεις για περιφερικές νευροπάθειες, αποκατάσταση του τενόντιου πετάλου του ώμου, συνδεσμικές κακώσεις του αγκώνα, του γόνατος ή της ποδοκνημικής, ραιβό μέγα δάκτυλο κτλ.

Παρακάτω δίνονται αναλυτικά τα αίτια εισόδου (**Πίνακας 17**) καθώς και τα δημογραφικά στοιχεία και τιμές μέτρησης οστικής πυκνότητας (**Πίνακας 18**) τόσο για τους πάσχοντες όσο και για τους μάρτυρες.

Πίνακας 17. Αίτια προσέλευσης οστεοπορωτικών ασθενών και μαρτύρων	
Πάσχοντες	
Κατάγματα	399
ΠΧΚ	61
Ισχίου	218
ΣΣ	46
Άλλα	74
ΟΑ	41
Οστεοπόρωση	44
Άλλες ορθοπαιδικές επεμβάσεις	34
Μάρτυρες	
Κατάγματα	37
ΟΑ	48
Άλλες ορθοπαιδικές επεμβάσεις	55

Η κατανομή ανδρών και γυναικών στις δύο ομάδες ήταν η ίδια, με την πλειοψηφία των οστεοπορωτικών ασθενών και των μαρτύρων να είναι γυναίκες (88% vs 86%, $p>0.05$). Συνολικά οι μάρτυρες ήταν σημαντικά νεότεροι από τους πάσχοντες (61.6 ± 11.4 vs 72.7 ± 16.5 έτη αντίστοιχα, $p<0.001$), με πιο αυξημένο δείκτη μάζας σώματος ($p<0.001$). Καμία διαφορά δεν παρατηρήθηκε μεταξύ των δύο ομάδων όσον αφορά την ηλικία εμμηνόπαυσης και εμμηναρχής καθώς και τη συχνότητα χρήσης κορτικοστεροειδών, καπνίσματος, πρόσληψης ασβεστίου και ύπαρξης οικογενειακού ιστορικού οστεοπόρωσης.

Τέλος, ο έλεγχος με DEXA έδειξε σημαντικά χαμηλότερο T-score και μέση οστική πυκνότητα στην ομάδα των οστεοπορωτικών σε σχέση με τους υγιείς.

Πίνακας 18. Χαρακτηριστικά δείγματος: οστεοπορωτικοί ασθενείς και μάρτυρες			
	Πάσχοντες (N=518)	Μάρτυρες (N=140)	p-value
Φύλο			
Άνδρες	61 (12%)	19 (14%)	1.000
Γυναίκες	457 (88%)	121 (86%)	1.000
Ηλικία	72.7 ± 16.5	61.6 ± 11.4	<0.001
Ηλικία εμμηνόπαυσης	47.1 ± 7.6	47.7 ± 6	0.862
Ηλικία εμμηναρχής	13.2 ± 1.5	13 ± 1.2	0.504
ΔΜΣ	27.45 ± 5.2	30 ± 6.19	0.001
BMD	0.783 ± 0.158	0.885 ± 0.134	<0.001
T-score	-2.2 ± 0.98	-0.9 ± 1	<0.001
Κορτικοστεροειδή	9.2%	2.9%	0.076
Οικογενειακό ιστορικό οστεοπόρωσης	29.6%	25%	0.465
Μειωμένη πρόσληψη ασβεστίου	20.6%	22.7%	0.701
Κάπνισμα	11.6%	13.4%	0.667

1.2 Δείκτες οστικού μεταβολισμού

Δείκτες οστικού μεταβολισμού μετρήθηκαν στο περιφερικό αίμα οστεοπορωτικών ασθενών και μαρτύρων. Αναλυτικά υπολογίστηκαν οι τιμές παραθορμόνης (PTH), οστεοκαλσίνης (HOST), καλσιτονίνης (HCT), IGF και λεπτίνης (LEPTIN). Διαφορές παρατηρήθηκαν στα επίπεδα παραθορμόνης και IGF μεταξύ οστεοπορωτικών και μη ασθενών. **(Πίνακας 19)**

Πίνακας 19. Δείκτες οστικού μεταβολισμού			
	Πάσχοντες	Μάρτυρες	p-value
PTH	47.24 ± 58.89	34.17 ± 20	0.001
HCT	3.23 ± 7	2.67 ± 3.45	0.891
HOST	5.46 ± 5.13	4.92 ± 4.08	0.304
IGF	111.94 ± 68.83	126.46 ± 58.66	0.025
LEPTIN*	13.84 ± 12.7	13.03 ± 9.92	0.854
* Η λεπτίνη μετρήθηκε μόνο σε 358 οστεοπορωτικούς και 39 μάρτυρες.			

Τέλος έγινε απομόνωση RNA και DNA από δείγματα περιφερικού αίματος και οστικών τεμαχίων. Γονιδιακή ανάλυση πραγματοποιήθηκε στο αίμα 164 πασχόντων και 50 μαρτύρων προκειμένου να προσδιοριστούν α) τα επίπεδα έκφρασης των γονιδίων FST, ITGB5, SOX-4, SMAD1 και RUNX2 και β) οι πολυμορφισμοί ορισμένων γονιδίων που εμπλέκονται στο σηματοδοτικό μονοπάτι του TGF. Μελετήθηκαν επίσης και 100 οστικά τεμάχια από οστεοπορωτικούς ασθενείς.

Στα επόμενα κεφάλαια παρουσιάζονται αναλυτικά τα αποτελέσματα του μοριακού ελέγχου καθώς και οι πιθανές συσχετίσεις των ευρημάτων αυτών με τις υπό μελέτη κλινικές παραμέτρους, την οστική πυκνότητα και τους βιοχημικούς δείκτες οστικής αναδόμησης.

2. Μελέτες κλινικών παραμέτρων

2.1 Υποδιάγνωση και υποθεραπεία της οστεοπόρωσης σε ασθενείς με οστεοπορωτικά κατάγματα

Όπως αναφέρθηκε και στο γενικό μέρος, η οστεοπόρωση και τα σχετιζόμενα με αυτή κατάγματα έχουν αναγνωρισθεί ως ένα μείζον πρόβλημα δημόσιας υγείας σε γηράσκοντες πληθυσμούς, καθώς σχετίζονται με αυξημένη νοσηρότητα, θνησιμότητα και σημαντικό κόστος για τα συστήματα υγείας παγκοσμίως. Λόγω του συνεχώς αυξανόμενου προσδόκιμου επιβίωσης, η επίπτωση των οστεοπορωτικών καταγμάτων αναμένεται να αυξηθεί επίσης. Εκτιμήσεις δείχνουν ότι η ετήσια επίπτωση καταγμάτων ισχίου αναμένεται να αυξηθεί από 1.66 εκατομμύρια το 1990 σε 6.26 εκατομμύρια μέχρι το 2050 [77].

Αυτή τη στιγμή, ο κίνδυνος εμφάνισης ενός κατάγματος ευθραυστότητας σε οποιαδήποτε εντόπιση στην ηλικία των 50 ετών είναι περίπου 40-53% στις γυναίκες και 13-21% στους άνδρες [232]. Ο μελλοντικός κίνδυνος κατάγματος αυξάνει σημαντικά σε ασθενείς με ιστορικό προηγμένου κατάγματος χαμηλής βίας [233]. Μια συστηματική μετανάλυση της βιβλιογραφίας έδειξε αύξηση του κινδύνου καταγμάτων πηχεοκαρπικής, σπονδυλικής στήλης και ισχίου κατά 2.3-, 7.2- and 1.8- φορές αντίστοιχα σε ασθενείς με προηγθέν οστεοπορωτικό κάταγμα οποιασδήποτε εντόπισης [234]. Άλλοι παράγοντες που έχουν συσχετισθεί με αυξημένο καταγματικό κίνδυνο περιλαμβάνουν την ηλικία, γυναικείο φύλο, χαμηλό ΔΜΣ, πρώιμη εμμηνόπαυση, οικογενειακό ιστορικό οστεοπόρωσης ή οστεοπορωτικού κατάγματος, συνοδές παθήσεις που σχετίζονται με δευτεροπαθή οστεοπόρωση, κάπνισμα και μειωμένη πρόσληψη ασβεστίου [235].

Παρά την ξεκάθαρη συσχέτιση μεταξύ προηγμένου οστεοπορωτικού κατάγματος και επόμενου κατάγματος, την ύπαρξη επαρκών διαγνωστικών εργαλείων για την αναγνώριση ασθενών σε κίνδυνο για οστεοπόρωση και τη διαθεσιμότητα αποτελεσματικών θεραπευτικών σκευασμάτων για την οστεοπόρωση, λίγοι μόνο ασθενείς με κατάγματα μη τραυματικής αιτιολογίας φαίνεται να υπόκεινται περαιτέρω έλεγχο και θεραπεία για οστεοπόρωση, προκειμένου να μειωθεί ο κίνδυνος εμφάνισης περαιτέρω μελλοντικών οστεοπορωτικών καταγμάτων [236, 237].

Στο συγκεκριμένο κομμάτι της μελέτης διερευνήσαμε το κατά πόσο η οστεοπόρωση αναγνωρίζεται και αντιμετωπίζεται επαρκώς σε ασθενείς με οστεοπορωτικά κατάγματα. Μελετήθηκαν επίσης παράγοντες που ενδεχομένως να επηρεάζουν τα ποσοστά διάγνωσης/θεραπείας της οστεοπόρωσης. Για την πραγματοποίηση της μελέτης, συμπεριλήφθηκαν ασθενείς με κατάγματα χαμηλής ενέργειας στο ισχίο, τη σπονδυλική στήλη (ΣΣ) και την πηχεοκαρπική (ΠΧΚ). Τα δεδομένα συνελέγησαν κατά τη διάρκεια νοσηλείας ή (επαν)εξέτασης των ασθενών και περιλάμβαναν παράγοντες κινδύνου για οστεοπόρωση, ιστορικό προηγούμενων οστεοπορωτικών καταγμάτων, καθώς και γνωστό ιστορικό οστεοπόρωσης και αντίστοιχης θεραπείας τη στιγμή της εισαγωγής. Έγινε επίσης εκτίμηση του προκαταγματικού κινδύνου για κάθε ασθενή προκειμένου να εξακριβωθεί κατά πόσο η οστεοπόρωση θα μπορούσε να έχει διαγνωσθεί προ του παρόντος κατάγματος.

Σε αυτό το κομμάτι της μελέτης υποθέσαμε ότι μέτρα και υπηρεσίες δευτεροπαθούς πρόληψης της οστεοπόρωσης, όπως το “Fracture Liaison Service” του International Osteoporosis Foundation [238] και το “Own the Bone” του American Orthopaedic Association [239] θα υιοθετούνταν από αυξανόμενο αριθμό νοσοκομείων και κλινικών στη χώρα μας, με αποτέλεσμα τη βελτίωση στα ποσοστά αντιμετώπισης της οστεοπόρωσης σε πληθυσμούς αυξημένου κινδύνου σε σχέση με παλαιότερες αναφορές στις ΗΠΑ και την Ευρώπη. Υποθέσαμε επίσης ότι γνωστοί παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση οστεοπόρωσης θα επηρεάζαν τα ποσοστά εκτίμησης και θεραπείας της οστεοπόρωσης.

2.1.1 Γενικά χαρακτηριστικά

Συνολικά 308 ασθενείς (257 γυναίκες, 51 άνδρες) με διάγνωση οστεοπορωτικού κατάγματος ισχίου, σπονδυλικής στήλης ή ΠΧΚ πληρούσαν τα κριτήρια εισαγωγής στη μελέτη (**Πίνακας 20**).

214 ασθενείς είχαν υποστεί κάταγμα εγγύς μηριαίου (69.5%), 41 κάταγμα σπονδυλικής στήλης (13.3%) και 53 κάταγμα άπω πέρατος κερκίδας (17.2%). Παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά στην εντόπιση του κατάγματος μεταξύ ανδρών και γυναικών (ισχίο: 88.2% vs 65.8%, ΣΣ: 7.8% vs 14.4%, ΠΧΚ: 4% vs 19.8% αντίστοιχα, $p=0.003$). Ο μέσος όρος ηλικίας στο σύνολο των ασθενών ήταν 75.9 ± 11.5 έτη. Ασθενείς με κατάγματα ισχίου ήταν σημαντικά πιο ηλικιωμένοι σε σχέση με ασθενείς των άλλων δύο ομάδων καταγμάτων ($p<0.001$). Δεν

παρατηρήθηκαν διαφορές στο μέσο όρο ηλικίας μεταξύ ανδρών και γυναικών (78.7 ± 12.5 vs 75.9 ± 11.5 έτη, $p=0.06$). Όσον αφορά τις γυναίκες ασθενείς, 255 ήταν μετεμμηνοπαυσιακές (μέση ηλικία εμμηνόπαυσης= 47.7 ± 6.3 έτη) και 2 ήταν περιεμμηνοπαυσιακές. Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στην ηλικία εμμηνόπαυσης μεταξύ των ασθενών με διαφορετικούς τύπους καταγμάτων. Ο μέσος δείκτης μάζας σώματος στο σύνολο των ασθενών ήταν $27 \pm 4.8 \text{ kg/m}^2$, με τους ασθενείς με κατάγματα ισχίου να παρουσιάζουν σημαντικά χαμηλότερο ΔΜΣ ($p=0.001$).

Πίνακας 20. Δημογραφικά χαρακτηριστικά, συνολικά και ανά τύπο κατάγματος.

Χαρακτηριστικά	Τύπος κατάγματος			Συνολικά
	Ισχίο	ΣΣ	ΠΧΚ	
Αριθμός ασθενών (%)	214 (69.5%)	41 (13.3%)	53 (17.2%)	308
Φύλο				
Άρρεν	45 (88%)	4 (7.8%)	2 (3.9%)	51 (16.6%)
Θήλυ	169 (65.8%)	37 (14.4%)	51 (19.8%)	257 (83.4%)
Ηλικία (μέσος όρος$\pm$SD)	79.6 ± 10	69.5 ± 9.4	66 ± 10.7	75.9 ± 11.5
Ηλικία εμμηνόπαυσης (μέσος όρος $\pm$ SD)	47.8 ± 6.3	47.9 ± 6.4	47.3 ± 6.3	47.7 ± 6.3
BMI (μέσος όρος $\pm$ SD)	26.1 ± 4.4	29.1 ± 5.9	28.8 ± 4.4	27 ± 4.8
FRAX-μείζον κάταγμα	21.8 ± 13.2	14.2 ± 9.7	12.9 ± 10	19.1 ± 12.8
FRAX-κάταγμα ισχίου	13.2 ± 12.2	6.3 ± 6.9	5.5 ± 7.7	10.8 ± 11.4

2.1.2 Ιστορικό προηγμένου κατάγματος

Από το σύνολο των 308 ασθενών, 88 (28.6%) είχαν υποστεί ένα προηγμένο οστεοπορωτικό κάταγμα, συμπεριλαμβανομένων 37 ισχίου, 10 σπονδυλικής στήλης, 13 ΠΧΚ και 17 σε άλλες εντοπίσεις (εγγύς βραχιόνιο, πτέρνα, άπω μηριαίο κτλ). Έντεκα ασθενείς (όλοι στην ομάδα των καταγμάτων ισχίου) είχαν υποστεί περισσότερα από ένα προηγούμενα κατάγματα. Δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ της παρουσίας προηγμένου οστεοπορωτικού κατάγματος και ηλικίας ($p=0.117$). Ωστόσο παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ της εντόπισης του παρόντος κατάγματος και του ιστορικού προηγμένου κατάγματος: ασθενείς με κάταγμα ισχίου είχαν αυξημένη πιθανότητα ύπαρξης προηγμένου κατάγματος σε σχέση με ασθενείς με τους άλλους δύο τύπους καταγμάτων ($p=0.029$). Η συχνότερη εντόπιση ήταν το ετερόπλευρο ισχίο για την ομάδα του ισχίου (49.3%), σπονδυλικής στήλης

για την ομάδα ΣΣ (62.5%) και ετερόπλευρο άπω πέρας κερκίδας για την ομάδα ΠΧΚ (88.9%). (Εικόνα 40)

Εικόνα 40. Ιστορικό προηγούμενων οστεοπορωτικών καταγμάτων σε ασθενείς με νεοδιαγνωσθέν κάταγμα ισχίου, σπονδυλικής στήλης ή άπω πέρας κερκίδας. Παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ της εντόπισης του παρόντος κατάγματος και προηγθέντων καταγμάτων. Ασθενείς με νέο κάταγμα ισχίου είχαν μεγαλύτερη πιθανότητα να έχουν υποστεί ετερόπλευρο κάταγμα ισχίου στο παρελθόν σε σχέση με ασθενείς διαγνωσθέντες με νέο κάταγμα ΣΣ ή ΠΧΚ ($p=0.011$). Προηγθέντα κατάγματα ΣΣ ήταν πιο συχνά στην ομάδα ασθενών με νέα σπονδυλικά κατάγματα ($p=0.001$). Τέλος, ασθενείς διαγνωσθέντες με κάταγμα ΠΧΚ είχαν συχνότερα ιστορικό προηγθέντος ετερόπλευρου κατάγματος ΠΧΚ σε σχέση με τις 2 άλλες ομάδες ασθενών ($p<0.001$). Άλλοι τύποι καταγμάτων (εκτός ΣΣ, ισχίου και ΠΧΚ) ή κατάγματα σε πολλαπλές εστίες πριν το παρόν κάταγμα παρατηρήθηκαν μόνο στην ομάδα με κατάγματα ισχίου.

2.1.3 Άλλοι παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση οστεοπόρωσης

Η πλειοψηφία των ασθενών (238/308, 77.3%) ανέφεραν την ύπαρξη τουλάχιστον ενός παράγοντα κινδύνου για οστεοπόρωση. Οι πιο συχνά αναφερθέντες παράγοντες κινδύνου με φθίνουσα σειρά ήταν η χαμηλή διαιτητική

πρόσληψη ασβεστίου, ο σακχαρώδης διαβήτης, το οικογενειακό ιστορικό οστεοπόρωσης, η χρήση φαρμάκων που έχουν συσχετισθεί με εμφάνιση οστεοπόρωσης και η θυρεοειδοπάθεια. **(Πίνακας 21)**

Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές αναφορικά με την παρουσία ή όχι παραγόντων κινδύνου συνολικά μεταξύ ασθενών που εισήχθησαν με διαφορετικά κατάγματα. Ωστόσο, διαφορές παρατηρήθηκαν όταν οι παράγοντες κινδύνου εξετάστηκαν ο κάθε ένας ξεχωριστά. Ασθενείς με κάταγμα ΠΧΚ ανέφεραν την ύπαρξη οικογενειακού ιστορικού οστεοπόρωσης συχνότερα από τους ασθενείς με κατάγματα ισχίου (32.1% vs 10.7%, $p < 0.001$). Από την άλλη μεριά, ο σακχαρώδης διαβήτης και η παρατεταμένη ακινητοποίηση ήταν σημαντικά πιο συχνά στην ομάδα ασθενών με κάταγμα ισχίου σε σχέση με την ΠΧΚ (22% vs 9.4%, $p = 0.036$ and 15.9% vs 3.8%, $p = 0.035$). Τέλος, σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν στο FRAX score μεταξύ ασθενών με κατάγματα ισχίου και των άλλων 2 ομάδων ασθενών. Αναλυτικά, ασθενείς με κατάγματα ισχίου είχαν υψηλότερο 10ετή κίνδυνο για εμφάνιση μείζονος οστεοπορωτικού κατάγματος ($21.8\% \pm 13.2\%$) και νέου κατάγματος ισχίου ($13.2\% \pm 12.2\%$) σε σχέση με ασθενείς με κάταγμα ΠΧΚ ($p < 0.001$) και ΣΣ ($p = 0.001$). **(Πίνακας 20)**

2.1.4 Διάγνωση και θεραπεία της οστεοπόρωσης πριν το παρόν κάταγμα

Κατά την εισαγωγή στο νοσοκομείο για το παρόν κάταγμα, μόνο 79 ασθενείς (25.6%) γνώριζαν ότι έχουν οστεοπόρωση και ακόμα λιγότεροι (66 ασθενείς, 21.4%) λάμβαναν κάποια μορφή αντιοστεοπορωτικής θεραπείας **(Εικόνα 41Α)**. Αυτοί οι εξήντα έξι ασθενείς ανέφεραν συμμόρφωση στη χορηγηθείσα αντιοστεοπορωτική φαρμακευτική αγωγή.

Τα συμπληρώματα ασβεστίου/βιταμίνης D ήταν τα συχνότερα χρησιμοποιούμενα σκευάσματα (40.9%), ακολουθούμενα από τα διφωσφονικά (39.4%). Άλλοι συνταγογραφούμενοι παράγοντες ήταν η καλσιτονίνη (12.1%), η παραθορμόνη (1.5%), το ρανελικό στρόντιο (1.5%) και η ραλοξιφαίνη (1.5%). Δύο ασθενείς λάμβαναν πολλαπλά σκευάσματα έναντι της οστεοπόρωσης **(Εικόνα 41Β)**.

Οι υπόλοιποι διαγνωσθέντες, αλλά όχι θεραπευθέντες ασθενείς (13/79) είτε δεν έλαβαν καθόλου φαρμακευτική αγωγή ή αρχικά έλαβαν αντιοστεοπορωτική θεραπεία, αλλά σταμάτησαν τη θεραπεία από μόνοι τους μετά από μικρό χρονικό

διάστημα (<6 μήνες). Επομένως, ασθενείς που ανέφεραν διακοπή της αντιοστεοπορωτικής τους αγωγής θεωρήθηκαν ως μη αντιμετωπισθέντες και συμπεριλήφθηκαν στην ομάδα “Διάγνωση, αλλά όχι θεραπεία”. **(Εικόνα 41Α)**

Πίνακας 21. Παράγοντες κινδύνου για οστεοπόρωση στον πληθυσμό της μελέτης, συνολικά και κατά τύπο κατάγματος

Παράγοντες κινδύνου για οστεοπόρωση	Τύπος κατάγματος			Σύνολο
	Ισχίο	ΣΣ	ΠΧΚ	
Οποιοσδήποτε παράγοντας	168 (78.5%)	30 (73.2%)	40 (75.5%)	238 (77.3%)
Μη τροποποιήσιμοι				
Προηγθέν οστεοπορωτικό κάταγμα	71 (33%)	8 (19.5%)	9 (17%)	88 (28.6%)
Οικογενειακό ιστορικό οστεοπόρωσης	24 (11.2%)	8 (19.5%)	17 (32.1%)	49 (15.6%)
Καθυστερημένη εμμηναρχή	20 (9.3%)	6 (14.6%)	7 (13.2%)	33 (10.7%)
Πρώιμη εμμηνόπαυση	20 (9.3%)	4 (9.8%)	8 (15.1%)	32 (10.4%)
Συνοδές παθήσεις				
Θυρεοειδοπάθεια	25 (11.6%)	5 (12.2%)	10 (18.9%)	40 (13%)
Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια	8 (3.7%)	0	0	8 (2.6%)
Ρευματοειδής αρθρίτιδα	6 (2.8%)	1 (2.4%)	2 (3.8%)	9 (2.9%)
Ενδοκρινοπάθειες και Αυτοάνοσα	7 (3.3%)	4 (9.8%)	1 (1.9%)	12 (3.9%)
Χρόνια αποφρακτική πνευμονοπάθεια	11 (5.1%)	1 (2.4%)	1 (1.9%)	13 (4.2%)
Σακχαρώδης διαβήτης	47 (22%)	4 (9.8%)	5 (9.4%)	56 (18.2%)
Παρατεταμένη ακινητοποίηση	32 (15%)	4 (9.8%)	2 (3.8%)	38 (12.3%)
Φάρμακα				
Κορτικοστεροειδή	30 (14%)	2 (4.9%)	3 (5.7%)	35 (11.4%)
Άλλα (PPIs, Ηπαρίνη, Αντιεπιληπτικά κα)	29 (13.6%)	7 (17.1%)	5 (9.4%)	41 (13.3%)
Τρόπος ζωής				
Χαμηλή διαιτητική πρόσληψη ασβεστίου	59 (27.6%)	7 (17.1%)	8 (15.1%)	74 (24%)
Ατεκνία	16 (7.5%)	5 (12.2%)	3 (5.7%)	24 (7.8%)
Κάπνισμα	24 (11.2%)	7 (17.1%)	7 (13.2%)	38 (12.3%)
Χαμηλός ΔΜΣ ($\leq 20 \text{kg/m}^2$)	18 (8.4%)	1 (2.4%)	2 (3.8%)	21 (6.8%)

Ασθενείς που λάμβαναν αντιοστεοπορωτική αγωγή ήταν σημαντικά νεότεροι σε σχέση με αυτούς που δε λάμβαναν θεραπεία ($p=0.026$). Επιπλέον, οι γυναίκες είχαν μεγαλύτερες πιθανότητες διάγνωσης/θεραπείας σε σχέση με τους άνδρες. Αναλυτικά, 29.6% των γυναικών είχαν ήδη διαγνωσθεί με οστεοπόρωση και 24.5% (63/257) λάμβαναν ανάλογη θεραπεία, ενώ μόνο το 6% των ανδρών είχαν διαγνωσμένη οστεοπόρωση με κατάλληλη φαρμακευτική αγωγή ($p<0.001$ και $p=0.002$ αντίστοιχα). Δεν παρατηρήθηκε καμία συσχέτιση μεταξύ αντιοστεοπορωτικής αγωγής και ΔΜΣ ή ηλικίας εμμηνόπαυσης. Τα FRAX score για μείζονα κατάγματα και κατάγματα ισχίου δε διέφεραν σημαντικά ($p>0.05$) μεταξύ ασθενών που λάμβαναν ή όχι αγωγή για οστεοπόρωση. **(Πίνακας 22)**

Πίνακας 22. Μονοπαραγοντική ανάλυση συνεχών μεταβλητών σε ασθενείς που λάμβαναν ή όχι θεραπεία για οστεοπόρωση			
Χαρακτηριστικό	Προηγούμενη αντιοστεοπορωτική θεραπεία		p value
	Ναι	Όχι	
	N=66	N=242	
Ηλικία	73 ± 10.7	76.6 ± 11.6	0.026
ΔΜΣ	27.3 ± 3.8	26.9 ± 5	0.456
Ηλικία εμμηνόπαυσης	48.1 ± 5.4	47.6 ± 6.6	0.557
FRAX-μείζον κάταγμα	22.2 ± 14.7	18.3 ± 12.2	0.072
FRAX-κάταγμα ισχίου	12.2 ± 13.8	10.4 ± 10.6	0.645

Ασθενείς με προηγούμενα κατάγματα ήταν πιθανότερο να έχουν καταγεγραμμένη διάγνωση οστεοπόρωσης και αντίστοιχη θεραπεία συγκριτικά με ασθενείς χωρίς προηγούμενα κατάγματα (Διάγνωση: 34.1% vs 22.5%, $p=0.036$, Θεραπεία: 31.8% vs 17.4%, $p=0.006$). Συσχέτιση παρατηρήθηκε επίσης μεταξύ της εντόπισης του προηγούμενου κατάγματος και της λήψης αντιοστεοπορωτικής αγωγής ($p=0.012$); θεραπεία λάμβαναν 22% των ασθενών με παλαιότερα κατάγματα ισχίου, 62.5% με κατάγματα ΣΣ, 57% με κατάγματα ΠΧΚ, 18% με άλλους τύπους καταγμάτων και 75% με πολλαπλά κατάγματα. Όσον αφορά τους υπόλοιπους παράγοντες κινδύνου, μόνο λίγοι από αυτούς συσχετίστηκαν με αυξημένα ποσοστά περαιτέρω αντιμετώπισης της οστεοπόρωσης, ονομαστικά η χρήση κορτικοστεροειδών και το οικογενειακό ιστορικό οστεοπόρωσης. **(Πίνακας 23)**

Τα στατιστικώς σημαντικά αποτελέσματα της μονοπαραγοντικής ανάλυσης χρησιμοποιήθηκαν ως ανεξάρτητες μεταβλητές για το μοντέλο της πολυπαραγοντικής ανάλυσης. Μέσω της πολυπαραγοντικής ανάλυσης αναγνωρίστηκαν 6 χαρακτηριστικά τα οποία συσχετίστηκαν ανεξάρτητα με την πιθανότητα λήψης αντιοστεοπορωτικής θεραπείας: ηλικία, φύλο, ιστορικό προηγούμενου κατάγματος, σακχαρώδης διαβήτης και οικογενειακό ιστορικό οστεοπόρωσης **(Πίνακας 24)**. Αναλυτικά, οι γυναίκες είχαν 4 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα να έχουν λάβει θεραπεία από ότι οι άνδρες (OR 4.28; 95% CI: 1.19–15.4). Επιπλέον, ασθενείς 66-75 ετών είχαν 4 φορές μεγαλύτερη πιθανότητα για

θεραπεία σε σχέση με ασθενείς >86 ετών (OR 4.60; 95% CI: 1.50–14.11). Αυξημένες

Πίνακας 23. Μονοπαραγοντική ανάλυση ποιοτικών μεταβλητών σε ασθενείς που λάμβαναν ή όχι θεραπεία για οστεοπόρωση κατά την εισαγωγή				
Μελετηθέντες παράγοντες	Θεραπεία οστεοπόρωσης N=66	Όχι Θεραπεία οστεοπόρωσης N=242	RR (95% CI)	p value
Φύλο				
Γυναίκες	63 (95.5%)	194 (80.2%)	4.081 (1.34-12.5)	0.002
Άνδρες	3 (4.5%)	48 (19.8%)	0.245 (0.08-0.75)	0.002
Οποιοσδήποτε παράγοντας κινδύνου	56 (84.8%)	182 (75.2%)	1.6 (0.86-2.97)	0.119
Προηγθέν οστεοπορωτικό κάταγμα	28 (42.4%)	60 (24.8%)	1.82 (1.52-2.78)	0.006
Οικογενειακό ιστορικό οστεοπόρωσης	19 (28.8%)	30 (12.4%)	2.13 (1.38-3.29)	0.001
Καθυστερημένη εμμηναρχή	7 (10.6%)	26 (10.7%)	0.86 (0.43-1.73)	0.674
Πρώιμη εμμηνόπαυση	6 (9.1%)	26 (10.7%)	0.75 (0.35-1.60)	0.440
Θυρεοειδοπάθεια	11 (16.7%)	29 (12%)	1.34 (0.77-2.33)	0.322
ΧΝΑ	2 (3%)	6 (2.5%)	1.16 (0.34-3.94)	0.684
Ρευματοειδής αρθρίτιδα	4 (6.1%)	5 (2.1%)	1 (0.97-4.59)	0.104
Ενδοκρινοπάθειες & Αυτοάνοσα	5 (7.6%)	7 (2.9%)	2.02 (1-4.08)	0.083
ΧΑΠ	2 (3%)	11 (4.5%)	0.71 (0.19-2.58)	0.742
Σακχαρώδης διαβήτης	5 (7.6%)	51 (21.1%)	0.37 (0.15-0.87)	0.011
Παρατεταμένη ακινητοποίηση	8 (12.1%)	30 (12.4%)	0.98 (0.5-1.89)	0.943
Κορτικοστεροειδή	13 (19.7%)	22 (9.1%)	1.9 (1.16-3.13)	0.017
Άλλα σχετικά φάρμακα	8 (12.1%)	33 (12.4%)	1.01 (0.54-1.89)	0.971
Χαμηλή διαιτητική πρόσληψη ασβεστίου	14 (21.2%)	60 (24.8%)	0.97 (0.59-1.96)	0.900
Ατεκνία	5 (7.6%)	19 (7.9%)	0.97 (0.46-2.02)	0.925
Κάπνισμα	8 (12.1%)	30 (12.4%)	0.97 (0.5-1.87)	0.925
Χαμηλός ΔΜΣ ($\leq 20\text{kg/m}^2$)	2 (3%)	19 (7.9%)	0.43 (0.11-1.62)	0.269

πιθανότητες λήψης αντιοστεοπορωτικής αγωγής παρατηρήθηκαν επίσης σε ομάδες ασθενών με προηγθέντα κατάγματα ευθραυστότητας (OR=2.32; 95%CI: 1.20-4.48) και οικογενειακό ιστορικό οστεοπόρωσης (OR=2.71, 95%CI: 1.28-5.76). Τα ποσοστά θεραπείας ήταν ιδιαίτερα αυξημένα σε ασθενείς με κατάγματα σπονδυλικής στήλης (OR=5.83; 95%CI: 1.07-31.76) ή πολλαπλά κατάγματα (OR=10.50, 95%CI: 1.67-66.09) σε σχέση με ασθενείς με προηγούμενα κατάγματα ισχίου. Τέλος, ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη είχαν μικρότερες πιθανότητες λήψης φαρμακευτικής αγωγής συγκριτικά με ασθενείς χωρίς διαβήτη (OR=0.27, 95%CI: 0.09-0.79).

Πίνακας 24. Πολυπαραγοντική λογιστική παλινδρόμηση σε παράγοντες που μπορεί να επηρεάζουν τη λήψη αντιοστεοπορωτικής αγωγής πριν την παρούσα εισαγωγή		
Χαρακτηριστικό	Odds Ratio (95% CI)	P value
Φύλο Ανδρες Γυναίκες	1.00 (Ref) 4.28 (1.19-15.40)	0.026
Ηλικιακή ομάδα <55 56-65 66-75 76-85 >86	1.30 (0.22-7.62) 2.41 (0.68-8.54) 4.60 (1.50-14.11) 1.66 (0.55-5.00) 1.00 (Ref)	0.774 0.173 0.008 0.368
Προηγθέν οστεοπορωτικό κάταγμα Ναι Όχι	2.32 (1.20-4.48) 1.00 (Ref)	0.012
Εντόπιση προηγούμενου κατάγματος Ισχίο ΠΧΚ ΣΣ Άλλο Πολλαπλά	1.00 (Ref) 4.67 (0.81-26.87) 5.83 (1.07-31.76) 0.778 (0.13-4.62) 10.50 (1.67-66.09)	0.085 0.041 0.782 0.012
Χρήση κορτικοστεροειδών Ναι Όχι	2.25 (0.83-6.06) 1.00 (Ref)	0.110
Σακχαρώδης διαβήτης Ναι Όχι	0.27 (0.09-0.79) 1.00 (Ref)	0.016
Οικογενειακό ιστορικό Ναι Όχι	2.71 (1.28-5.76) 1.00 (Ref)	0.009

2.2 Τα κατάγματα Colles ως δείκτης υποκείμενης οστεοπόρωσης

Τα κατάγματα Colles είναι τα πρώτα οστεοπορωτικά κατάγματα που εμφανίζονται αμέσως μετά την εμμηνόπαυση, με 15% συνολικό κίνδυνο εμφάνισης κατά τη διάρκεια της ενήλικου ζωής των γυναικών [240]. Είναι γενικά αποδεκτό ότι τα κατάγματα ΠΧΚ αποτελούν κατάγματα ευθραυστότητας οφειλόμενα στην οστεοπόρωση και σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης άλλων οστεοπορωτικών καταγμάτων στο μέλλον. Γενικά προηγούνται των καταγμάτων ισχίου κατά 15 περίπου χρόνια.

Παρά το γεγονός ότι υπάρχει σαφής συσχέτιση μεταξύ της ύπαρξης κατάγματος ΠΧΚ μετά από βία χαμηλής ενέργειας ή απουσία τραυματικού γεγονότος και μελλοντικών οστεοπορωτικών καταγμάτων, φαίνεται ότι λίγοι μόνο ασθενείς με κατάγματα Colles αντιμετωπίζονται περαιτέρω για οστεοπόρωση έτσι ώστε να μειωθεί ο κίνδυνος εμφάνισης ενός κατάγματος ισχίου.

Πολλαπλές μελέτες έχουν διερευνήσει τη συσχέτιση μεταξύ καταγμάτων Colles' και BMD. Οι περισσότερες έχουν δείξει ότι το BMD είναι γενικά μειωμένο [241-243], άλλες ότι είναι χαμηλό σε συγκεκριμένες εντοπίσεις του σκελετού μόνο [244] ή εντελώς φυσιολογικό σε σύγκριση με αντίστοιχα controls [245]. Αυτές οι διαφορές μπορεί να οφείλονται στο γεγονός ότι η πλειοψηφία αυτών των μελετών ήταν αναδρομικές, είχαν μικρό αριθμό συμμετεχόντων ή χρησιμοποίησαν μη ακριβείς μεθόδους προσδιορισμού της οστικής πυκνότητας. Έχει προταθεί ότι κατάγματα Colles συμβαίνουν σπάνια σε γυναίκες με BMD $>0.4 \text{ g/cm}^2$ στο άνω πέρας της κερκίδας και ότι αυτό το επίπεδο BMD θα μπορούσε πιθανώς να θεωρηθεί ως καταγματικός ουδός για την κερκίδα [246].

Στόχος της παρούσας υπομελέτης είναι η διερεύνηση μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών με κάταγμα πηχεοκαρπικής για τιμές BMD και υποκείμενη οστεοπόρωση. Ταυτόχρονα έγινε προσπάθεια περαιτέρω εμπλουτισμού του διαγνωστικού αλγόριθμου των πρωτοεμφανισθέντων καταγμάτων Colles με γονιδιακό έλεγχο. Συγκεκριμένα οι παράμετροι από το ιστορικό καθώς και τον απεικονιστικό και εργαστηριακό έλεγχο συνδιάστηκαν με τον έλεγχο των πολυμορφισμών (SNPs; single nucleotide polymorphisms) του γονιδίου Cerberus 1 (CER1) που έχει δειχθεί ότι εμπλέκεται στην εμφάνιση της νόσου.

2.2.1 Κλινικά χαρακτηριστικά

Συνολικά αναγνωρίστηκαν 56 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με κάταγμα Colles για συμμετοχή στο παρόν κομμάτι της μελέτης. Από το ιστορικό έγινε καταγραφή της ενέργειας του κατάγματος, παραγόντων κινδύνου, προηγούμενου κατάγματος και ιστορικού οστεοπόρωσης. Τα ποσοστικά χαρακτηριστικά του δείγματος δίνονται στον **Πίνακα 25**.

Πίνακας 25. Ποσοτικά χαρακτηριστικά του δείγματος	
Παράγοντες	Μέσος όρος $\pm$ Τυπική απόκλιση
Ηλικία	65.6 $\pm$ 11.6
Ηλικία εμμηναρχής	13.3 $\pm$ 1.6
Ηλικία εμμηνόπαυσης	47.6 $\pm$ 5.8
Αριθμός τέκνων	2.2 $\pm$ 1.1
Δείκτης μάζας σώματος	29.19 $\pm$ 4.94

Ο μέσος όρος ηλικίας ήταν τα 65.6 έτη (εύρος 43–84 έτη). Έξι ασθενείς ανέφεραν ιστορικό προηγθέντος κατάγματος χαμηλής ενέργειας: στις 5/6 το προηγθέν κάταγμα ήταν κάταγμα του ετερόπλευρου άπω πέρατος κερκίδας, ενώ η τελευταία γυναίκα ανέφερε δύο προηγθέντα μη τραυματικά κατάγματα (υπερκονδύλιο κάταγμα μηριαίου, και υποτροχαντήριο κάταγμα ισχίου). Όσον αφορά τους υπόλοιπους παράγοντες κινδύνου, τριάντα δύο ασθενείς (57%) είχαν τουλάχιστον έναν παράγοντα κινδύνου για εμφάνιση οστεοπόρωσης, συμπεριλαμβανομένων προηγθέντων καταγμάτων ευθραυστότητας, οικογενειακού ιστορικού οστεοπόρωσης, συνοδών παθήσεων σχετιζόμενων με δευτεροπαθή οστεοπόρωση, χαμηλή διαιτητική πρόσληψη ασβεστίου, λήψη κορτικοστεροειδών και χαμηλό ΔΜΣ (<20). (**Εικόνα 42**)

Μόνο 14 από τις 56 ασθενείς γνώριζαν ήδη ότι είχαν οστεοπόρωση και λάμβαναν αντίστοιχη θεραπεία. Το είδος της αντιοστεοπορωτικής αγωγής που λάμβαναν οι προαναφερθείσες ασθενείς δίνεται στην **Εικόνα 43**.

2.2.2 Μέτρηση μέσης οστικής πυκνότητας με DEXA

Ακολούθησε μέτρηση οστικής πυκνότητας με DEXA ΟΜΣΣ ή/και ισχίου. Οι ασθενείς ταξινομήθηκαν ως φυσιολογικοί, οστεοπενικοί ή οστεοπορωτικοί με βάση τα διαγνωστικά κριτήρια του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας. Σε περιπτώσεις μέτρησης της BMD και στο ισχίο και στην ΟΜΣΣ, για την περαιτέρω ανάλυση και εξαγωγή συμπερασμάτων χρησιμοποιήθηκε η μέτρηση με τη χαμηλότερη τιμή.

Στις 42 από τις 56 γυναίκες που δεν είχαν ήδη γνωστό ιστορικό οστεοπόρωσης, το DEXA ανέδειξε οστεοπόρωση σε ποσοστό 50% (21 ασθενείς). Δεκατρείς ασθενείς ήταν οστεοπενικές (31%), ενώ μόνο 8 ασθενείς (19 %) είχαν εντελώς φυσιολογική οστική πυκνότητα με βάση τη μέτρηση με DEXA. Στο σύνολο των ασθενών με κατάγματα Colles το T-score ήταν -1.75 , με εύρος: -3.27 έως 0.9 και η μέση οστική πυκνότητα BMD= $0,764$, με εύρος: $0.470-1.004$.

Επομένως, με βάση το ιστορικό και τον απεικονιστικό έλεγχο με DEXA συνολικά 35 (14 με γνωστό ιστορικό + 21 νεοδιαγνωσθείσες) από τις 56 ασθενείς (62.5%) είχαν οστεοπόρωση.

2.2.3 Βιοχημικοί δείκτες οστικού μεταβολισμού

Τέλος έγινε αιμοληψία για προσδιορισμό α) βιοχημικών δεικτών οστικού μεταβολισμού (παραθορμόνη, οστεοκαλσίνη, καλσιτονίνη, IGF-1) και β) γονιδιακή ανάλυση (πολυμορφισμοί του γονιδίου CER1).

Τα επίπεδα των βιοχημικών δεικτών δε φαίνεται να διαφέρουν από τις φυσιολογικές τιμές, ούτε και μεταξύ οστεοπορωτικών και μη γυναικών με κάταγμα Colles (με βάση τις τιμές DEXA). Να σημειωθεί εδώ ότι η σύγκριση στους βιοχημικούς δείκτες έγινε μόνο μεταξύ οστεοπορωτικών και φυσιολογικών δειγμάτων. Οι ασθενείς με οστεοπενία εξαιρέθηκαν από τη σύγκριση. **(Πίνακας 26)**

Πίνακας 26. Βιοχημικοί δείκτες οστικού μεταβολισμού σε οστεοπορωτικές και μη οστεοπορωτικές γυναίκες με κατάγματα ΠΧΚ			
Βιοχημικός δείκτης	Οστεοπορωτικοί	Μη οστεοπορωτικοί	P-value
Παραθορμόνη (φτ 8-76pg/ml)	46.6 ± 17.4	43.9 ± 13	0.688
Καλσιτονίνη (φτ 0-10pg/ml)	2.15 ± 2.5	1.8 ± 1.1	0.704
Οστεοκαλσίνη (φτ 5-25ng/ml)	7.5 ± 3.5	5.6 ± 2.8	0.573
Λεπτίνη (φτ 4.7-23.7 ng/ml)	12.2 ± 9.2	19.5 ± 15.3	0.110
IGF-1 (φτ 91-320 ng/ml)	127.7 ± 54.6	115.6 ± 56.4	0.592

2.2.4 Πολυμορφισμοί του CER1

Οι μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί του CER1 που παρουσίασαν μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης στις οστεοπορωτικές ασθενείς με κατάγμα Colles ήταν οι c.194C>G (Exon 1, rs3747532) και c.507+506G>T (Intron, rs1494360).

(Εικόνα 44)

2.3 Απόκλιση T-score ισχίου και σπονδυλικής στήλης κατά τη διάγνωση οστεοπόρωσης: συχνότητα και παράγοντες κινδύνου

Ο υπολογισμός της οστικής πυκνότητας με DEXA χρησιμοποιείται ευρέως για τη διάγνωση της οστεοπόρωσης, την εκτίμηση κινδύνου εμφάνισης καταγμάτων καθώς και την παρακολούθηση της εξέλιξης και ανταπόκρισης στη θεραπεία. Η απορροφησιομετρία ακτίνων Χ διπλής ενέργειας είναι ακριβής, ανώδυνη, μη επεμβατική, με χαμηλές δόσεις ακτινοβολίας. Προοπτικές μελέτες σειράς και μελέτες πασχόντων-μαρτύρων αποδεικνύουν μια άμεση σχέση μεταξύ μειωμένης BMD και αυξημένου καταγματικού κινδύνου. Επιπλέον, σταθεροποίηση ή αύξηση της BMD με αντιοστεοπορωτική θεραπεία σχετίζεται με σημαντική μείωση στην επίπτωση οστεοπορωτικών καταγμάτων [247].

Με βάση τις προτάσεις της International Society for Clinical Densitometry η BMD πρέπει να μετριέται στις δύο προτιμώμενες περιοχές, το ισχίο και τη σπονδυλική στήλη για να τεθεί με ακρίβεια η διάγνωση της οστεοπόρωσης [248]. DEXA είναι καλό να γίνεται και σε τρίτο σκελετικό σημείο (στο άνω 1/3 της κερκίδας του μη κυρίαρχου χεριού) σε περιπτώσεις αδυναμίας ελέγχου ή τεχνικών προβλημάτων κατά την εξέταση των δύο πρωταρχικών περιοχών ελέγχου. Επιπρόσθετα, προτείνεται η διάγνωση της οστεοπόρωσης να τίθεται με βάση το

χαμηλότερο T-score στη σπονδυλική στήλη, τον αυχένα του μηριαίου ή το ισχίο [249]. Ένας από τους λόγους που καθιστούν απαραίτητη τη μέτρηση BMD σε περισσότερα από ένα σημεία είναι η παρουσία του φαινομένου της απόκλισης, το οποίο μπορεί να επηρεάσει σημαντικά τη διάγνωση και τη θεραπεία της οστεοπόρωσης [250].

Απόκλιση στη διάγνωση της οστεοπόρωσης παρατηρείται όταν το T-score ενός ασθενούς διαφέρει σημαντικά μεταξύ δύο σημείων μέτρησης, με αποτέλεσμα να εμπίπτει σε διαφορετικές διαγνωστικές κατηγορίες με βάση την ταξινόμηση του WHO. Η διαφορά των T-score κατά μία διαγνωστική κατηγορία (δηλαδή φυσιολογικό σε μια περιοχή και οστεοπενία στην άλλη ή οστεοπενία στη μία και οστεοπόρωση στην άλλη) ορίζεται ως ελάσσων απόκλιση. Η παρουσία φυσιολογικού T-score στη μια περιοχή και οστεοπορωτικού στη δεύτερη ορίζεται ως μείζων απόκλιση [247].

Αρκετές μελέτες έχουν θίξει το θέμα του επιπολασμού της απόκλισης του T-score και τη σημασία στην αντιμετώπιση της οστεοπόρωσης. Λίγες όμως από αυτές έχουν μελετήσει τους παράγοντες κινδύνου που μπορεί να σχετίζονται με το εν λόγω φαινόμενο. Επομένως, στόχος της παρούσας υπομελέτης είναι α) η εκτίμηση της συχνότητας και β) των παραγόντων κινδύνου εμφάνισης του φαινομένου της απόκλισης του T-score με τη χρήση DEXA ισχίου και οσφυϊκής μοίρας της σπονδυλικής στήλης.

Η μελέτη αυτή ήταν αναδρομική. Τα δεδομένα συνελέγησαν από τη συνολική βάση δεδομένων που δημιουργήθηκε για τη διατριβή. Στην ανάλυση συμπεριλήφθηκαν ασθενείς με DEXA σπονδυλικής στήλης και ισχίου τα οποία πραγματοποιήθηκαν στο ίδιο διαγνωστικό την ίδια χρονική στιγμή.

2.3.1 Γενικά χαρακτηριστικά του δείγματος

Από τη βάση δεδομένων αναγνωρίστηκαν 64 ασθενείς που πληρούσαν τα κριτήρια εισαγωγής στη μελέτη. Καταγράφηκαν η αιτία προσέλευσης, δημογραφικά στοιχεία, ΔΜΣ και παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση οστεοπόρωσης. Ακολούθησε μέτρηση οστικής πυκνότητας με ΟΜΣΣ και ισχίου.

Η πλειοψηφία των ασθενών ήταν γυναίκες (91%, 58/64). Ο μέσος όρος ηλικίας για το σύνολο των ασθενών ήταν 68.5 έτη. Οι σημαντικότεροι λόγοι παραπομπής για έλεγχο μέσης οστικής πυκνότητας με DEXA ήταν η εμμηνόπαυση,

η προχωρημένη ηλικία ή η ύπαρξη προηγηθέντος κατάγματος. Τα γενικά χαρακτηριστικά των συμμετεχόντων δίνονται στον **Πίνακα 27**.

Πίνακας 27. Γενικά χαρακτηριστικά

Φύλο (Α/Γ)	6/58
Ηλικία	68.47 ± 11.3
ΔΜΣ	28.29 ± 5.35
Ηλικία εμμηνόπαυσης	46.4 ± 6.54
T-score ισχίου	-1.61
T-score ΟΜΣΣ	-1.75

Οι τιμές παρουσιάζονται ως μέση τιμή και τυπική απόκλιση. Α: Άνδρες, Γ: Γυναίκες, ΔΜΣ: Δείκτης Μάζας Σώματος

2.3.2 Αποτελέσματα DEXA: Ταξινόμηση T-score

Από τους 64 ασθενείς, 22.2% διαγνώστηκαν με οστεοπόρωση στο ισχίο και 28.6% στην ΟΜΣΣ. (**Πίνακας 28**) Το μέσο T-score ισχίου στο σύνολο των ασθενών ήταν -1.61 (εύρος: -4.10 έως 1), ενώ στην ΟΜΣΣ -1.75 (εύρος: -4.64 έως 3.30).

Πίνακας 28. Αποτελέσματα DEXA

	ΟΜΣΣ		Ισχίο	
	Αριθμός	%	Αριθμός	%
Φυσιολογικό	13	20.6	15	23.8
Οστεοπενία	32	50.8	34	54
Οστεοπόρωση	18	28.6	14	22.2

Απόκλιση μεταξύ των T-score ισχίου και ΟΜΣΣ παρατηρήθηκε στο 54% των περιπτώσεων (ελλάσων: 46%, μείζων: 8%). (**Πίνακας 29**) Η πλειοψηφία (59%) των ασθενών με ελάχιστο απόκλιση παρουσίασαν ελαφρώς χαμηλότερο T-score στο ισχίο σε σύγκριση με την ΟΜΣΣ, αν και η διαφορά αυτή δεν ήταν στατιστικά σημαντική. Συγκεκριμένα το μέσο T-score στο ισχίο ήταν -1.90 (εύρος: -3.50 έως -0.10), ενώ στην ΟΜΣΣ -1.70 (εύρος: -3.30 έως 3.30). Το αντίθετο φαινόμενο (T-score ΟΜΣΣ < T-score ισχίου) παρατηρήθηκε στο 100% των ασθενών με μείζονα

απόκλιση, με το μέσο T-score ισχίου να είναι -0.42 (εύρος: -0.8 έως 0.4) και ΟΜΣΣ: -2.90 (εύρος: -3.20 έως -2.60).

Πίνακας 29. Απόκλιση μεταξύ DEXA ΟΜΣΣ και ισχίου.		
Ελάσσων απόκλιση		
Ισχίο	ΟΜΣΣ	Αριθμός ασθενών (%)
Οστεοπόρωση ισχίου	Οστεοπενία ΟΜΣΣ	11/29 (38%)
Οστεοπενία ισχίου	Οστεοπόρωση ΟΜΣΣ	9/29 (31%)
Οστεοπενία ισχίου	Φυσιολογική ΟΜΣΣ	6/29 (21%)
Φυσιολογικό ισχίο	Οστεοπενία ΟΜΣΣ	3/29 (10%)
Μείζον απόκλιση		
Ισχίο	ΟΜΣΣ	Αριθμός ασθενών (%)
Οστεοπόρωση ισχίου	Φυσιολογική ΟΜΣΣ	0/5
Φυσιολογικό ισχίο	Οστεοπόρωση ΟΜΣΣ	5/5

2.3.3 Συσχέτιση παραγόντων κινδύνου και απόκλισης T-score

Από τη στατιστική ανάλυση δε φάνηκαν διαφορές μεταξύ των ασθενών με ή χωρίς απόκλιση στο T-score όσον αφορά την ηλικία (67.9 vs 69.2 έτη αντίστοιχα, $p=0.671$) και το δείκτη μάζας σώματος (27.8 vs 28.9 kg/m^2 αντίστοιχα, $p=0.450$). Στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες δεν παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά στην ηλικία εμμηνόπαυσης (45 vs 48.4 αντίστοιχα, $p=0.136$) μεταξύ ασθενών με ή χωρίς απόκλιση. Τέλος δε βρέθηκε διαφορά μεταξύ των 2 ομάδων στο μέσο T score ισχίου και ΟΜΣΣ. **(Πίνακας 30)**

Από τους υπόλοιπους παράγοντες κινδύνου που αναλύθηκαν μόνο το οικογενειακό ιστορικό οστεοπόρωσης φάνηκε να συσχετίζεται με την παρουσία απόκλισης T-score ($p=0.03$). Οι υπόλοιποι παράγοντες (προηγμένη οστεοπορωτική κάταγμα, θυρεοειδοπάθεια, σακχαρώδης διαβήτης, ρευματοειδής αρθρίτιδα, λήψη κορτικοστεροειδών, μειωμένη διαιτητική πρόσληψη γαλακτοκομικών και κάπνισμα) δεν παρουσίασαν στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων ασθενών. **(Εικόνα 45)**

Πίνακας 30. Σύγκριση ποσοτικών μεταβλητών στις ομάδες ασθενών με απόκλιση ή συμφωνία T-score.

	Απόκλιση T-score	Συμφωνία T-score
Ηλικία	67.9	69.2
BMI	27.8	28.9
Ηλικία εμμηνόπαυσης	45	48.4
T score ισχίου	-1.7	-1.51
T score ΟΜΣΣ	-1.88	-1.6

2.4 Επίπτωση οστεοαρθρίτιδας ισχίου σε ασθενείς με οστεοπορωτικά κατάγματα ισχίου

Η οστεοπόρωση και η οστεοαρθρίτιδα αποτελούν διαταραχές του οστού, οι οποίες εμφανίζονται συνήθως σε ηλικιωμένους και σχετίζονται με σημαντική νοσηρότητα και αναπηρία. Και οι δύο νόσοι αποτελούν σημαντικά προβλήματα υγείας εξαιτίας του υψηλού επιπολασμού και της αυξανόμενης επίπτωσης λόγω γήρανσης του πληθυσμού. Η αρθρίτιδα αποτελεί την κύρια αιτία αναπηρίας σε μη νοσηλευόμενους ασθενείς στις ΗΠΑ. [251] Από τις διάφορες μορφές αρθρίτιδας η οστεοαρθρίτιδα (ΟΑ) είναι η πιο συχνή, επηρεάζοντας περίπου 12.4 εκατομμύρια ενήλικες άνω των 65 [252]. Αντίστοιχα, όπως συζητήθηκε και παραπάνω, τα κατάγματα ισχίου αποτελούν επίσης σχετιζόμενο με την ηλικία φαινόμενο, με σοβαρές επιπτώσεις στην ικανότητα των ηλικιωμένων ατόμων να αυτοεξυπηρετούνται.

Παρά το γεγονός ότι η ΟΑ και τα οστεοπορωτικά κατάγματα ισχίου συμβαίνουν σε παρόμοιες ηλικιακές ομάδες και προκαλούν παρόμοιες κινητικές δυσλειτουργίες, η συσχέτιση μεταξύ οστεοπόρωσης και οστεοαρθρίτιδας δεν είναι ακόμα σαφής (**Εικόνα 46**). Στη μέχρι τώρα βιβλιογραφία υπάρχουν αντικρουόμενες απόψεις σχετικά με το θέμα. Υπάρχουν μελέτες που ανέδειξαν μια αντίστροφη σχέση μεταξύ ΟΑ και οστεοπόρωσης, με την ύπαρξη ΟΑ στο ισχίο να μειώνει τον κίνδυνο εμφάνισης οστεοπορωτικού κατάγματος ισχίου. Αντίθετα, άλλες μελέτες δεν έδειξαν καμία διαφορά στην εμφάνιση οστεοπόρωσης μεταξύ ομάδων ασθενών με ή χωρίς ΟΑ ισχίου. Τα αντικρουόμενα αυτά ευρήματα και η δυσκολία ερμηνείας των συνολικών αποτελεσμάτων στη βιβλιογραφία μπορεί να σχετίζονται με τη μεγάλη διακύμανση στη μεθοδολογία και τον ορισμό της οστεοαρθρίτιδας [253]. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι κάποιες από τις μελέτες χρησιμοποίησαν μόνο δεδομένα από το ιστορικό (αυτοαναφερόμενη από τον ασθενή διάγνωση οστεοαρθρίτιδας) [254, 255]. ενώ άλλες άντλησαν πληροφορίες και από ακτινογραφίες με επακόλουθη χρήση διαφόρων ακτινολογικών score.

Στόχος αυτής της υποενότητας της διατριβής ήταν η διερεύνηση της σχέσης μεταξύ οστεοαρθρίτιδας ισχίου και οστεοπόρωσης, μέσω της μελέτης ασθενών με οστεοπορωτικά κατάγματα ισχίου για ύπαρξη υποκείμενης οστεοαρθρίτιδας. Ταυτόχρονα εκτιμήθηκαν κλινικές παράμετροι ως πιθανοί παράγοντες συσχέτισης οστεοαρθρίτιδας-οστεοπόρωσης.

Η μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε αναδρομικά, με τα δεδομένα να αντλούνται από τη βάση δεδομένων που δημιουργήθηκε για τη διατριβή. Συμπεριλήφθηκαν όλοι οι ασθενείς με οστεοπορωτικά κατάγματα ισχίου που διέθεταν πλήρες ιστορικό και κατάλληλο ακτινολογικό έλεγχο. Από το ιστορικό συνελέγησαν δημογραφικά στοιχεία, ΔΜΣ, παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση οστεοπόρωσης και μέτρηση οστικής πυκνότητας και T-score με DEXA ισχίου. Η ύπαρξη και η βαρύτητα της οστεοαρθρίτιδας ισχίου εκτιμήθηκαν με προσθιοπίσθιες ακτινογραφίες λεκάνης-ισχίων. Βαθμολογία >2 κατά Kellgren και Lawrence ορίστηκε ως σίγουρη οστεοαρθρίτιδα. Ασθενείς με score ≤2 κατηγοριοποιήθηκαν ως μη έχοντες ΟΑ [256]. Από την ανάλυση εξαιρέθηκαν ασθενείς με ετερόπλευρο προηγθέν κάταγμα ισχίου ή αρθροπλαστική, καθώς δεν ήταν δυνατή η εκτίμηση και των 2 ισχίων για οστεοαρθρίτιδα. Εξαιρέθηκαν επίσης ασθενείς με ρευματοειδή αρθρίτιδα.

Προκειμένου να συγκριθεί η συχνότητα εμφάνισης οστεοαρθρίτιδας σε ασθενείς με οστεοπορωτικά κατάγματα ισχίου έναντι του γενικού πληθυσμού χρησιμοποιήθηκε μία ομάδα μαρτύρων. Οι μάρτυρες επιλέχθηκαν από το σύστημα της κλινικής και του τμήματος επειγόντων της Ορθοπαιδικής, με βάση την ύπαρξη κατάλληλων ακτινογραφιών λεκάνης ισχίου (επαρκής απεικόνιση και των 2 ισχίων, απουσία αρθροπλαστικών ή υλικών οστεοσύνθεσης), βασικών στοιχείων από το ιστορικό και DEXA που αποδείκνυε απουσία οστεοπόρωσης (T-score>-1).

Αποκλείσθηκαν ασθενείς με αίτιο εισαγωγής την ΟΑ ισχίου καθώς και ασθενείς με γνωστή οστεοπόρωση ή αντιοστεοπορωτική αγωγή.

2.4.1 Γενικά χαρακτηριστικά του δείγματος

Συνολικά στη μελέτη συμπεριλήφθηκαν 126 ασθενείς (27 άνδρες και 99 γυναίκες) και 30 μάρτυρες (14 άνδρες και 16 γυναίκες). Όπως φαίνεται ο λόγος ανδρών προς γυναίκες ήταν περίπου 1:3 στην ομάδα ασθενών με κάταγμα ισχίου, αλλά περίπου 1:1 στην ομάδα μαρτύρων. Ο μέσος όρος ηλικίας ήταν τα 78.8 ± 10.3 έτη στους πάσχοντες και 65.7 ± 13.8 έτη στους μάρτυρες ($p < 0.001$). Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στο μέσο όρο ηλικίας μεταξύ ανδρών και γυναικών στην ομάδα των καταγμάτων (75.1 ± 13.7 vs 79.8 ± 9 έτη, $p=0.236$).

2.4.1 Επιπολασμός οστεοαρθρίτιδας ισχίου

Βέβαιη οστεοαρθρίτιδα διαγνώσθηκε στο 27.8% των ασθενών με οστεοπορωτικό κάταγμα ισχίου και στο 33.3% των μαρτύρων ($p = 0.456$). Λόγω του ότι υπήρχε διαφορά στο ποσοστό ανδρών και γυναικών στις 2 ομάδες αποφασίστηκε να γίνει επιπλέον έλεγχος για κάθε φύλο ξεχωριστά. Στους άνδρες, δεν παρατηρήθηκε διαφορά στον επιπολασμό ΟΑ μεταξύ πασχόντων και μαρτύρων ($p=0.691$). Αντίστοιχα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και κατά την επιμέρους σύγκριση στις γυναίκες, οστεοπορωτικές και μη ($p=0.754$). Τα score και για τις δύο ομάδες δίνονται αναλυτικά στον **Πίνακα 31**.

Πίνακας 31. Kellgren-Lawrence score σε ασθενείς με κατάγματα ισχίου και μάρτυρες

Score	Ασθενείς με κατάγματα ισχίου (%)	Μάρτυρες (%)
0	13 (10.3)	3 (10)
1	36 (28.4)	8 (26.7)
2	44 (34.9)	9 (30)
3	29 (23)	9 (30)
4	4 (3.2)	1 (3.3)

2.4.3 Παράγοντες κινδύνου και συσχέτιση οστεοαρθρίτιδας-οστεοπόρωσης στην ομάδα ασθενών με κατάγματα ισχίου

Όσον αφορά τις γυναίκες ασθενείς, όλες ήταν μετεμμηνοπαυσιακές (μέση ηλικία εμμηνόπαυσης= 47.96 ± 5.8 έτη). Ο μέσος δείκτης μάζας σώματος στο σύνολο των ασθενών ήταν 25.8 ± 4.4 kg/m². Τέλος, μετρήσεις με DEXA ισχίου έδειξαν τιμές BMD= 0.81 ± 0.19 και T-score= -2.13 ± 0.91 . Δεν παρατηρήθηκε διαφορά στη συχνότητα εμφάνισης οστεοαρθρίτιδας μεταξύ ανδρών και γυναικών (29.6% vs 27.3% , $p=0.88$).

Πίνακας 32. Ανάλυση συνεχών μεταβλητών σε ασθενείς με ή χωρίς οστεοαρθρίτιδα ισχίου			
Χαρακτηριστικό	Οστεοαρθρίτιδα ισχίου		p value
	Ναι	Όχι	
	N=35	N=91	
Ηλικία	80.4 ± 9.3	78.1 ± 10.6	0.290
ΔΜΣ	24.9 ± 3.8	26.1 ± 4.3	0.153
Ηλικία εμμηνόπαυσης	45.9 ± 6.6	48.7 ± 5.3	0.029
BMD	0.805 ± 0.174	0.815 ± 0.204	0.865
T-score	-2.27 ± 0.37	-2.09 ± 1.03	0.685

Όσον αφορά τους παράγοντες κινδύνου, 83.3% του συνόλου των ασθενών παρουσίασαν τουλάχιστον έναν παράγοντα κινδύνου για εμφάνιση οστεοπόρωσης με συχνότερους την ύπαρξη ιστορικού προηγθέντος κατάγματος ευθραυστότητας (36.5%), τη μειωμένη διαιτητική πρόσληψη γαλακτοκομικών (32.5%), την παρατεταμένη ακινητοποίηση (17.5%) και το κάπνισμα (13.5%).

Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές όσον αφορά την ηλικία, το φύλο και το δείκτη μάζας σώματος μεταξύ των ασθενών με ή άνευ οστεοαρθρίτιδας ισχίου. Αντίθετα, παρατηρήθηκε διαφορά στην ηλικία εμμηνόπαυσης μεταξύ των ομάδων ασθενών με ή χωρίς οστεοαρθρίτιδα (45.9 vs 48.7 αντίστοιχα, $p=0.029$). (**Πίνακας 32**)

Παρατηρήθηκαν επίσης διαφορές αναφορικά με την παρουσία ή όχι παραγόντων κινδύνου συνολικά, μεταξύ ασθενών με ή χωρίς οστεοαρθρίτιδα. Πιο συγκεκριμένα τα αίτια δευτεροπαθούς οστεοπόρωσης φάνηκε να συσχετίζονται με την παρουσία οστεοαρθρίτιδας σε ασθενείς με κατάγματα ισχίου (94.3% vs. 79.1%, $p=0.04$). Διαφορές παρατηρήθηκαν και όταν οι παράγοντες κινδύνου εξετάστηκαν ο κάθε ένας ξεχωριστά. Ασθενείς με οστεοαρθρίτιδα ήταν πιθανότερο να έχουν σχετικές υποκείμενες ενδοκρινοπάθειες ή αυτοάνοσα νοσήματα συγκριτικά με ασθενείς χωρίς οστεοαρθρίτιδα. Συσχέτιση παρατηρήθηκε τέλος με το σακχαρώδη διαβήτη και την παρατεταμένη ακινητοποίηση. Ο σακχαρώδης διαβήτης και η παρατεταμένη ακινητοποίηση ήταν σημαντικά πιο συχνά στην ομάδα ασθενών με οστεοαρθρίτιδα σε σχέση με ασθενείς χωρίς οστεοαρθρίτιδα ισχίου (40% vs 20.9%, $p=0.029$ and 28.6% vs 13.2%, $p=0.042$). Αντίθετα οι υπόλοιποι παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων του προηγηθέντος κατάγματος, του οικογενειακού ιστορικού οστεοπόρωσης, της λήψης κορτικοστεροειδών ή άλλων σχετικών φαρμακευτικών σκευασμάτων, της πρώιμης εμμηνόπαυσης ή καθυστερημένης εμμηναρχής δεν παρουσίασαν στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ ασθενών με ή χωρίς οστεοαρθρίτιδα. **(Πίνακας 33)**

Πίνακας 33. Ανάλυση ποιοτικών μεταβλητών σε ασθενείς με ή χωρίς οστεοαρθρίτιδα ισχίου

Μελετηθέντες παράγοντες	ΟΑ ισχίου N=35	Όχι ΟΑ ισχίου N=91	OR (95% CI)	p value
Φύλο				
Γυναίκες	27 (77.1%)	72 (79.1%)	4.081 (1.34-12.5)	0.808
Άνδρες	8 (22.9%)	19 (20.9%)	0.245 (0.08-0.75)	0.808
Οποιοσδήποτε παράγοντας κινδύνου	33 (94.3%)	72 (79.1%)	4.35 (1.1-19.79)	0.041
Προηγθέν οστεοπορωτικό κάταγμα	8 (22.9%)	38 (41.8%)	0.41 (0.17-1.01)	0.05
Οικογενειακό ιστορικό οστεοπόρωσης	5 (14.3%)	13 (14.3%)	1.00 (0.33-3.05)	1.000
Καθυστερημένη εμμηναρχή	7 (20%)	8 (8.8%)	2.59 (0.86-7.80)	0.082
Πρώιμη εμμηνόπαυση	4 (11.4%)	5 (5.5%)	2.22 (0.56-8.8)	0.247
Θυρεοειδοπάθεια	3 (8.6%)	11 (12.1%)	0.68 (0.18-2.61)	0.574
ΧΝΑ	2 (5.7%)	4 (4.4%)	1.32 (0.23-7.54)	0.756
Ενδοκρινοπάθειες & Αυτοάνοσα	3 (8.6%)	1 (1.1%)	8.44 (0.85-84.06)	0.032
ΧΑΠ	1 (2.9%)	6 (6.6%)	0.42 (0.05-3.59)	0.412
Σακχαρώδης διαβήτης	14 (40%)	19 (20.9%)	2.53 (1.08-5.88)	0.029
Παρατεταμένη ακινητοποίηση	10 (28.6%)	12 (13.2%)	2.63 (1.02-6.82)	0.042
Κορτικοστεροειδή	5 (14.3%)	9 (9.9%)	1.52 (0.47-4.9)	0.482
Άλλα σχετικά φάρμακα	6 (17.1%)	12 (13.2%)	1.36 (0.47-3.97)	0.570
Χαμηλή διαιτητική πρόσληψη ασβεστίου	11 (31.4%)	30 (33%)	1.07 (0.47-2.48)	0.869
Κάπνισμα	2 (5.7%)	15 (16.5%)	0.31 (0.07-1.42)	0.113
Χαμηλός ΔΜΣ ($\leq 20\text{kg/m}^2$)	7 (20%)	6 (6.6%)	0.28 (0.09-1.11)	0.269

3. Γονιδιακή ανάλυση

Στην παρούσα διατριβή μελετήθηκε η γονιδιακή έκφραση του μεταγραφικού παράγοντα RUNX2, καθώς και οι πολυμορφισμοί των γονιδίων CER1 και DKK1 σε οστεοπορωτικούς ασθενείς (N=164) και μάρτυρες (N=50). Ακολούθησε συσχέτιση των επιπέδων έκφρασης του RUNX2 με τους πολυμορφισμούς καθώς και με παράγοντες από το ιστορικό, την κλινική εξέταση και τον έλεγχο με DEXA. Τέλος μελετήθηκε η έκφραση των FST, ITGB5, SOX-4 και SMAD1.

3.1 Μελέτη γονιδιακής έκφρασης του RUNX2

Αρχικά μελετήθηκε η έκφραση του γονιδίου RUNX2 σε περιφερικό αίμα οστεοπορωτικών και μαρτύρων καθώς και σε οστικά τεμάχια οστεοπορωτικών. Η ποσοτικοποίηση έγινε με τη μέθοδο της qPCR πραγματικού χρόνου. Το GAPDH χρησιμοποιήθηκε ως γονίδιο αναφοράς. Οι τιμές που παρουσιάζονται για κάθε δείγμα είναι η σχετική έκφραση του RUNX2, αποτέλεσμα που προκύπτει από τον υπολογισμό του λόγου της συγκέντρωσης του RUNX2 προς το γονίδιο αναφοράς.

3.1.1 Επίπεδα Έκφρασης Γονιδίου RUNX2

Στα δείγματα περιφερικού αίματος παρατηρήθηκε υπερέκφραση του RUNX2 στους οστεοπορωτικούς σε σχέση με τους μάρτυρες (1.27 ± 0.92 vs 0.85 ± 0.05 , $p < 0.001$). (Εικόνα 47)

Διαφορά στο πρότυπο έκφρασης του γονιδίου RUNX2 αναδείχθηκε και μεταξύ δειγμάτων περιφερικού αίματος και οστικών τεμαχίων στην ομάδα των οστεοπορωτικών ασθενών. Συγκεκριμένα σημειώθηκε υπερέκφραση του RUNX2 στο οστό σε σχέση με το αίμα (1.38 ± 0.15 vs 1.27 ± 0.11 , $p=0.007$). **(Εικόνα 48)**

3.1.2 Συσχέτιση της έκφρασης του RUNX2 με κλινικούς παράγοντες

Στα δείγματα αίματος οστεοπορωτικών ασθενών, καμία από τις κλινικές παραμέτρους ΣΔ, ΧΝΑ, λήψη κορτικοστεροειδών ή άλλων σχετιζόμενων με την οστεοπόρωση φαρμάκων, πρόωρη εμμηνόπαυση ή καθυστερημένη εμμηναρχή, μειωμένη πρόσληψη γαλακτοκομικών και κάπνισμα δε φάνηκε να συσχετίζονται με τα επίπεδα έκφρασης του γονιδίου RUNX2 ($p>0.05$ για όλες τις παραμέτρους).

Σε οστικά τεμάχια οστεοπορωτικών ασθενών, η πρόωρη εμμηνόπαυση συσχετίστηκε με υποέκφραση του RUNX2 (1.28 ± 0.01 vs 1.41 ± 0.16 , $p=0.031$). Οι άλλοι κλινικοί παράγοντες από το ιστορικό δεν επηρέασαν τα επίπεδα έκφρασης του υπό μελέτη γονιδίου.

Τέλος, η ύπαρξη οστεοπορωτικών καταγμάτων οποιασδήποτε εντόπισης (ισχίου, σπονδυλικής στήλης, ΠΧΚ ή άλλων) δε φάνηκε να επηρεάζει τα επίπεδα έκφρασης του RUNX2 στο περιφερικό αίμα ασθενών με οστεοπόρωση. **(Εικόνα 49)**

Αντίθετα, στα δείγματα οστίτη ιστού παρατηρήθηκε υποέκφραση του RUNX2 σε ασθενείς με κατάγματα ΠΧΚ σε σύγκριση με ασθενείς που δεν παρουσίασαν αντίστοιχο κάταγμα. (Εικόνα 50)

3.1.3 Συσχέτιση της έκφρασης του RUNX2 με αντιοστεοπορωτική θεραπεία

Δεν παρατηρήθηκε διαφοροποίηση της έκφρασης του RUNX2 στο περιφερικό αίμα (Αγωγή οστεοπόρωσης: 1.29 ± 0.09 , Όχι αγωγή: 1.26 ± 0.1 , $p=0.2$) και στο οστό (Αγωγή οστεοπόρωσης: 1.37 ± 0.09 , Όχι αγωγή: 1.38 ± 0.18 , $p=0.8$) οστεοπορωτικών ασθενών που λάμβαναν οποιαδήποτε αντιοστεοπορωτική αγωγή σε σχέση με ασθενείς που δε λάμβαναν κανενός είδους θεραπεία.

Καμία διαφορά στην έκφραση του υπό μελέτη γονιδίου δε σημειώθηκε επίσης όταν οι διάφοροι αντιοστεοπορωτικοί παράγοντες μελετήθηκαν ξεχωριστά (συμπληρώματα ασβεστίου/βιταμίνης D, διφωσφονικά και καλσιτονίνη) σε δείγματα αίματος και οστίτη ιστό ασθενών με οστεοπόρωση. **(Εικόνα 51 και 52)** Η παραθορμόνη, το ρανελικό στρόντιο και η ραλοξιφαίνη εξαιρέθηκαν της ανάλυσης λόγω της χαμηλής τους συχνότητας στο δείγμα των ασθενών.

3.2 Μελέτη πολυμορφισμών του γονιδίου CER1

3.2.1 Πολυμορφισμοί του CER1 σε πάσχοντες και μάρτυρες

Όπως έχει αναφερθεί και σε προηγούμενες μελέτες [178, 257] έχουν αναγνωρισθεί συνολικά 22 μονονουκλεοτιδικοί πολυμορφισμοί (SNPs; single-nucleotide polymorphisms) του γονιδίου CER1. Ωστόσο, μόνο πέντε από αυτούς φαίνεται να παρουσιάζουν υψηλή συχνότητα εμφάνισης σε ασθενείς με οστεοπόρωση, ονομαστικά οι c.194C>G, c.507+506G>T, c.508-182A>G, c.531A>G και c.*121T>C (**Εικόνα 53 και 54**). Επομένως μόνο οι πέντε αυτοί πολυμορφισμοί συμπεριλήφθηκαν στην περαιτέρω επεξεργασία και ανάλυση των δεδομένων.

Στη δική μας σειρά συγκρίσεις μεταξύ πασχόντων και μαρτύρων έδειξαν ότι ότι μόνο οι 3 από τους 5 SNPs του γονιδίου CER1 διαφέρουν σημαντικά. Συγκεκριμένα ασθενείς με οστεοπόρωση είχαν μεγαλύτερη πιθανότητα εμφάνισης των παθολογικών αλληλόμορφων (σε ετεροζυγωτία ή ομοζυγωτία) στις θέσεις c.507+506G>T ($p=0.003$), c.531A>G ($p=0.027$) και c.*121T>C ($p=0.048$) σε σχέση με τους μάρτυρες. **(Πίνακας 34)**

Πίνακας 34. Κατανομή (%) των πέντε μελετηθέντων πολυμορφισμών του CER1 σε πάσχοντες (οστεοπορωτικούς) και μάρτυρες

Γονότυποι CER1		Πάσχοντες (%)	Μάρτυρες (%)	p-value
c.194C>G	Normal Alleles (C/C)	46.6	51.2	0.602
	Abnormal Alleles (C/G or G/G)	53.4	48.8	
c.507+506G>T	Normal Alleles (G/G)	43.9	70	0.003
	Abnormal Alleles (G/T or T/T)	56.1	30	
c.508-182A>G	Normal Alleles (A/A)	43.4	55.9	0.209
	Abnormal Alleles (A/G or G/G)	56.6	44.1	
c.531A>G	Normal Alleles (A/A)	61.6	82.4	0.027
	Abnormal Alleles (A/G or G/G)	38.4	17.6	
c.*121T>C	Normal Alleles (T/T)	68.1	84.8	0.048
	Abnormal Alleles (T/C or C/C)	31.9	15.2	

3.2.2 Συσχέτιση του CER1 με κλινικά δεδομένα

Ακολούθησε στατιστική ανάλυση στην ομάδα των οστεοπορωτικών ασθενών για να διερευνηθεί το κατά πόσο ο κάθε πολυμορφισμός σχετιζόταν με τα δημογραφικά στοιχεία και παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση οστεοπόρωσης.

CER1 c.194C>G

Ο πολυμορφισμός c.194C>G φάνηκε να σχετίζεται με την ηλικία του ασθενούς, με τον παθολογικό γονότυπο (ομόζυγο ή ετερόζυγο) να εμφανίζεται συχνότερα σε ασθενείς μεγαλύτερης ηλικίας (73.3 vs 69.5, $p=0.042$). Δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση με τα υπόλοιπα δημογραφικά, το FRAX score και τις μετρήσεις DEXA (BMD και T-score). (Πίνακας 35)

Πίνακας 35. Συσχέτιση των γονότυπων του c.194C>G με δημογραφικά χαρακτηριστικά, FRAX score και τιμές μέτρησης DEXA

Μεταβλητές	Normal Alleles (C/C) (N=68)	Abnormal Alleles (C/G or G/G) (N=79)	P value
Ηλικία	69.5 ± 10.2	73.3 ± 11.8	0.042
ΔΜΣ	27.7 ± 4.7	27 ± 5.3	0.394
Ηλικία εμμηνόπαυσης	47.4 ± 8.5	47.5 ± 5.7	0.884
FRAX (major fracture)	19 ± 12	20 ± 13.7	0.672
FRAX (hip fracture)	9.9 ± 9.8	11.2 ± 12.6	0.529
BMD	0.78	0.77	0.735
T-score	-2.35	-2.38	0.850

Όσον αφορά τους παράγοντες κινδύνου, παρατηρήθηκε αυξημένη συχνότητα ύπαρξης ενός ή περισσότερων παραγόντων κινδύνου συνολικά σε οστεοπορωτικούς ασθενείς με το φυσιολογικό γονότυπο του c.194C>G, σε σύγκριση με τους ασθενείς με παθολογικά αλληλόμορφα. Από τους παράγοντες κινδύνου μεμονωμένα, μόνο το κάπνισμα παρουσίασε διαφορετικό επιπολασμό μεταξύ των ομάδων ασθενών με φυσιολογικό ή παθολογικό γονότυπο του c.194C>G (17.5% vs 5.3% αντίστοιχα,

$p=0.021$). Από τις υπόλοιπες κλινικές παραμέτρους, ο σακχαρώδης διαβήτης και ο χαμηλός δείκτης μάζας σώματος ήταν 2-3 φορές συχνότερες στους ασθενείς με τους παθολογικούς πολυμορφισμούς, αλλά η διαφορά δεν παρουσίασε στατιστική σημαντικότητα. Οι υπόλοιποι παράγοντες κινδύνου δεν εμφάνισαν καμία διαφοροποίηση μεταξύ των ομάδων. **(Πίνακας 36)**

Πίνακας 36. Συσχέτιση των γονότυπων του c.194C>G με παράγοντες κινδύνου σε οστεοπορωτικούς ασθενείς			
Μεταβλητές	Normal Alleles (C/C) (N=68)	Abnormal Alleles (C/G or G/G) (N=79)	P value
Οποιοσδήποτε παράγοντας κινδύνου	95%	77.3%	0.004
Οικογενειακό ιστορικό οστεοπόρωσης	33.3%	24.3%	0.254
Καθυστερημένη εμμηναρχή	12.3%	11.8%	0.933
Πρώιμη εμμηνόπαυση	12.7%	14.1%	0.801
Θυρεοειδοπάθεια	18.8%	16.4%	0.722
ΧΝΑ	0	5.5%	0.159
Ενδοκρινοπάθειες & Αυτοάνοσα	6.3%	1.4%	0.129
ΧΑΠ	0	2.7%	0.499
Σακχαρώδης διαβήτης	12.7%	23%	0.121
Παρατεταμένη ακινητοποίηση	13.5%	5.6%	0.199
Κορτικοστεροειδή	8.8%	6.5%	0.570
Άλλα σχετικά φάρμακα	11.1%	16.2%	0.389
Χαμηλή διαιτητική πρόσληψη ασβεστίου	23.4%	25.7%	0.761
Κάπνισμα	17.5%	5.3%	0.021
Χαμηλός ΔΜΣ	1.5%	7.7%	0.127

CER1 c.507+506G>T

Ο πολυμορφισμός c.507+506G>T δε φάνηκε να σχετίζεται με την ηλικία, τον ΔΜΣ και την ηλικία εμμηνόπαυσης. Καμία διαφορά δεν παρατηρήθηκε επίσης στο BMD, T-score και FRAX μεταξύ οστεοπορωτικών ασθενών με ή χωρίς το παθολογικό αλληλόμορφο. (Πίνακας 37)

Πίνακας 37. Συσχέτιση των γονότυπων του c.507+506G>T με δημογραφικά χαρακτηριστικά, FRAX score και τιμές μέτρησης DEXA

Μεταβλητές	Normal Alleles (C/C) (N=68)	Abnormal Alleles (C/G or G/G) (N=79)	P value
Ηλικία	72.6 ± 10.8	71.9 ± 11.4	0.688
ΔΜΣ	27.7 ± 5.2	27.4 ± 5.2	0.701
Ηλικία εμμηνόπαυσης	47.5 ± 8.2	47.8 ± 5.8	0.753
FRAX (major fracture)	19.3 ± 11.2	19.9 ± 13.6	0.578
FRAX (hip fracture)	10.2 ± 9.8	11 ± 12.2	0.654
BMD	0.78	0.78	0.782
T-score	-2.43	-2.35	0.701

Από τους παράγοντες κινδύνου, μόνο η χρήση φαρμάκων σχετιζόμενων με την οστεοπόρωση φάνηκε να διαφέρει μεταξύ φυσιολογικών και παθολογικών αλληλόμορφων (4.8% vs 21.4% αντίστοιχα, $p=0.004$). Η παρουσία παραγόντων κινδύνου συνολικά, η χρήση κορτικοστεροειδών, η θυρεοειδοπάθεια και η ΧΝΑ εμφάνισαν μια τάση συσχέτισης με την παρουσία του παθολογικού αλληλόμορφου (ομο- ή ετεροζυγώτες) του c.194C>G αλλά η διαφορά δεν έφτασε σε στατιστικώς σημαντικά επίπεδα. (Πίνακας 38)

Πίνακας 38. Συσχέτιση των γονότυπων του c.507+506G>T με παράγοντες κινδύνου σε οστεοπορωτικούς ασθενείς

Μεταβλητές	Normal Alleles (C/C) (N=63)	Abnormal Alleles (C/G or G/G) (N=83)	P value
Οποιοσδήποτε παράγοντας κινδύνου	90%	82.1%	0.188
Οικογενειακό ιστορικό οστεοπόρωσης	27.9%	26.9%	0.901
Καθυστερημένη εμμηναρχή	12.3%	10.7%	0.756
Πρώιμη εμμηνόπαυση	12.7%	12.8%	0.987
Θυρεοειδοπάθεια	14.1%	21.7%	0.237
ΧΝΑ	0	4.8%	0.134
Ενδοκρινοπάθειες & Αυτοάνοσα	4.8%	4.8%	1.000
ΧΑΠ	0	2.4%	0.506
Σακχαρώδης διαβήτης	19%	17.9%	0.854
Παρατεταμένη ακινητοποίηση	11.5%	6.2%	0.304
Κορτικοστεροειδή	6%	12.6%	0.185
Άλλα σχετικά φάρμακα	4.8%	21.4%	0.004
Χαμηλή διαιτητική πρόσληψη ασβεστίου	23.4%	21.7%	0.761
Κάπνισμα	11.3%	9.3%	0.693
Χαμηλός ΔΜΣ	6.1%	4.7%	0.700

CER1 c.508-182A>G

Διαφορά παρατηρήθηκε μεταξύ αλληλόμορφων της θέσης c.508-182A>G του CER1 αναφορικά με το δείκτη μάζας σώματος στην ομάδα των οστεοπορωτικών

ασθενών (Φυσιολογικός γονότυπος: 28.7kg/m² vs Παθολογικός γονότυπος: 26.4 kg/m², $p=0.017$). **(Πίνακας 39)** Δεν παρατηρήθηκαν άλλες σημαντικές διαφορές μεταξύ των γονότυπων όσον αφορά τις υπόλοιπες συνεχείς μεταβλητές.

Πίνακας 39. Συσχέτιση των γονότυπων του c.508-182A>G με δημογραφικά χαρακτηριστικά, FRAX score και τιμές μέτρησης DEXA

Μεταβλητές	Normal Alleles (C/C) (N=68)	Abnormal Alleles (C/G or G/G) (N=79)	P value
Ηλικία	70.95 ± 8.4	70.18 ± 10.7	0.698
ΔΜΣ	28.7 ± 5.2	26.4 ± 4.2	0.017
Ηλικία εμμηνόπαυσης	47.5 ± 5.6	48.1 ± 5.5	0.603
FRAX (major fracture)	18.8 ± 10.4	20.7 ± 14.9	0.492
FRAX (hip fracture)	9.2 ± 8.6	8.6 ± 14	0.363
BMD	0.76	0.79	0.473
T-score	-2.23	-2.37	0.215

Επιπλέον κατά την ανάλυση των παραγόντων κινδύνου συνολικά ή μεμονωμένα, δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική συσχέτιση με τον συγκεκριμένο πολυμορφισμό του CER1. **(Πίνακας 40)**

Πίνακας 40. Συσχέτιση των γονότυπων του c.508-182A>G με παράγοντες κινδύνου σε οστεοπορωτικούς ασθενείς

Μεταβλητές	Normal Alleles (C/C) (N=42)	Abnormal Alleles (C/G or G/G) (N=57)	P value
Οποιοσδήποτε παράγοντας κινδύνου	92.3%	87%	0.418
Οικογενειακό ιστορικό οστεοπόρωσης	27.5%	36%	0.391
Καθυστερημένη εμμηναρχή	10%	12.7%	0.682
Πρώιμη εμμηνόπαυση	15.4%	10.7%	0.500
Θυρεοειδοπάθεια	19.5%	21.2%	0.845
ΧΝΑ	0	5.8%	0.252
Ενδοκρινοπάθειες & Αυτοάνοσα	9.8%	1.9%	0.096
ΧΑΠ	0	3.8%	0.502
Σακχαρώδης διαβήτης	14.6%	22.6%	0.328
Παρατεταμένη ακινητοποίηση	11.1%	4.2%	0.395
Κορτικοστεροειδή	9.5%	9.1%	0.942
Άλλα σχετικά φάρμακα	9.8%	17.3%	0.297
Χαμηλή διαιτητική πρόσληψη ασβεστίου	30%	20.4%	0.283
Κάπνισμα	10.3%	10.9%	1.000
Χαμηλός ΔΜΣ	0%	7%	0.144

CER1 c.531A>G

Ο πολυμορφισμός c.531A>G δε φάνηκε να σχετίζεται με την ηλικία, το ΔΜΣ και την ηλικία εμμηνόπαυσης. Καμία διαφορά δεν παρατηρήθηκε επίσης στο BMD, T-score και FRAX μεταξύ οστεοπορωτικών ασθενών με ή χωρίς το παθολογικό αλληλόμορφο στη συγκεκριμένη θέση του υπό μελέτη γονιδίου. **(Πίνακας 41)**

Πίνακας 41. Συσχέτιση των γονότυπων του c.531A>G με δημογραφικά χαρακτηριστικά, FRAX score και τιμές μέτρησης DEXA

Μεταβλητές	Normal Alleles (C/C) (N=68)	Abnormal Alleles (C/G or G/G) (N=79)	P value
Ηλικία	70.4 ± 9.5	70.6 ± 10	0.927
ΔΜΣ	27.9 ± 5	26.5 ± 4.2	0.141
Ηλικία εμμηνόπαυσης	47.5 ± 5.6	48.4 ± 5.3	0.451
FRAX (major fracture)	19.7 ± 12.1	20.2 ± 14.6	0.850
FRAX (hip fracture)	10.3 ± 10.9	10.9 ± 13.7	0.790
BMD	0.78	0.78	0.761
T-score	-2.33	-2.32	0.853

Στατιστική ανάλυση των παραγόντων κινδύνου σε συνάρτηση με τον εν λόγω πολυμορφισμό ανέδειξε στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ οστεοπορωτικών ασθενών με φυσιολογικό ή παθολογικό γονότυπο του CER1 c.531A>G μόνο όσον αφορά την παρουσία ιστορικού χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας. **(Πίνακας 42)** Η παρουσία οποιουδήποτε παράγοντα κινδύνου ήταν γενικά συχνότερη στους ασθενείς με το φυσιολογικό γονότυπο, αλλά η διαφορά δεν παρουσίασε στατιστική σημαντικότητα ($p=0.167$).

Πίνακας 42. Συσχέτιση των γονότυπων του c.531A>G με παράγοντες κινδύνου σε οστεοπορωτικούς ασθενείς

Μεταβλητές	Normal Alleles (C/C) (N=56)	Abnormal Alleles (C/G or G/G) (N=37)	P value
Οποιοσδήποτε παράγοντας κινδύνου	92.9%	83.8%	0.167
Οικογενειακό ιστορικό οστεοπόρωσης	32.7%	31.4%	0.898
Καθυστερημένη εμμηναρχή	12.1%	10.8%	1.000
Πρώιμη εμμηνόπαυση	15.8%	7.9%	0.351
Θυρεοειδοπάθεια	19%	22.9%	0.652
ΧΝΑ	0	8.6%	0.045
Ενδοκρινοπάθειες & Αυτοάνοσα	6.9%	2.9%	0.647
ΧΑΠ	0	5.7%	0.139
Σακχαρώδης διαβήτης	19%	19.4%	0.954
Παρατεταμένη ακινητοποίηση	10%	2.9%	0.394
Κορτικοστεροειδή	8.3%	10.8%	0.782
Άλλα σχετικά φάρμακα	12.3%	16.7%	0.552
Χαμηλή διαιτητική πρόσληψη ασβεστίου	26.3%	21.6%	0.605
Κάπνισμα	12.5%	7.9%	0.735
Χαμηλός ΔΜΣ	3.4%	5.3%	0.647

CER1 c.*121T>C

Ο τελευταίος πολυμορφισμός του CER1 που μελετήθηκε σε συνάρτηση με τα κλινικά δεδομένα ήταν ο c.*121T>C. Όπως και με τους πολυμορφισμούς c.531A>G και c.507+506G>T, δεν παρατηρήθηκε καμία διαφορά αναφορικά με τα δημογραφικά στοιχεία, μετρήσεις DEXA και FRAX score μεταξύ οστεοπορωτικών ασθενών με ή χωρίς το παθολογικό αλληλόμορφο. (Πίνακας 43)

Πίνακας 43. Συσχέτιση των γονότυπων του c.*121T>C με δημογραφικά χαρακτηριστικά, FRAX score και τιμές μέτρησης DEXA

Μεταβλητές	Normal Alleles (C/C) (N=68)	Abnormal Alleles (C/G or G/G) (N=79)	P value
Ηλικία	71.2 ± 11.4	71.7 ± 9.6	0.808
ΔΜΣ	27.5 ± 5.1	27 ± 4.2	0.562
Ηλικία εμμηνόπαυσης	47.3 ± 7.9	47.9 ± 5.7	0.672
FRAX (major fracture)	19 ± 11.9	21 ± 15	0.458
FRAX (hip fracture)	9.8 ± 10.3	12 ± 14.3	0.370
BMD	0.78	0.77	0.761
T-score	-2.33	-2.32	0.802

Όπως και με τον πολυμορφισμό c.531A>G, παρατηρήθηκε και εδώ αυξημένη συχνότητα ΧΝΑ σε ασθενείς με το παθολογικό γονότυπο του c.*121T>C (ομο- ή ετεροζυγώτες), καθώς και αυξημένη τάση παρουσίας οποιουδήποτε παράγοντα κινδύνου σε ασθενείς με το φυσιολογικό γονότυπο (p=0.103).

Πίνακας 44. Συσχέτιση των γονότυπων του c.*121T>C με παράγοντες κινδύνου σε οστεοπορωτικούς ασθενείς

Μεταβλητές	Normal Alleles (C/C) (N=72)	Abnormal Alleles (C/G or G/G) (N=35)	P value
Οποιοσδήποτε παράγοντας κινδύνου	93.1%	82.9%	0.103
Οικογενειακό ιστορικό οστεοπόρωσης	28.6%	31.4%	0.425
Καθυστερημένη εμμηναρχή	13.9%	11.4%	1.000
Πρώιμη εμμηνόπαυση	14.1%	11.1%	0.769
Θυρεοειδοπάθεια	18.1%	20.6%	0.756
ΧΝΑ	0	8.9%	0.033
Ενδοκρινοπάθειες & Αυτοάνοσα	5.5%	0%	0.309
ΧΑΠ	0	5.9%	0.101
Σακχαρώδης διαβήτης	20.8%	20%	0.920
Παρατεταμένη ακινητοποίηση	11.3%	5.9%	0.385
Κορτικοστεροειδή	6.7%	11.4%	0.462
Άλλα σχετικά φάρμακα	9.9%	20%	0.147
Χαμηλή διαιτητική πρόσληψη ασβεστίου	26.4%	19.4%	0.426
Κάπνισμα	15.3%	5.6%	0.143
Χαμηλός ΔΜΣ	4.1%	5.7%	0.658

3.2.3 Πολυμορφισμοί του CER1 και οστεοπορωτικά κατάγματα

Στη συνέχεια έγινε ανάλυση συσχέτισης των διαφόρων πολυμορφισμών σε σχέση με την ύπαρξη ή όχι καταγμάτων ευθραυστότητας συνολικά, αλλά και σε σχέση με τον τύπο κατάγματος συγκεκριμένα. Από την ανάλυση αυτή διαπιστώθηκε σημαντική συσχέτιση των πολυμορφισμών c.194C>G ($p=0.04$) και c.507+506G>T ($p=0.033$) με την ύπαρξη ενός τουλάχιστον οστεοπορωτικού κατάγματος (οποιασδήποτε εντόπισης).

Παρατηρήθηκε επίσης συσχέτιση των καταγμάτων ισχίου με τον πολυμορφισμό c.507+506G>T ($p=0.01$) του CER1. Τέλος η παρουσία καταγμάτων ΠΧΚ φάνηκε να σχετίζεται με τον πολυμορφισμό c.531A>G ($p=0.048$). Η κατανομή των πολυμορφισμών του CER1 ανά θέση εντόπισης κατάγματος παρουσιάζεται στον Πίνακα 45.

Πίνακας 45. Συσχέτιση των γονότυπων των διαφορετικών πολυμορφισμών του CER1 με κατάγματα ευθραυστότητας

SNP	Κάταγμα	Φυσιολογικός γονότυπος (%)	Παθολογικός γονότυπος (%)	P
c.194C>G	Οποιοδήποτε	71	84.6	0.040
	Ισχίο	27.3	37	0.155
	Θ-ΟΜΣΣ	5.7	8.1	0.520
	ΠΧΚ	13.6	16	0.650
	Άλλο	12.5	8.1	0.318
c.507+506G>T	Οποιοδήποτε	72.5	86.2	0.033
	Ισχίο	26.8	44.4	0.010
	Θ-ΟΜΣΣ	6.2	8.2	0.593
	ΠΧΚ	12.4	17.2	0.344
	Άλλο	10.3	11.2	0.837
c.508-182A>G	Οποιοδήποτε	78.6	76.8	0.834
	Ισχίο	28.6	30	0.857
	Θ-ΟΜΣΣ	11.1	7.2	0.440
	ΠΧΚ	9.5	18.6	0.136
	Άλλο	12.7	8.7	0.456

c.531A>G	Οποιοδήποτε	78.7	75.5	0.729
	Ισχίο	29.2	29.6	0.968
	Θ-ΟΜΣΣ	7.9	11.6	0.481
	ΠΧΚ	10.1	22.7	0.048
	Άλλο	10.1	11.6	0.791
c.*121T>C	Οποιοδήποτε	60.2	67.5	0.419
	Ισχίο	30.5	39	0.323
	Θ-ΟΜΣΣ	6.7	12.5	0.255
	ΠΧΚ	13.3	24.4	0.105
	Άλλο	10.5	7.5	0.758

3.2.4 Ανάλυση πολυμορφισμών του CER1 σε συνάρτηση με βιοχημικούς δείκτες οστικού μεταβολισμού

Έγινε σύγκριση μεταξύ οστεοπορωτικών ασθενών που διέθεταν ή όχι τον παθολογικό γονότυπο του CER1 όσον αφορά τα επίπεδα στον ορό των δεικτών παραθορμόνη, οστεοκαλσίνη, καλσιτονίνη, λεπτίνη και IGF-1. Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με Independent samples Mann Whitney U test για κάθε πολυμορφισμό. (Πίνακας 46)

Τα επίπεδα οστεοκαλσίνης στο αίμα φάνηκε να διαφέρουν σημαντικά ($p < 0.05$) μεταξύ ασθενών με φυσιολογικά ή παθολογικά αλληλόμορφα για τους πολυμορφισμούς c.194C>G, c.507+506G>T, c.531A>G και c.*121T>C. Συγκεκριμένα ασθενείς με τον παθολογικό γονότυπο για τους προαναφερθέντες πολυμορφισμούς εμφάνισαν σημαντικά υψηλότερα επίπεδα οστεοκαλσίνης. Διαφορά παρατηρήθηκε επίσης στα επίπεδα της καλσιτονίνης του ορού για τον πολυμορφισμό c.194C>G (Φυσιολογικό αλληλόμορφο: 1.38, Παθολογικό αλληλόμορφο: 2.94, $p = 0.035$) και c.508-182A>G (Φυσιολογικό αλληλόμορφο: 1.17, Παθολογικό αλληλόμορφο: 2.55, $p = 0.033$). Οι υπόλοιποι δείκτες δεν εμφάνισαν διαφοροποίηση μεταξύ ασθενών με διαφορετικούς γονότυπους των πολυμορφισμών του γονιδίου CER1.

Πίνακας 46. Συσχέτιση των πολυμορφισμών του CER1 με βιοχημικούς δείκτες

Μεταβλητές	Normal Alleles	Abnormal Alleles	P value
c.194C>G			
Παραθορμόνη	43.31	60.04	0.843
Οστεοκαλσίνη	4.82	6.84	0.005
Καλσιτονίνη	1.38	2.94	0.035
Λεπτίνη	9.08	10.19	0.905
IGF-1	130.33	116.73	0.144
c.507+506G>T			
Παραθορμόνη	45.83	57.31	0.724
Οστεοκαλσίνη	4.84	6.71	0.038
Καλσιτονίνη	1.69	2.59	0.580
Λεπτίνη	8.54	10.86	0.408
IGF-1	118.32	121.47	0.980
c.508-182A>G			
Παραθορμόνη	44.5	66.26	0.778
Οστεοκαλσίνη	5.05	7.13	0.154
Καλσιτονίνη	1.17	2.55	0.033
Λεπτίνη	8.23	8.36	0.936
IGF-1	117.32	139.02	0.355
c.531A>G			
Παραθορμόνη	46.37	74.6	0.444
Οστεοκαλσίνη	5	8.29	0.033
Καλσιτονίνη	1.36	2.97	0.076
Λεπτίνη	8.32	8.27	0.592
IGF-1	128.67	130.03	0.336
c.*121T>C			
Παραθορμόνη	46.12	79.5	0.573
Οστεοκαλσίνη	5.28	8.42	0.020
Καλσιτονίνη	1.58	3.05	0.210
Λεπτίνη	8.13	8.77	0.817
IGF-1	134.72	120.72	0.893

3.3 Μελέτη πολυμορφισμών του γονιδίου DKK1

3.3.1 Πολυμορφισμοί του DKK1 και συσχετίσεις με κλινικούς παράγοντες

Στη συγκεκριμένη διατριβή μελετήθηκαν επίσης πολυμορφισμοί του γονιδίου DKK1. Προηγούμενες μελέτες αλληλούχησης του γονιδίου DKK1 έχουν αναδείξει την ύπαρξη 6 πολυμορφισμών. Πιλοτικές μελέτες στη σειρά των δικών μας ασθενών έδειξε υψηλότερη συχνότητα εμφάνισης των c.406+282 T>C, c.406+395 T>C και c.548-43A>G. **(Εικόνα 55)** Οπότε οι 3 αυτοί πολυμορφισμοί επιλέχθηκαν για περαιτέρω επεξεργασία και αναλύσεις συσχέτισης.

Συγκρίσεις μεταξύ πασχόντων και μαρτύρων δεν ανέδειξαν καμία διαφορά στη συχνότητα εμφάνισης του παθολογικού αλληλόμορφου σε ομο- ή ετεροζυγωτία και στους 3 πολυμορφισμούς του DKK1. **(Πίνακας 47)**

Πίνακας 47. Κατανομή (%) των τριών μελετηθέντων πολυμορφισμών του DKK1 σε πάσχοντες (οστεοπορωτικούς) και μάρτυρες

Γονότυποι CER1		Πάσχοντες (%)	Μάρτυρες (%)	p-value
c.406+282 T>C	Normal Alleles (T/T)	16.1	20	1.000
	Abnormal Alleles (T/C or C/C)	83.9	80	
c.406+395 T>C	Normal Alleles (T/T)	17.2	22.2	1.000
	Abnormal Alleles (T/C or C/C)	82.2	77.8	
c.548-43 A>G	Normal Alleles (A/A)	22.7	8.3	0.389
	Abnormal Alleles (A/G or G/G)	77.3	91.7	

Δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση μεταξύ του DKK1 και της ηλικίας, της ηλικίας εμμηνόπαυσης, του ΔΜΣ καθώς και των BMD, T-score και FRAX score. Επίσης καμία κλινική παράμετρος δε φάνηκε να διαφοροποιείται μεταξύ ασθενών με διαφορετικούς γονότυπους των μελετηθέντων πολυμορφισμών. Τέλος, τα επίπεδα των βιοχημικών δεικτών ήταν παρόμοια ($p>0.05$) για τις δύο ομάδες οστεοπορωτικών ασθενών (φυσιολογικός ή παθολογικός γονότυπος) για όλους τους πολυμορφισμούς.

3.3.2 Πολυμορφισμοί του DKK1 και οστεοπορωτικά κατάγματα

Η ύπαρξη των τριών μελετηθέντων πολυμορφισμών του DKK1 δε φάνηκε να συσχετίζονται με οστεοπορωτικά κατάγματα σε καμία εντόπιση (**Πίνακας 48**).

Πίνακας 48. Συσχέτιση των γονότυπων των διαφορετικών πολυμορφισμών του DKK1 με κατάγματα ευθραυστότητας

SNP	Κάταγμα	Φυσιολογικός γονότυπος (%)	Παθολογικός γονότυπος (%)	P value
c.406+282 T>C	Οποιοδήποτε	100	76.9	0.283
	Ισχίο	20	48	0.355
	Θ-ΟΜΣΣ	40	4	0.064
	ΠΧΚ	0	16	0.337
	Άλλο	20	8	0.443
c.406+395 T>C	Οποιοδήποτε	100	75	0.436
	Ισχίο	20	47.8	0.355
	Θ-ΟΜΣΣ	40	4.3	0.073
	ΠΧΚ	0	17.4	1.000
	Άλλο	20	4.3	0.331
c.548-43 A>G	Οποιοδήποτε	100	70.6	0.532
	Ισχίο	40	43.8	1.000
	Θ-ΟΜΣΣ	20	6.3	0.429
	ΠΧΚ	0	12.5	1.000
	Άλλο	20	6.3	0.429

3.4 Συσχέτιση έκφρασης του RUNX2 με πολυμορφισμούς του CER1 και DKK1

Τέλος, τα επίπεδα έκφρασης του RUNX2 μελετήθηκαν σε συνάρτηση με τους πολυμορφισμούς του CER1 (Πίνακας 49) και DKK1 (Πίνακας 50) σε δείγματα περιφερικού αίματος ασθενών με οστεοπόρωση.

Πίνακας 49. Συσχέτιση των πολυμορφισμών του CER1 με τα επίπεδα έκφρασης του RUNX2 στο αίμα οστεοπορωτικών ασθενών

Πολυμορφισμός	Φυσιολογικός γονότυπος	Παθολογικός γονότυπος	P value
c.194C>G	1.26 ± 0.09	1.27 ± 0.09	0.786
c.507+506G>T	1.28 ± 0.1	1.26 ± 0.09	0.367
c.508-182A>G	1.29 ± 0.1	1.28 ± 0.09	0.517
c.531A>G	1.28 ± 0.1	1.29 ± 0.09	0.583
c.*121T>C	1.26 ± 0.09	1.31 ± 0.09	0.036

Από τη στατιστική ανάλυση προέκυψε συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού c.*121T>C του γονιδίου CER1 και της έκφρασης RUNX2. Συγκεκριμένα, η ύπαρξη παθολογικού αλληλόμορφου του c.*121T>C σχετίσθηκε με υπερέκφραση του RUNX2 (1.31 ± 0.09 vs 1.26 ± 0.09, p=0.036). Οι υπόλοιποι πολυμορφισμοί δε φάνηκε να επιδρούν στην έκφραση του RUNX2.

Παρατηρήθηκε επίσης υπερέκφραση του RUNX2 σε συνάρτηση με τον παθολογικό γονότυπο του πολυμορφισμού c.548-43 A>G του DKK1 (1.31 ± 0.09 vs 1.25 ± 0.1, p=0.041).

Πίνακας 50. Συσχέτιση των πολυμορφισμών του DKK1 με τα επίπεδα έκφρασης του RUNX2 στο αίμα οστεοπορωτικών ασθενών

Πολυμορφισμός	Φυσιολογικός γονότυπος	Παθολογικός γονότυπος	P value
c.406+282 T>C	1.30 ± 0.09	1.27 ± 0.1	0.659
c.406+395 T>C	1.30 ± 0.1	1.27 ± 0.09	0.508
c.548-43 A>G	1.25 ± 0.1	1.31 ± 0.09	0.041

3.5 Μελέτη γονιδιακής έκφρασης των FST, ITGB5, SOX-4 και SMAD1

Κατά την ανάλυση γονιδιακής έκφρασης των FST, ITGB5, SOX-4 και SMAD1 παρατηρήθηκε μια τάση διαφοροποίησης μεταξύ οστεοπορωτικών ασθενών και μαρτύρων, χωρίς όμως να φτάσει στατιστικά σημαντικά επίπεδα. Επιπλέον, η περαιτέρω ανάλυση και σύγκριση σε συνάρτηση με κλινικούς παράγοντες που συζητήθηκαν πιο πάνω, δεν οδήγησε σε ασφαλή συμπεράσματα.

Τέλος, έγινε σύγκριση της σχετικής έκφρασης των προαναφερθέντων γονιδίων σε δείγματα αίματος και οστίτη ιστού οστεοπορωτικών. Παρά το γεγονός ότι αναδείχθηκε μια τάση υπερέκφρασης όλων των γονιδίων, FST, ITGB5, SOX-4 και SMAD1, στο οστό σε σχέση με το αίμα, η διαφορά δεν ήταν στατιστικά σημαντική. **(Εικόνα 56)**

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ε

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

1. Κλινικά δεδομένα και συσχετίσεις σε ασθενείς με οστεοπόρωση

1.1 Υποδιάγνωση και υποθεραπεία της οστεοπόρωσης σε ασθενείς με οστεοπορωτικά κατάγματα

Πολλοί παράγοντες κινδύνου έχουν συσχετισθεί με αυξημένο κίνδυνο οστεοπόρωσης και επακόλουθων καταγμάτων στη βιβλιογραφία. Στη δική μας σειρά, 77.3% των συμμετεχόντων είχαν τουλάχιστον ένα παράγοντα κινδύνου για εμφάνιση οστεοπόρωσης και 28.6% αυτών ανέφεραν ιστορικό ≥ 1 καταγμάτων ευθραυστότητας κατά τη διάρκεια της ενήλικου ζωής, πριν την παρούσα εισαγωγή. Όσον αφορά την εντόπιση του προηγηθέντος και του παρόντος κατάγματος, παρατηρήθηκε σημαντική προδιάθεση για εμπλοκή της ίδιας (σπονδυλική στήλη) ή ετερόπλευρης (ισχίο και ΠΧΚ) περιοχής. Αυτή η παρατήρηση συνάδει με τα μέχρι τώρα δεδομένα της βιβλιογραφίας. Οι Johnell et al έδειξαν ότι ένα προηγηθέν κάταγμα ισχίου είναι σημαντικός παράγοντας κινδύνου για νέο κάταγμα ισχίου σε άνδρες και γυναίκες [258]. Οι Klotzbuecher et al ανέφεραν συσχέτιση μεταξύ προηγηθέντων σπονδυλικών καταγμάτων και μελλοντικών καταγμάτων, με τη συσχέτιση να είναι ισχυρότερη για επακόλουθα κατάγματα σπονδυλικής στήλης ($RR=4.4$, $95\%CI=3.6-5.4$ για περι/μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και $RR=19$, $95\%CI=6.5-55.3$ για άλλους πληθυσμούς ασθενών) [234]. Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί ότι κατάγματα ΠΧΚ συνδέονται με την εμφάνιση μελλοντικών καταγμάτων ΠΧΚ ($RR=3.3$, $95\%CI=2.0-5.3$) σε σχέση με άλλες εντοπίσεις σε περι/μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες [234].

Παρά την ύπαρξη πολλαπλών παραγόντων κινδύνου για εμφάνιση οστεοπόρωσης, συμπεριλαμβανομένων των προηγούμενων καταγμάτων ευθραυστότητας, και υψηλών FRAX score, οστεοπόρωση αναγνωρίσθηκε σε μικρό μόνο ποσοστό των ασθενών πριν την παρούσα εισαγωγή. Η παρούσα μελέτη δείχνει ότι η αντιμετώπιση της οστεοπόρωσης σε ασθενείς με κατάγματα ευθραυστότητας δεν είναι επαρκής στη χώρα μας. Κατά την εισαγωγή μόνο 21.4% των ασθενών γνώριζαν

ότι έχουν οστεοπόρωση και λάμβαναν κάποιο είδος φαρμακευτικής αγωγής, παρά το γεγονός ότι η πλειοψηφία αυτών ήταν ασθενείς υψηλού κινδύνου για εμφάνιση οστεοπόρωσης. Το παρατηρηθέν ποσοστό αντιοστεοπορωτικής θεραπείας είναι παρόμοιο με αυτό που αναφέρεται στη βιβλιογραφία. Ενδεικτικά αναφέρεται μία αναδρομική μελέτη που πραγματοποιήθηκε στο Οντάριο το 2000, η οποία έδειξε ότι ασθενείς με κατάγματα ευθραυστότητας λάμβαναν αντιοστεοπορωτική θεραπεία σε ποσοστό 18.5% [236]. Επιπλέον, μια εθνική μελέτη στην Ελβετία αναγνώρισε ποσοστά θεραπείας 23.2% σε ασθενείς ηλικίας άνω των 50 που νοσηλεύονταν για οστεοπορωτικά κατάγματα [259], με μια πιο πρόσφατη μελέτη στην Ιταλία να αναφέρει θεραπεία στο 22.5% των ασθενών ≥ 65 ετών με κατάγματα ισχίου χαμηλής ενέργειας [260]. Με βάση τα παραπάνω είναι ενδιαφέρον να αναφερθεί ότι δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στα ποσοστά θεραπείας μεταξύ των προαναφερθέντων μελετών (συμπεριλαμβανομένης και της δικής μας), παρά το γεγονός ότι όλες έχουν πραγματοποιηθεί σε διαφορετικές χώρες και χρονικές στιγμές με διαφορά μεταξύ τους παραπάνω από 10-15 χρόνια. Η παρατήρηση αυτή υποδεικνύει ότι έχει γίνει μικρή μόνο πρόοδος στις κλινικές πρακτικές που αφορούν την αντιμετώπιση της οστεοπόρωσης σε ασθενείς αυξημένου κινδύνου, παρά το γεγονός ότι υπάρχουν παγκόσμια αποδεκτές πολιτικές screening για αναγνώριση ασθενών σε αυξημένο κίνδυνο καθώς και αποτελεσματικές μέθοδοι θεραπείας για την οστεοπόρωση.

Όσον αφορά τον τύπο της αντιοστεοπορωτικής θεραπείας, λίγοι μόνο ασθενείς λάμβαναν επαρκή θεραπεία για οστεοπόρωση ώστε να μειωθεί ο κίνδυνος καταγμάτων σπονδυλικής στήλης, ισχίου και άλλων μη σπονδυλικών, μη ισχιακών καταγμάτων (διφωσφονικά, ρανελικό στρόντιο ή συνδυασμένη θεραπεία), ενώ οι υπόλοιποι πιθανώς αντιμετώπιζονταν ανεπαρκώς (π.χ σκευάσματα ασβεστίου ή βιταμίνης D μόνο, παραθορμόνη μόνο, ραλοξιφαίνη). Τα συμπληρώματα ασβεστίου και βιταμίνης D είναι συνήθως ανεπαρκή από μόνα τους για πρόληψη οστεοπορωτικών καταγμάτων ειδικά σε χαμηλές δόσεις (καθημερινή χορήγηση <400 IU βιταμίνης D3 και $<1,000$ mg ασβεστίου) [261]. Ωστόσο, μπορεί να φανούν χρήσιμα σε ασθενείς άνω των 65 σε αυξημένο κίνδυνο για πτώσεις ή σε περιπτώσεις ανεπάρκειας ασβεστίου ή βιταμίνης D ή όταν δίνονται σε συνδυασμό με αναβολικούς παράγοντες ή παράγοντες που αναστέλλουν την οστική απορρόφηση [262]. Η παραθορμόνη δύναται να μειώσει τον

κίνδυνο εμφάνισης σπονδυλικών καταγμάτων, αλλά μέχρι σήμερα τα αποτελέσματά της στα μη σπονδυλικά κατάγματα είναι ασαφή [149]. Η ραλοξιφαίνη μειώνει το ρυθμό οστικής αναδόμησης, προλαμβάνει τη μείωση της οστικής μάζας και μειώνει σημαντικά τον κίνδυνο καταγμάτων σπονδυλικής στήλης, χωρίς ωστόσο να επηρεάζει τον κίνδυνο εμφάνισης των υπόλοιπων οστεοπορωτικών καταγμάτων. Η καλσιτονίνη φαίνεται να μειώνει την οστική απώλεια, αλλά δεν υπάρχουν σαφή συμπεράσματα σχετικά με την ικανότητά της να προλαμβάνει κατάγματα ευθραυστότητας [263]. Πρόσφατα αναφέρθηκε συσχέτιση μεταξύ της χρήσης καλσιτονίνης και καρκινογένεσης [154]. Παρόλα αυτά δεν υπάρχουν αρκετά δεδομένα που να στηρίζουν μια αιτιολογική συσχέτιση μεταξύ της καλσιτονίνης και εμφάνισης κακοήθειας [264]. Τέλος, το ρανελικό στρόντιο, ένας φαρμακευτικός παράγοντας που είχε εγκριθεί στην Ευρώπη για την αντιμετώπιση της μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης έχει αποδεδειγμένη αποτελεσματικότητα στη βελτίωση της οστικής ισχύος και την πρόληψη σπονδυλικών και μη καταγμάτων. Ανησυχίες σχετικά με την ασφάλεια του φαρμάκου στο καρδιαγγειακό οδήγησαν σε περιορισμό της χρήσης του στρόντιου μόνο σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ή άνδρες με σοβαρή οστεοπόρωση και αυξημένο κίνδυνο κατάγματος [158].

Η μελέτη μας αναγνώρισε επίσης παράγοντες που επηρεάζουν την πιθανότητα αντιμετώπισης της οστεοπόρωσης πριν το παρόν οστεοπορωτικό κάταγμα. Τα άτομα που είχαν μεγαλύτερη πιθανότητα λήψης αντιοστεοπορωτικής θεραπείας ήταν γυναίκες, ασθενείς ηλικίας 66-75 ετών, με οικογενειακό ιστορικό οστεοπόρωσης ή ιστορικό προηγθέντος ατραυματικού κατάγματος, ειδικά στη σπονδυλική στήλη ή σε πολλαπλές σκελετικές εντοπίσεις. Αντίθετα, ηλικία άνω των 86, ορισμένοι τύποι προηγούμενων οστεοπορωτικών καταγμάτων και ιστορικό σακχαρώδη διαβήτη παρουσίασαν ανάστροφη σχέση με την πιθανότητα λήψης αγωγής για οστεοπόρωση.

Το χαμηλό ποσοστό διάγνωσης και θεραπείας της οστεοπόρωσης στους άνδρες που παρατηρήθηκε στη σειρά μας συνάδει με τα ευρήματα προηγούμενων ανάλογων μελετών, με τα ποσοστά θεραπείας να κυμαίνονται από 0% έως 15% [265-267]. Δυστυχώς φαίνεται ότι επικρατεί ακόμα η λανθασμένη άποψη ότι η οστεοπόρωση είναι νόσος μόνο των γυναικών, παρά την ύπαρξη πολλών σημαντικών ερευνητικών μελετών που αποδεικνύουν το πρόβλημα της οστεοπόρωσης στον ανδρικό πληθυσμό και την

αυξημένη θνησιμότητα μετά από οστεοπορωτικά κατάγματα στους άνδρες σε σχέση με τις γυναίκες [268]. Παρατηρήθηκε επίσης ότι ασθενείς άνω των 86 ετών δε λάμβαναν γενικά θεραπεία για οστεοπόρωση, παρά το γεγονός ότι ο καταγματικός κίνδυνος για όλους τους τύπους καταγμάτων αυξάνει σημαντικά με την αύξηση της ηλικίας [269, 270]. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι οι ηλικιωμένοι ασθενείς έχουν συνήθως επιβαρυνμένο ατομικό ιστορικό με πολλαπλές συνοδές παθήσεις και πολλά διαφορετικά φάρμακα. Η συνταγογράφηση επιπρόσθετων φαρμακευτικών σκευασμάτων στους ασθενείς με πολυφαρμακία μπορεί να αυξήσει τον κίνδυνο αλληλεπιδράσεων μεταξύ των φαρμάκων, επιπλοκές και μη συμμόρφωση των ασθενών στη θεραπεία [271].

Ενδιαφέρον παρουσιάζει επίσης η παρατήρηση ότι έναρξη αντιοστεοπορωτικής αγωγής έγινε μόνο στο 22% των ασθενών με προηγηθέντα κατάγματα ισχίου σε σχέση με τα πιο αυξημένα ποσοστά θεραπείας που παρατηρήθηκαν στους ασθενείς με κατάγματα ΠΧΚ και ΣΣ. Τα αποτελέσματα αυτά είναι παρόμοια με πηγούμενες αναφορές στη βιβλιογραφία, με ποσοστά θεραπείας 6-22.5% σε άλλες χώρες της Ευρώπης [260, 266, 272]. Ένας πιθανός λόγος μπορεί να είναι η πεποίθηση πολλών παρόχων υγείας ότι όταν συμβεί ένα κάταγμα ισχίου είναι πλέον πολύ αργά για οποιαδήποτε θεραπεία που θα άλλαζε την πορεία της νόσου. Η πρακτική αυτή είναι ιδιαίτερα συχνή στους ηλικιωμένους, που τείνουν να παρουσιάζουν συνήθως αυτά τα κατάγματα, σε σύγκριση με νεότερους ασθενείς που συνήθως εμφανίζουν κατάγματα ΠΧΚ ή σπονδυλικής στήλης και έχουν μεγαλύτερη πιθανότητα σωστής αντιμετώπισης της υποκείμενης οστεοπόρωσης. Ένας άλλος λόγος που θα μπορούσε να εξηγήσει τη ανεπαρκή αντιμετώπιση της οστεοπόρωσης σε ασθενείς με κατάγματα ισχίου είναι οι συνεχώς αυξανόμενες αναφορές για συσχέτιση της χρήσης διφωσφονικών με άτυπα κατάγματα του μηριαίου. Αποτέλεσμα αυτών των αναφορών ήταν να καταστήσει τους ιατρούς ακόμη πιο απρόθυμους να χορηγήσουν αντιοστεοπορωτική αγωγή.

Χαμηλά ποσοστά θεραπείας παρατηρήθηκαν επίσης σε ασθενείς με μη σπονδυλικά, μη ισχιακά κατάγματα (εξαιρουμένων των καταγμάτων ΠΧΚ). Γενικά, κατάγματα ευθραυστότητας σε σημεία εκτός ΣΣ, ισχίου και αντιβραχίου θεωρούνται άσχετα με την οστεοπόρωση και έτσι δεν αντιμετωπίζονται περαιτέρω, παρά το γεγονός ότι υπάρχουν δεδομένα που να υποστηρίζουν το αντίθετο [234, 270].

Τέλος, ο σακχαρώδης διαβήτης δεν αναγνωρίστηκε ως παράγοντας κινδύνου για εμφάνιση οστεοπόρωσης. Αντίθετα, ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη είχαν σημαντικά μικρότερη πιθανότητα για λήψη κατάλληλης αντιοστεοπορωτικής αγωγής. Οι υπόλοιποι γνωστοί παράγοντες κινδύνου δε φάνηκε να επηρεάζουν με κανένα τρόπο τα ποσοστά ελέγχου και θεραπείας της οστεοπόρωσης, υποστηρίζοντας έτσι ακόμη περισσότερο την υπόθεση ότι υπάρχει ένα κενό στη φροντίδα της οστεοπόρωσης σε ασθενείς αυξημένου κινδύνου. Αυτές οι παρατηρήσεις αντιπροσωπεύουν είτε ελλιπή γνώση ή ανεπαρκείς στρατηγικές στο να μεταφραστεί η γνώση σε επαρκείς διαγνωστικές και θεραπευτικές πρακτικές για την οστεοπόρωση.

Το 2005 η American Orthopaedic Association ξεκίνησε ένα πρόγραμμα δευτερογενούς πρόληψης της οστεοπόρωσης με τίτλο “Own the Bone”. Στόχος του κινήματος αυτού ήταν να επιμορφώσει ιατρούς και ασθενείς σχετικά με τη σημασία του screening και της θεραπείας για οστεοπόρωση σε άτομα με οστεοπορωτικά κατάγματα. Μέχρι σήμερα το “Own the Bone” έχει εφαρμοστεί σε 220 νοσοκομεία στις ΗΠΑ, οδηγώντας σε σημαντική βελτίωση της αντιμετώπισης της οστεοπόρωσης μετά από ένα κάταγμα [239]. Πιο πρόσφατα, η ομάδα Fracture Working Group του International Osteoporosis Foundation δημοσίευσε μία μελέτη που περιγράφει υπηρεσίες δευτερογενούς πρόληψης της οστεοπόρωσης σε ασθενείς με οστεοπορωτικά κατάγματα μέσω ενός συστήματος που συντονίζεται κεντρικά από το σύστημα υγείας της εκάστοτε χώρας [273]. Στόχος είναι η εξάλειψη του χάσματος στην αντιμετώπιση της οστεοπόρωσης, αναγνωρίζοντας ασθενείς που αναζητούν ιατρική φροντίδα για κατάγματα ευθραυστότητας και παραπέμποντάς τους για περαιτέρω έλεγχο και θεραπεία. Το επονομαζόμενο Fracture Liaison Service (FLS) μοντέλο σχεδιάστηκε αρχικά στο Ηνωμένο Βασίλειο [238], αλλά έχει πλέον εφαρμοστεί σε πολλές χώρες της Ευρώπης, Αυστραλίας και ΗΠΑ. Παρά τα πολλά υποσχόμενα αρχικά δεδομένα όσον αφορά τα ποσοστά παρέμβασης για την οστεοπόρωση, τη μείωση του κινδύνου για επανακάταγμα, τη μειωμένη θνησιμότητα και το αυξημένο όφελος με παράλληλη μείωση του κόστους [274] σε ορισμένα κέντρα αναφοράς, χρειάζεται ακόμα αρκετή δουλειά. Τέτοια προγράμματα παρέμβασης πρέπει να εφαρμοστούν σε μεγαλύτερη κλίμακα παγκοσμίως προκειμένου να επιτευχθεί αλλαγή στη συμπεριφορά των ιατρών αναφορικά με την οστεοπόρωση και να αυξηθούν τα ποσοστά έγκαιρης και επαρκούς

αντιμετώπισης της οστεοπόρωσης, μειώνοντας έτσι τον κίνδυνο επανακατάγματος.

Να αναφερθεί εδώ ότι υπάρχουν κάποιοι περιορισμοί στο συγκεκριμένο κομμάτι της μελέτης. Αρχικά, η μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε σε ένα μόνο νοσοκομείο και έτσι τα αποτελέσματα δεν μπορούν να γενικευθούν σε ολόκληρο τον πληθυσμό της Ελλάδας. Παρόλα αυτά το Γενικό Πανεπιστημιακό Νοσοκομείο της Λάρισας είναι το μόνο τριτοβάθμιο κέντρο αναφοράς στην περιοχή της κεντρικής Ελλάδος. Ένας άλλος περιορισμός αφορά το μικρό δείγμα ασθενών με κατάγματα ΣΣ και ΠΧΚ σε σύγκριση με ασθενείς με κατάγματα ισχίου. Για το συγκεκριμένο κομμάτι της μελέτης συμπεριλήφθηκαν μόνο ασθενείς που νοσηλεύτηκαν στο νοσοκομείο. Ωστόσο τα περισσότερα κατάγματα ΣΣ και ΠΧΚ αντιμετωπίζονται στο τμήμα επειγόντων περιστατικών ή στα εξωτερικά ιατρεία, σε αντίθεση με τα κατάγματα ισχίου που κατά κανόνα νοσηλεύονται στην Ορθοπαιδική κλινική.

Η μελέτη μας έρχεται να προσθέσει νέα δεδομένα στην ήδη υπάρχουσα βιβλιογραφία στο θέμα της υποδιάγνωσης και υποθεραπείας της οστεοπόρωσης. Εδώ παρέχουμε δεδομένα σε έναν Ελληνικό πληθυσμό ανδρών και γυναικών με διαφορετικά οστεοπορωτικά κατάγματα. Από όσο γνωρίζουμε μέχρι σήμερα, αυτή είναι η πρώτη μελέτη που πραγματοποιείται σε έναν ομοιογενή υποπληθυσμό οστεοπορωτικών ασθενών στην Ελλάδα για να διερευνηθεί το κατά πόσο η οστεοπόρωση διαγιγνώσκεται και θεραπεύεται επαρκώς σε ασθενείς με κατάγματα ευθραυστότητας. Η ανάλυσή μας παρέχει επίσης σημαντικά δεδομένα αναφορικά με διάφορες κλινικές παραμέτρους που ενδέχεται να επηρεάσουν τη απόφαση των παρόχων υγείας στην Ελλάδα να χορηγήσουν αντιοστεοπορωτική αγωγή. Είναι επίσης μία από τις λίγες μόνο μελέτες που έχουν γίνει παγκοσμίως μετά τη εφαρμογή μοντέλων όπως το “Fracture Liaison Service” του International Osteoporosis Foundation και το “Own the Bone” του American Orthopaedic Association. Δυστυχώς, τα ποσοστά διάγνωσης και θεραπείας της οστεοπόρωσης στη σειρά μας ήταν παρόμοια με προηγούμενες αναφορές, αποδεικνύοντας ότι δεν έχουν γίνει σημαντικές αλλαγές προς το καλύτερο τα τελευταία χρόνια παρά την έμφαση που δίνεται παγκοσμίως σε υπηρεσίες δευτερογενούς πρόληψης της οστεοπόρωσης.

Συμπερασματικά, η συγκεκριμένη μελέτη παρέχει δεδομένα περί της ανεπαρκούς αντιμετώπισης της οστεοπόρωσης σε άτομα με οστεοπορωτικά κατάγματα, παρά το γεγονός ότι η πλειοψηφία αυτών είχαν τουλάχιστον έναν παράγοντα κινδύνου για οστεοπόρωση, συμπεριλαμβανομένων των προηγθέντων καταγμάτων ευθραυστότητας. Παράγοντες όπως το φύλο, η ηλικία, το οικογενειακό ιστορικό οστεοπόρωσης και τα προηγούμενα οστεοπορωτικά κατάγματα ενδέχεται να επηρεάσουν την πιθανότητα των ασθενών για λήψη αντιοστεοπορωτικής αγωγής ενώ άλλοι παράγοντες δεν αναγνωρίζονται ως σχετικοί με την οστεοπόρωση. Παρεμβάσεις για βελτίωση των ποσοστών εκτίμησης του καταγματικού κινδύνου, έγκαιρης διάγνωσης και θεραπείας είναι απαραίτητες για να αντιμετωπιστεί το πρόβλημα της υποδιάγνωσης και υποθεραπείας της οστεοπόρωσης. Οι ιατροί πρέπει να συνειδητοποιήσουν ότι το να στοχεύουν ασθενείς αυξημένου κινδύνου είναι καθοριστικής σημασίας. Επαρκής αντιμετώπιση της οστεοπόρωσης μπορεί να μειώσει τον κίνδυνο για επόμενο οστεοπορωτικό κάταγμα και το σχετιζόμενο με αυτό προσωπικό, οικονομικό και κοινωνικό κόστος.

1.2 Το φαινόμενο της απόκλισης του T-score ισχίου και σπονδυλικής στήλης κατά τη διάγνωση της οστεοπόρωσης

Η διαγνωστική προσέγγιση της οστεοπόρωσης περιλαμβάνει εκτίμηση των παραγόντων κινδύνου για εμφάνιση οστεοπόρωσης και μέτρηση μέσης οστικής πυκνότητας με DEXA σε δύο περιοχές του σκελετού, συχνότερα στο ισχίο και την οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης (ΟΜΣΣ). Οι μετρήσεις αυτές χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό των T-score τα οποία ουσιαστικά είναι μέτρο της διαφοράς της BMD ενός ασθενούς από τη μέση BMD ενός φυσιολογικού πληθυσμιακού δείγματος ηλικίας 20-30 ετών. Ωστόσο, κάποιες φορές, οι τιμές της BMD σε δύο διαφορετικά σημεία μπορεί να διαφέρει, οδηγώντας έτσι σε απόκλιση των T-score και δυσκολίες στη σαφή διάγνωση της οστεοπόρωσης.

Με βάση τα κριτήρια του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας για τη διάγνωση της οστεοπόρωσης, από τους 64 ασθενείς που συμπεριλήφθηκαν στη μελέτη, 22.2% διαγνώστηκαν με οστεοπόρωση στο ισχίο και 28.6% στην ΟΜΣΣ. Απόκλιση μεταξύ των

T-score ισχίου και ΟΜΣΣ παρατηρήθηκε στο 54% των ασθενών. Η ελλάσων απόκλιση ήταν συχνή, με ποσοστό εμφάνισης 46%. Αντίθετα η μείζων απόκλιση ήταν πιο σπάνια με επιπολασμό 8%. Το συνολικό ποσοστό απόκλισης στη μέτρηση των T-score στη δική μας σειρά ασθενών ήταν παρόμοιο με αυτό που έχει αναφερθεί σε άλλες αντίστοιχες μελέτες, όπου τα ποσοστά κυμαίνονται στο 41.5-70%. Ενδεικτικά αναφέρεται η μελέτη του Woodson που πραγματοποιήθηκε σε 5627 εξωτερικούς ασθενείς σε ένα κοινοτικό κέντρο ελέγχου οστεοπόρωσης από το 1989 έως και το 1999 και ανέδειξε το φαινόμενο της απόκλισης στο 44% (ελλάσων: 39%, μείζων: 5%) των ασθενών που ελέγχθηκαν την ίδια χρονική στιγμή με DEXA ΟΜΣΣ και ισχίου [275]. Μία άλλη αναδρομική μελέτη σε 3479 ασθενείς αναφέρει ελλάσων απόκλιση στο 42% των περιπτώσεων και μείζων στο 4% (σύνολο: 46%) [250]. Τέλος, μελέτη σε παραπληγικούς άνδρες αναφέρει το φαινόμενο της απόκλισης μεταξύ ισχίου και σπονδυλικής στήλης στο 70% των περιπτώσεων [276]. (Πίνακας 51)

Πίνακας 51. Επιπολασμός απόκλισης των T-score σε ΟΜΣΣ και ισχίο			
Μελέτη	Ελλάσων απόκλιση (%)	Μείζων απόκλιση (%)	Συνολική απόκλιση (%)
Δική μας	46	8	54
Woodson (2000) ²⁷⁵	39	5	44
Mounach et al (2009) ²⁵⁰	42	4	46
Moayyeri et al (2005) ²⁷⁷	38.9	2.7	41.6
Singh et al (2012) ²⁷⁶	34.48	16.67	51.15
Alavizadeh et al (2014) ²⁷⁸	38.9	31.2	70.1

Συνολικά έχουν περιγραφεί πέντε διαφορετικοί τύποι απόκλισης μεταξύ ισχίου και σπονδυλικής στήλης και οφείλονται σε: φυσιολογικά αίτια, παθοφυσιολογικά αίτια, ανατομικά αίτια, πλασματικό εύρημα και τεχνικά προβλήματα [275]. Η φυσιολογική απόκλιση σχετίζεται με την ικανότητα του σκελετού να προσαρμόζεται σε φυσιολογικές εξωτερικές και εσωτερικές δυνάμεις και παράγοντες. Μηχανική τάση, ειδικά όταν αυτή αφορά στήριξη του βάρους, παίζει σημαντικό ρόλο σε τέτοιου είδους απόκλιση. Παράδειγμα αυτής της απόκλισης αποτελεί η διαφορά οστικής πυκνότητας μεταξύ του

κυρίαρχου και μη κυρίαρχου ισχίου. Επιπλέον, έχει αναφερθεί ότι η σπονδυλική στήλη και το ισχίο ξεκινούν με διαφορετικά T-score (η ΟΜΣΣ φαίνεται να φτάνει τη μέγιστη οστική πυκνότητα 5 χρόνια πριν το ισχίο) και με το πέρασμα των ετών η οστική απώλεια είναι ταχύτερη στο σπογγώδες από ότι στο συμπαγές οστό. Η παθοφυσιολογική απόκλιση προκαλείται ως αποτέλεσμα υποκείμενης παθολογίας. Παραδείγματα αποτελούν οστεόφυτα στη σπονδυλική στήλη, σκλήρυνση των οστικών αποφύσεων των σπονδύλων, αγκυλοποιητική σπονδυλοαρθρίτιδα και ασβεστοποίηση της αορτής. Η ανώμαλη αυτή εναπόθεση ασβεστίου μέσα στην περιοχή ελέγχου του DEXA θα οδηγήσει σε ψευδώς αυξημένο T-score στην ΟΜΣΣ. Ο τρίτος τύπος απόκλισης, η ανατομική απόκλιση, αναφέρεται σε διαφορές στην οστική δομή ανάλογα με την ακριβή περιοχή που θα ελεγχθεί. Ως παράδειγμα δίνεται η διαφορά στο T-score μεταξύ προσθιοπίσθας ΟΜΣΣ και ύπτιας πλάγιας ΟΜΣΣ στον ίδιο ασθενή. Απόκλιση λόγω πλασματικού ευρήματος έχουμε όταν ακτινοσκοπικά αντικείμενα βρίσκονται στο πεδίο ενδιαφέροντος κατά τη διάρκεια της εξέτασης (θειικό βάριο, μέταλλο από φερμουάρ ή κέρμα, αρθροπλαστική ή άλλο μεταλλικό αντικείμενο). Τέλος, τεχνικά προβλήματα μπορούν να επηρεάσουν τα αποτελέσματα του DEXA. Αυτά συμπεριλαμβάνουν βλάβες του μηχανήματος, κίνηση του ασθενούς κατά την εξέταση, διαφορά μεταξύ των τεχνικών που χειρίζονται το μηχάνημα κτλ.

Συνολικά στους ασθενείς με ελάχιστο απόκλιση το μέσο T-score στο ισχίο ήταν παρόμοιο με αυτό της ΟΜΣΣ (-1.90 vs -1.70, $p>0.05$). Αντίθετα, στους ασθενείς με μείζων απόκλιση παρατηρήθηκε σημαντικά χαμηλότερο T-score στην ΟΜΣΣ σε σχέση με το ισχίο (-2.90 vs -0.42 αντίστοιχα, $p<0.05$). Το φαινόμενο αυτό μπορεί να οφείλεται σε διάφορα αίτια που αφορούν τη διαφορετική περιεκτικότητα σε συμπαγές και σπογγιώδες οστό σε διαφορετικά σημεία του σκελετού καθώς και στο διαφορετικό ρυθμό οστικής αποδόμησης στην ΟΜΣΣ σε σχέση με το ισχίο, όπως έχει αναφερθεί και στο παρελθόν [250]. Τα σώματα των σπονδύλων έχουν μεγάλη περιεκτικότητα σε σπογγώδες οστό, το οποίο χαρακτηρίζεται από ταχύτερο οστικό μεταβολισμό και άρα τείνει να είναι πιο επιρρεπές σε απώλεια οστικής μάζας [279]. Επιπλέον, τα περισσότερα από τα αίτια της δευτεροπαθούς οστεοπόρωσης (π.χ. κορτικοστεροειδή, υπερθυρεοειδισμός, ρευματοειδής αρθρίτιδα, φάρμακα κτλ) επηρεάζουν πρώτα τη

σπονδυλική στήλη και γι'αυτό τα σπονδυλικά κατάγματα προηγούνται γενικά των καταγμάτων ισχίου [280].

Μελετήθηκαν επίσης παράγοντες που ενδεχομένως να σχετίζονταν με την παρουσία απόκλισης στο T-score. Στη μελέτη μας μόνο το οικογενειακό ιστορικό οστεοπόρωσης αναγνωρίστηκε ως παράγοντας σχετιζόμενος με την απόκλιση μεταξύ σπονδυλικής στήλης και ισχίου. Οι υπόλοιποι παράγοντες (ηλικία, BMI, οστεοπορωτικό κάταγμα, ηλικία εμμηνόπαυσης, θυρεοειδοπάθεια, σακχαρώδης διαβήτης, ρευματοειδής αρθρίτιδα, κορτικοστεροειδή, πρόσληψη γαλακτοκομικών, κάπνισμα) δεν παρουσίασαν στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των ομάδων ασθενών. Το γεγονός αυτό ίσως να οφείλεται εν μέρει στο μικρό σχετικά μέγεθος του δείγματος (N=64), που περιορίσε τη στατιστική ισχύ των αποτελεσμάτων.

Τα αποτελέσματα για τους παράγοντες κινδύνου ποικίλουν στη βιβλιογραφία ανάλογα με τη μελέτη. Για παράδειγμα, στη μελέτη των Moayyeri et al [277] αναφέρεται ότι η εμμηνόπαυση, η παχυσαρκία ($\Delta\text{M}\Sigma > 30$), η μεγάλη ηλικία και η λήψη οιστρογόνων φαίνεται να συσχετίζονται με την απόκλιση στο DEXA ισχίου και ΟΜΣΣ. Αντίστοιχα αποτελέσματα αναφέρονται από τους Mounach et al [250]. Στο μοντέλο λογιστικής παλινδρόμησης των Singh et al [276] ηλικία άνω των 50 (OR: 2.60, 95% CI: 1.24-5.46), πρόωρη εμμηνόπαυση (OR: 2.94, 95% CI: 1.27-6.81), και πολλαπλές εγκυμοσύνες (OR: 2.64, 95% CI: 1.28-5.41) συσχετίστηκαν με αυξημένη πιθανότητα εμφάνισης μείζονος απόκλισης. Αντίθετα, στη μελέτη των Younes et al [281] μόνο η ηλικία εμμηνόπαυσης αναγνωρίστηκε ως παράγοντας κινδύνου για την απόκλιση (1780 ασθενείς). Η ύπαρξη προηγθέντων οστεοπορωτικών καταγμάτων έχει επίσης αναφερθεί ως παράγοντας για εμφάνιση μείζονος απόκλισης.

Ο υψηλός επιπολασμός της διαγνωστικής απόκλισης του T-score, όπως παρατηρήθηκε στη δική μας αλλά και σε άλλες μελέτες μπορεί να δημιουργήσει σημαντικά προβλήματα κατά την ερμηνεία των αποτελεσμάτων και προσέγγιση αυτών των ασθενών. Οι ιατροί πρέπει να είναι ενήμεροι για την πιθανότητα απόκλισης στο DEXA και να φροντίζουν να μετρούν την οστική πυκνότητα σε δύο σημεία του σκελετού, έτσι ώστε να αποφευχθούν λανθασμένες διαγνώσεις. Ταυτόχρονα, τα αποτελέσματα αυτά αποδεικνύουν για άλλη μία φορά τους περιορισμούς του DEXA και την ανάγκη εύρεσης ενός αλγόριθμου που να αποτελεί συνδυασμό απεικονιστικού ελέγχου,

κλινικών παραμέτρων και βιολογικών δεικτών για την ακριβή διάγνωση της οστεοπόρωσης.

1.3 Συσχέτιση οστεοπόρωσης και οστεοαρθρίτιδας ισχίου

Στόχος αυτής της υποενότητας ήταν η διερεύνηση της σχέσης οστεοαρθρίτιδας και οστεοπόρωσης, θέμα το οποίο είναι ιδιαίτερα αμφιλεγόμενο στη βιβλιογραφία. Έγινε εκτίμηση του επιπολασμού οστεοαρθρίτιδας ισχίου σε ασθενείς με οστεοπορωτικό κάταγμα ισχίου, συγκριτικά με ομάδα μαρτύρων χωρίς οστεοπόρωση ή σχετιζόμενα με αυτή κατάγματα.

Πολλαπλές μελέτες έχουν δείξει ότι η οστεοαρθρίτιδα σχετίζεται με αυξημένη μέση οστική πυκνότητα [282-285] και άρα ότι ενδεχομένως να δρα προστατευτικά έναντι της εμφάνισης οστεοπόρωσης και σχετιζόμενων με αυτή καταγμάτων ευθραυστότητας [286, 287]. Ωστόσο άλλοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι η αυξημένη οστική μάζα σε συνδυασμό με τις οστικές αλλοιώσεις που παρατηρούνται σε ασθενείς με ΟΑ δε συνεπάγεται μειωμένο καταγματικό κίνδυνο στα πλαίσια της οστεοπόρωσης [288,289]. Τα αντικρουόμενα αυτά συμπεράσματα υποδεικνύουν ότι υπάρχει μια αρκετά περίπλοκη σχέση μεταξύ οστεοπόρωσης και οστεοαρθρίτιδας η οποία μπορεί να διαφοροποιείται ανάλογα με την εντόπιση και το στάδιο της νόσου.

Προσπάθεια συσχέτισης των δύο μυοσκελετικών αυτών νοσημάτων έγινε αρχικά από τους Foss και Byers οι οποίοι ανέφεραν ότι οστεοαρθρίτιδα ισχίου ανευρίσκεται πολύ σπάνια σε ασθενείς με κατάγματα ισχίου [282]. Έκτοτε έχουν πραγματοποιηθεί πολλαπλές συγχρονικές και διαχρονικές μελέτες σε μεγάλες σειρές ασθενών προκειμένου να αξιολογηθεί η επίδραση της ΟΑ στη μέση οστική πυκνότητα σε διαφορετικές εντοπίσεις του σκελετού [290]. Συγχρονικές μελέτες συσχέτισης ακτινογραφικών ευρημάτων ΟΑ ισχίου και τιμών μέτρησης BMD του ισχίου, σπονδυλικής στήλης και του αξονικού σκελετού εξετάστηκαν στη Μελέτη Οστεοπορωτικών Καταγμάτων (Study of Osteoporotic Fractures). Γυναίκες με μέτρια έως σοβαρή οστεοαρθρίτιδα ισχίου, όπως διαπιστώθηκε από κατάλληλο ακτινολογικό έλεγχο, είχαν γενικά υψηλότερη BMD σε όλα τα μελετηθέντα σημεία του σκελετού σε σχέση με γυναίκες χωρίς οστεοαρθρίτιδα [285]. Αντίθετα στη διαχρονική μελέτη των

Ding et al διαπιστώθηκε ότι ασθενείς με OA ισχίου ή/και γόνατος έχουν σημαντικά πιο αυξημένη οστική απώλεια σε διάρκεια 2.6 ετών σε σχέση με ασθενείς χωρίς OA [291]. Επιπλέον από δεδομένα της Baltimore Longitudinal Study of Aging, φαίνεται ότι γυναίκες με OA της χειρός είχαν αυξημένη οστική απώλεια στην κερκίδα συγκριτικά με ασθενείς χωρίς OA. Καμία διαφορά στη μέση οστική πυκνότητα δεν παρατηρήθηκε σε άνδρες με OA χειρός [292]. Στη δική μας σειρά δεν παρατηρήθηκε καμία διαφορά στη μέση οστική πυκνότητα (Ασθενείς με OA: 0.805 ± 0.174 vs Ασθενείς χωρίς OA: 0.815 ± 0.204 , $p=0.865$) και T-score (Ασθενείς με OA: -2.27 ± 0.37 vs Ασθενείς χωρίς OA: -2.09 ± 1.03 , $p=0.685$) στην περιοχή του ισχίου μεταξύ ασθενών με ή χωρίς οστεοαρθρίτιδα.

Ωστόσο, ακόμα και σε περιπτώσεις όπου παρατηρήθηκε πράγματι αυξημένη BMD στα πλαίσια OA, δεν αναδείχθηκε καμία σημαντική μείωση του καταγματικού κινδύνου. Ενδεικτικά αναφέρεται η μελέτη Dubbo σε σειρά 1821 ασθενών με OA, όπου η παρουσία υψηλότερης οστικής πυκνότητας δε μεταφράστηκε σε προστασία έναντι μη σπονδυλικών οστεοπορωτικών καταγμάτων [289]. Επίσης στη μελέτη Rotterdam σε 2,773 ασθενείς, γυναίκες με αυξημένη BMD λόγω OA είχαν αυξημένη επίπτωση οστεοπορωτικών καταγμάτων σε σχέση με ασθενείς χωρίς OA. Στους άνδρες δεν παρατηρήθηκε καμία διαφοροποίηση στον καταγματικό κίνδυνο παρουσία OA [293]. **(Πίνακας 52)** Στην παρούσα μελέτη, ανάλυση των προσθιοπίσθιων ακτινογραφιών λεκάνης ισχίου ανέδειξε βέβαιη οστεοαρθρίτιδα ισχίου στο 27.8% των ασθενών με οστεοπορωτικό κάταγμα ισχίου, ποσοστό παρόμοιο με αυτό που παρατηρήθηκε στην ομάδα των μαρτύρων (33.3%, $p=0.456$). Το εύρημα αυτό υποδεικνύει ότι ο επιπολασμός της οστεοαρθρίτιδας σε ασθενείς με οστεοπόρωση δε διαφέρει σημαντικά από το επιπολασμό της νόσου στο γενικό πληθυσμό και άρα ότι η οστεοαρθρίτιδα δε φαίνεται να δρα προστατευτικά έναντι των οστεοπορωτικών καταγμάτων ισχίου.

Ως σημαντικός παράγοντας αυτής της συσχέτισης αναγνωρίστηκε η ύπαρξη αιτίων δευτεροπαθούς οστεοπόρωσης. Οστεοπορωτικοί ασθενείς με οστεοαρθρίτιδα ισχίου είχαν σημαντικά πιο αυξημένη πιθανότητα ύπαρξης ενός τουλάχιστον παράγοντα κινδύνου για εμφάνιση οστεοπόρωσης σε σχέση με οστεοπορωτικούς χωρίς οστεοαρθρίτιδα (94.3% vs. 79.1%, $p=0.04$). Διαφορές παρατηρήθηκαν και κατά τη μελέτη παραγόντων κινδύνου ξεχωριστά. Ασθενείς με οστεοαρθρίτιδα και οστεοπορωτικό κάταγμα ισχίου ήταν πιθανότερο να αναφέρουν συνυπάρχουσες

υποκείμενες ενδοκρινοπάθειες ή αυτοάνοσα νοσήματα, σακχαρώδη διαβήτη ή παρατεταμένη ακινητοποίηση συγκριτικά με οστεοπορωτικούς ασθενείς χωρίς οστεοαρθρίτιδα. Το συγκεκριμένο εύρημα υποστηρίζει την πιθανότητα το οστεοπορωτικό κάταγμα να προκλήθηκε λόγω συστηματικών αιτίων δευτεροπαθούς οστεοπόρωσης σε ασθενείς με συνύπαρξη οστεοαρθρίτιδας και οστεοπόρωσης. Δυστυχώς, κλινικά δεδομένα ήταν διαθέσιμα μόνο για την ομάδα ασθενών με οστεοπορωτικά κατάγματα και όχι για την ομάδα μαρτύρων, καθιστώντας έτσι αδύνατη την πραγματοποίηση συγκρίσεων μεταξύ πασχόντων και μαρτύρων αναφορικά με την παρουσία αιτίων δευτεροπαθούς οστεοπόρωσης. Αντίστοιχη συσχέτιση με αίτια δευτεροπαθούς οστεοπόρωσης έχει αναφερθεί και σε προηγούμενες μελέτες. Οι Franklin et al ανέφεραν τρεις φορές μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης συστηματικών αιτίων οστεοπόρωσης σε ασθενείς με οστεοπορωτικό κάταγμα και οστεοαρθρίτιδα [253]. Παρόλα αυτά δεν έγινε προσπάθεια μελέτης του κάθε παράγοντα μεμονωμένα για ανεύρεση πιθανών συσχετίσεων, πιθανώς λόγω του μικρού δείγματος της μελέτης και του χαμηλού επιπολασμού των μελετηθέντων παραγόντων κινδύνου ξεχωριστά.

Πίνακας 2. Επίδραση της Οστεοαρθρίτιδας ΟΑ στην ΟΠ ή σε οστεοπορωτικά κατάγματα		
Μελέτη	Στόχος της μελέτης	Ευρήματα
Ding et al	Συσχέτιση ακτινογραφικής εικόνας ΟΑ ισχίου και γόνατος και αλλαγής στη BMD ισχίου κατά τη διάρκεια 2,6 ετών	Ασθενείς με ακτινογραφικά ευρήματα ΟΑ ισχίου ή/και γόνατος έχουν μεγαλύτερη απώλεια οστικής πυκνότητας στο ισχίο
Study of Osteoporotic Fractures	Διερεύνηση ΟΑ σε σχέση με τον κίνδυνο εμφάνισης καταγμάτων	Σε σύγκριση με την ομάδα ελέγχου, ασθενείς με ΟΑ εμφάνισαν αυξημένο BMD, αλλά όχι σημαντικά μειωμένο καταγματικό κίνδυνο.
Dubbo Osteoporosis Epidemiology Study	Σχέση μεταξύ αυτό-αναφερόμενης ΟΑ, BMD, στάση του σώματος και καταγμάτων μη-τραυματικής αιτιολογίας.	Υψηλότερη BMD τόσο στον αυχένα του ισχίου όσο και στην σπονδυλική στήλη. Η ΟΑ δεν επηρέασε τον κίνδυνο εμφάνισης κατάγματος.
Μελέτη Rotterdam	Συσχέτιση μεταξύ υπάρχουσας ΟΑ του γόνατος και της εμφάνισης σπονδυλικών και μη σπονδυλικών καταγμάτων.	Ακτινογραφική εικόνα ΟΑ του γόνατος σχετιζόταν με αυξημένο κίνδυνο εμφάνισης σπονδυλικών και μη σπονδυλικών καταγμάτων, ανεξαρτήτως του BMD.

Συμπερασματικά η μελέτη μας δείχνει ότι η παρουσία οστεοαρθρίτιδας ισχίου δε σχετίζεται με αυξημένες τιμές μέσης οστικής πυκνότητας στο ισχίο, ούτε και δρα προστατευτικά έναντι της εμφάνισης οστεοπορωτικών καταγμάτων. Οστεοαρθρίτιδα ισχίου και οστεοπορωτικά κατάγματα ισχίου μπορούν να συνυπάρχουν. Επομένως, ασθενείς με οστεοαρθρίτιδα δεν πρέπει να θεωρούνται μειωμένου κινδύνου για εμφάνιση οστεοπόρωσης, αλλά να υπόκεινται κανονικά σε κατάλληλο προσυμπτωματικό έλεγχο διαλογής για έγκαιρη διάγνωση και αντιμετώπιση της οστεοπόρωσης.

2. Γονιδιακή ανάλυση

Τα τελευταία χρόνια το ενδιαφέρον στρέφεται προς το γενετικό υπόβαθρο της οστεοπόρωσης και την ανεύρεση μοριακών δεικτών που θα μπορούσαν να προβλέψουν τον καταγματικό κίνδυνο και την πιθανότητα εμφάνισης οστεοπόρωσης. Μελέτες έχουν δείξει ότι γενετικοί παράγοντες καθορίζουν τη διακύμανση της οστικής πυκνότητας σε ποσοστό 50% έως 70%, καθώς και την αρχιτεκτονική του οστίτη ιστού και την επιρρέπεια σε κατάγματα ευθραυστότητας. Μέχρι σήμερα έχουν αναγνωρισθεί τουλάχιστον 66 γενετικοί τόποι που σχετίζονται με τη ρύθμιση της μέσης οστικής πυκνότητας και το ρόλο τους στην εμφάνιση της οστεοπόρωσης [164].

Στην παρούσα μελέτη αποφασίστηκε η μελέτη γονιδίων που εμπλέκονται στα σηματοδοτικά μονοπάτια TGF- β /BMP και Wnt/ β -κατενίνης, λόγω της μεγάλης σημασίας τους στην οστεογένεση και οστικής αναδόμησης, αλλά και της μεταξύ τους αλληλεπίδρασης (**Εικόνα 57**). Συγκεκριμένα μελετήθηκαν οι πολυμορφισμοί των γονιδίων CER1 και DKK1 και τα επίπεδα έκφρασης του RUNX2 καθώς και η πιθανή συσχέτισή τους με σχετιζόμενες με την οστεοπόρωση κλινικές παραμέτρους, οστική μάζα και δείκτες οστικού μεταβολισμού στον ορό.

Το κανονικό μονοπάτι του Wnt παίζει καθοριστικό ρόλο στη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών από οστεοπρογονικά κύτταρα μέσω ενεργοποίησης της έκφρασης του RUNX2. Συμμετέχει τόσο στη διαδικασία ανάπτυξης του σκελετού κατά την εμβρυογένεση, όσο και στον οστικό μεταβολισμό και διατήρηση της ομοιοστασίας του οστίτη ιστού μετά τη γέννηση και καθόλη τη διάρκεια της ενηλίκου ζωής [294]. Πρόσφατες μελέτες έχουν αναγνωρίσει επίσης την εμπλοκή του Wnt στην οστεοπόρωση και τη γήρανση [295, 296]. Μεταλλάξεις που οδηγούν σε απώλεια της λειτουργίας του υποδοχέα του Wnt LRP5 προκαλούν εμφάνιση μειωμένης οστικής πυκνότητας, ενώ πολυμορφισμοί του LRP5 έχουν συσχετισθεί με κίνδυνο εμφάνισης καταγμάτων [297]. Το γονίδιο DKK1 αποτελεί ανταγωνιστή του κανονικού σηματοδοτικού μονοπατιού του Wnt και δρα μέσω αναστολής της αλληλεπίδρασης του Wnt με τον υποδοχέα του LRP5/6, διακόπτοντας έτσι την ενδοκυττάρια σηματοδότηση του μονοπατιού. Ο Dkk1 έχει αναγνωρισθεί ως αρνητικός ρυθμιστής της οστικής μάζας.

Ανευπλοειδία σε επίμυες (*Dkk1^{+/−}*) μπορεί να οδηγήσει σε φαινότυπο αυξημένης οστικής μάζας μέσω αυξημένης οστικής παραγωγής [298]. Αντίθετα, υπερέκφραση του *Dkk1* σε οστεοβλάστες και οστεοπρογονικά κύτταρα σχετίζεται με οστεοπενία [299,300].

Στη συγκεκριμένη διατριβή μελετήθηκαν 3 πολυμορφισμοί του *DKK1* (c.406+282

Εικόνα 57. Αλληλεπίδραση μεταξύ σηματοδοτικών μονοπατιών TGF-β/BMP και Wnt στην οστεογένεση και ρύθμιση της οστικής μάζας. Και τα δύο μονοπάτια επάγουν τη διαφοροποίηση και ωρίμανση των οστεοβλαστών μέσω ενεργοποίησης του μεταγραφικού παράγοντα RUNX2. Σηματοδότηση μέσω του υποδοχέα BMPRIA επάγει την έκφραση σκληροστίνης (μέσω εξαρτώμενης από Smad σηματοδότησης) και του *DKK1* (μέσω εξαρτώμενης και ανεξάρτητης από Smad σηματοδότησης). Και οι δύο αυτοί παράγοντες καθώς και ο *CER1* (δεν απεικονίζεται) δρουν ανασταλτικά στο κανονικό μονοπάτι του Wnt, οδηγώντας σε μείωση της οστικής μάζας. P: φωσφορυλίωση; Ub: ουβικιτινίωση. (Τροποποιημένη εικόνα από Chen et al, Int J Biol Sci. 2012)

T>C, c.406+395 T>C και c.548-43A>G) για την πιθανή συσχέτισή τους με τη μέση οστική πυκνότητα και την εμφάνιση οστεοπόρωσης, σε συνάρτηση με συνυπάρχουσες κλινικές οντότητες. Ωστόσο, αναλύσεις στο υπό μελέτη δείγμα ασθενών δεν ανέδειξε καμία διαφοροποίηση μεταξύ πασχόντων και μαρτύρων και καμία συσχέτιση μεταξύ των πολυμορφισμών του DKK1 και της οστικής πυκνότητας καθώς και του κινδύνου εμφάνισης οστεοπορωτικών καταγμάτων (σπονδυλικά, ισχίου και μη σπονδυλικά). Επίσης καμία κλινική παράμετρος (μεμονωμένα ή συγκεντρωτικά μέσω FRAX score) και βιοχημικός δείκτης οστικού μεταβολισμού δε φάνηκε να διαφοροποιείται μεταξύ ασθενών με διαφορετικούς γονότυπους των μελετηθέντων πολυμορφισμών. Προηγούμενες μελέτες έχουν επίσης διερευνήσει το ρόλο πολυμορφισμών του DKK1 στη ρύθμιση της οστικής μάζας, με ποικίλα συμπεράσματα [178, 301-303]. Οι Ralston et al [303] πρότειναν συσχέτιση της περιοχής 10q21 του γονιδίου DKK1 με την BMD σε άνδρες <50 ετών. Ωστόσο καμία συσχέτιση δεν παρατηρήθηκε στην ίδια μελέτη όταν στην ανάλυση συμπεριλήφθηκαν γυναίκες και άνδρες διαφόρων ηλικιακών ομάδων. Παρόμοια με τη δική μας μελέτη, οι Piters et al [302] δεν ανέδειξαν καμία επίδραση τριών SNPs του DKK1 στην BMD και βιοχημικούς δείκτες οστικού μεταβολισμού. Παρά το γεγονός ότι πολυμορφισμοί του DKK1 έχουν μελετηθεί στο παρελθόν σε συνάρτηση με την BMD, η συγκεκριμένη μελέτη αποτελεί την πρώτη προσπάθεια συνδυασμένης ανάλυσης των πολυμορφισμών του DKK1 με κλινικές παραμέτρους, BMD, βιολογικών δεικτών και επιπέδων έκφρασης RUNX2.

Στη συνέχεια μελετήθηκε ένα άλλο γονίδιο το οποίο εμπλέκεται στο άλλο σημαντικό για την οστεογένεση σηματοδοτικό μονοπάτι, το μονοπάτι του TGF-β/BMP. Η υπεροικογένεια του TGF-β αποτελείται ουσιαστικά από μια μεγάλη ομάδα εκκρινόμενων παραγόντων που ρυθμίζουν πληθώρα βιολογικών διεργασιών. Τα σημαντικότερα μέλη του μονοπατιού είναι οι υποομάδες των TGF-β, οι ακτιβίνες και οι BMPs. Στο οστό οι BMPs συμμετέχουν στην οστική αναδόμηση και διατήρηση της οστικής μάζας, μέσω ενεργοποίησης της διαφοροποίησης των μεσεγχυματικών κυττάρων του μυελού των οστών προς την οστεοβλαστική σειρά. Η λειτουργία των BMPs ρυθμίζεται αυστηρά σε διάφορα στάδια και με διάφορους μηχανισμούς. Ο Cerberus 1 (CER1), μέλος της οικογένειας του DAN, συμμετέχει στη ρύθμιση αυτή προσδένοντας τις BMPs με υψηλή συγγένεια και εμποδίζοντας την αλληλεπίδρασή τους με τους υποδοχείς τους

(εξωκυττάριος ανταγωνιστής). Ο CER1 αποτελεί επίσης ανταγωνιστή της κυτταροκίνης Nodal (υπεροικογένεια TGF-β), αλλά και του μονοπατιού των Wnt [302]. Λόγω, λοιπόν, της εμπλοκής του στα δύο σημαντικότερα σηματοδοτικά μονοπάτια, που ρυθμίζουν την οστεογένεση (TGF-β και Wnt), ο CER1 επιλέχθηκε για μελέτη της πιθανής εμπλοκής του στην παθογένεια της οστεοπόρωσης.

Συγκρίσεις μεταξύ πασχόντων και μαρτύρων ανέδειξαν διαφοροποίηση σε 3 πολυμορφισμούς του γονιδίου CER1, που περιγράφηκαν πρώτη φορά στον Ελληνικό πληθυσμό από τους Koromila et al [257]. Συγκεκριμένα ασθενείς με οστεοπόρωση είχαν μεγαλύτερη πιθανότητα εμφάνισης των παθολογικών αλληλόμορφων (σε ετεροζυγωτία ή ομοζυγωτία) στις θέσεις c.507+506G>T, c.531A>G και c.*121T>C σε σχέση με τους μάρτυρες ($p<0.05$). Ωστόσο δε διαπιστώθηκε διαφοροποίηση της συχνότητας εμφάνισης διαφορετικών αλληλομόρφων των πολυμορφισμών c.194C>G και c.508-182A>G. Κατά τη συσχέτιση με βιοχημικούς δείκτες οστικού μεταβολισμού σε οστεοπορωτικούς ασθενείς, η παρουσία του παθολογικού γονότυπου των πολυμορφισμών του CER1 φάνηκε να συσχετίζεται με υψηλότερα επίπεδα οστεοκαλσίνης στον ορό. Η οστεοκαλσίνη είναι μια πρωτεΐνη που παράγεται από τις οστεοβλάστες κατά τη διάρκεια της φάσης οστικής παραγωγής της διαδικασίας οστικής αναδόμησης. Η χρήση της ως δείκτη οστικού μεταβολισμού σε μελέτες οστεοπορωτικών ασθενών είναι καλά τεκμηριωμένη στη βιβλιογραφία. Τα συμπεράσματά μας όσον αφορά τα επίπεδα της οστεοκαλσίνης συνάδουν με αναφορές άλλων ερευνητικών μελετών που έδειξαν σημαντική αύξηση των τιμών οστεοκαλσίνης στον ορό ασθενών με οστεοπενία ή μετεμμηνοπαυσιακή οστεοπόρωση.

Επίσης, παρατηρήθηκε σημαντική συσχέτιση οστεοπορωτικών καταγμάτων (οποιασδήποτε εντόπισης) με τους πολυμορφισμούς c.194C>G και c.507+506G>T, καταγμάτων ισχίου με τον πολυμορφισμό c.507+506G>T και καταγμάτων ΠΧΚ με τον πολυμορφισμό c.531A>G, ευρήματα που συμφωνούν με προηγούμενες αναφορές σχετικά με αυξημένο κίνδυνο καταγμάτων σε ασθενείς με παθολογικούς γονότυπους του CER1 [257, 305].

Θα πρέπει επίσης να σημειωθεί ότι η ύπαρξη ενός τουλάχιστον παράγοντα κινδύνου για οστεοπόρωση ήταν σταθερά συχνότερη στους ασθενείς με το φυσιολογικό

αλληλόμορφο σε σχέση με τους ασθενείς με παθολογικό γονότυπο για όλους τους πολυμορφισμούς του CER1. Η παρατήρηση αυτή είναι ιδιαίτερα σημαντική καθώς εξηγεί εν μέρει το γεγονός της εμφάνισης οστεοπόρωσης απουσία του παθολογικού γονότυπου των πολυμορφισμών του CER1. Το συγκεκριμένο εύρημα υποστηρίζει την υπόθεση για πολυπαραγοντικό χαρακτήρα της οστεοπόρωσης, όπου γονιδιακοί παράγοντες και κλινικές οντότητες δρουν συνδιαστικά για εμφάνιση ή όχι της νόσου. Τέλος, να αναφερθεί ότι η περαιτέρω ανάλυση και σύγκριση των παραγόντων κινδύνου μεμονωμένα, δεν οδήγησε σε ασφαλή συμπεράσματα, λόγω του μικρού αριθμού δειγμάτων ανα κατηγορία και του μεγάλου αριθμού πολυμορφισμών που μελετήθηκαν.

Τέλος μελετήθηκε το τελικό γονίδιο-στόχος των μονοπατιών TGF- β και Wnt κατά τη διαδικασία οστεογένεσης, ο RUNX2. Ο RUNX2 (runt domain transcription factor family) είναι ένα μεταγραφικός παράγοντας που παίζει καθοριστικό ρόλο στην οστεογένεση λόγω της δράσης του στη ρύθμιση της διαφοροποίησης των οστεοβλαστών [306]. Με την ενεργοποίηση του Runx2 τα μεσεγχυματικά κύτταρα διαφοροποιούνται σε προ-οστεοβλάστες. Ακολουθεί περαιτέρω ωρίμανση και διαφοροποίηση, με κύρια στάδια αυτά του πολλαπλασιασμού, ωρίμανσης θεμέλιας ουσίας και εφάλατωσης, έως το στάδιο των ώριμων οστεοβλαστών. Μεταλλάξεις στο γονίδιο RUNX2 προκαλούν κλειδοκρανική δυσπλασία, μια ανωμαλία ανάπτυξης του σκελετού που χαρακτηρίζεται από βραχύ ανάστημα, απλασία κλειδών αμφοτερόπλευρα, προέχουσες πηγές και επιπρόσθετα δόντια [307]. Σε πειράματα με RUNX2 knockout ποντίκια έχει παρατηρηθεί παντελής απουσία οστεοβλαστών [308]. Σε ετερόζυγα knockouts παρατηρούνται ανωμαλίες χαρακτηριστικές της κλειδοκρανικής δυσπλασίας.

Κατά τη μελέτη της έκφραση του γονιδίων RUNX-2 στη δική μας σειρά ασθενών, παρατηρηθήκε διαφοροποίηση της έκφρασης μεταξύ οστεοπορωτικών και μαρτύρων. Συγκεκριμένα, στα δείγματα περιφερικού αίματος παρατηρήθηκε υπερέκφραση του RUNX2 στους οστεοπορωτικούς σε σχέση με τους μάρτυρες (1.27 ± 0.92 vs 0.85 ± 0.05 , $p < 0.001$). Διαφορά παρατηρήθηκε επίσης στην έκφραση και μεταξύ δειγμάτων περιφερικού αίματος και οστικών τεμαχίων στην ομάδα των οστεοπορωτικών ασθενών, με υπερέκφραση του RUNX2 στο οστό.

Τα αποτελέσματα αυτά μπορεί να φαίνονται εκ πρώτης όψεως μη αναμενόμενα, αλλά αντίστοιχα μοτίβα έκφρασης του RUNX2 έχουν αναφερθεί σε προηγούμενες μελέτες σε πειραματόζωα, αν και ο ακριβής μηχανισμός με τον οποίο η υπερέκφραση του RUNX2 εμπλέκεται στη μείωση της οστικής μάζας δεν είναι ακόμα πλήρως κατανοητός. Στη μελέτη των Liu et al, διαγονιδιακοί επίμυες που υπερέκφραζαν τον RUNX2 παρουσίασαν οστεοπενία και πολλαπλά κατάγματα [310]. Ο σπογγώδης οστίτης ιστός διατηρήθηκε γενικά σε φυσιολογικά επίπεδα, ενώ ο συμπαγής οστίτης ιστός ήταν πλούσιος σε οστεοκλάστες και σημαντικά μειωμένος σε μάζα. Παρά το γεγονός ότι παρατηρήθηκε αυξημένος αριθμός πρώιμων μορφών οστεοβλαστών, η λειτουργικότητά τους αναφορικά με την παραγωγή θεμέλιας ουσίας και εφάλατωσης του οστού ήταν περιορισμένη. Επιπλέον, οι πληθυσμοί των ώριμων οστεοβλαστών και οστεοκυττάρων ήταν σημαντικά μειωμένοι [310]. Τα δεδομένα αυτά δείχνουν ότι ο RUNX2 αναστέλει την ωρίμανση των οστεοβλαστών στα τελικά στάδια της διαδικασίας. Σε άλλη αντίστοιχη πειραματική μελέτη υπερέκφραση του RUNX2 οδήγησε επίσης σε προοδευτική οστεοπενία και ανέδειξε το ρόλο του παράγοντα αυτού όχι μόνο στη διαδικασία οστικής παραγωγής, αλλά επίσης και της οστεοκλαστογένεσης και οστικής απορρόφησης [311].

Σε οστικά τεμάχια οστεοπορωτικών ασθενών, η πρόωρη εμμηνόπαυση συσχετίστηκε με υποέκφραση του RUNX2 ($p=0.031$). Η παρατήρηση αυτή είναι αναμενόμενη· μελέτες *in vivo* και *in vitro* έχουν δείξει ότι τα οιστρογόνα εμπλέκονται στις διαδικασίες ωρίμανσης των οστεοβλαστών και αυξάνουν τη μεταγραφή του RUNX2 με δόσοεξαρτώμενο τρόπο [312]. Η δράση τους στα επίπεδα του RUNX2 έχει συνδεθεί με την αλληλεπίδρασή τους με τους υποδοχείς E α [312] και την αύξηση του αριθμού των κυττάρων που εκφράζουν RUNX2 [313]. Ιστορικά κι άλλες στεροειδείς ορμόνες φαίνεται να εμπλέκονται στη ρύθμιση της έκφρασης του. Συγκεκριμένα, έκθεση σε αυξημένα επίπεδα γλυκοκορτικοειδών *in vitro* οδηγεί σε ταχεία ελάττωση του λειτουργικού RUNX2, με συνοδό αναστολή της έκφρασης των γονιδίων που ρυθμίζονται από τον RUNX2 [314, 315]. Ωστόσο, στη δική μας σειρά δεν παρατηρήθηκε διαφορά στα επίπεδα έκφρασης του RUNX2 μεταξύ οστεοπορωτικών ασθενών που έλαβαν ή όχι κορτικοστεροειδή τόσο στο αίμα (1.26 ± 0.1 vs 1.27 ± 0.09 , $p=0.824$) όσο και στα δείγματα οστού (1.42 ± 0.01 vs 1.37 ± 0.15 , $p=0.425$). Η υπόθεση μας είναι ότι το

συγκεκριμένο αποτέλεσμα αποτελεί σφάλμα τύπου II και οφείλεται στο μικρό αριθμό ασθενών με ιστορικό έκθεσης σε κορτικοστεροειδή (N=6 για τα δείγματα αίματος, N=2 για τα δείγματα οστού) σε σύγκριση με τη συντριπτική πλειοψηφία των ασθενών που δεν λάμβαναν κορτικοστεροειδή.

Οι άλλοι κλινικοί παράγοντες από το ιστορικό δεν επηρέασαν τα επίπεδα έκφρασης του υπό μελέτη γονιδίου. Τέλος, η ύπαρξη οστεοπορωτικών καταγμάτων οποιασδήποτε εντόπισης (ισχίου, σπονδυλικής στήλης, ΠΧΚ ή άλλων) δε φάνηκε να επηρεάζει τα επίπεδα έκφρασης του RUNX2 στο περιφερικό αίμα ασθενών με οστεοπόρωση. Αντίθετα, στα δείγματα οστίτη ιστού παρατηρήθηκε υποέκφραση του RUNX2 σε ασθενείς με κατάγματα ΠΧΚ σε σύγκριση με ασθενείς που δεν παρουσίασαν αντίστοιχο κάταγμα.

Κατά τη μελέτη των επιπέδων έκφρασης του RUNX2 σε δείγματα αίματος και οστίτη ιστό οστεοπορωτικών ασθενών σε συνάρτηση με τη λήψη αντιοστεοπορωτικής θεραπείας (συμπληρώματα ασβεστίου/βιταμίνης D, διφωσφονικά και καλσιτονίνη), δεν παρατηρήθηκε καμία διαφορά στην έκφραση του υπό μελέτη γονιδίου. Στη βιβλιογραφία υπάρχουν μικτές αναφορές σχετικά με την επίδραση των διφωσφονικών στην έκφραση του RUNX. Αρχικές μελέτες αναφέρουν αυξημένο πολλαπλασιασμό και διαφοροποίηση των οστεοβλαστών μετά από θεραπεία με διφωσφονικά [316], με τα αποτελέσματα να εξαρτώνται από το είδος του διφωσφονικού και την κυτταρική σειρά [317]. Αντίθετα, πρόσφατες μελέτες σε κυτταροκαλλιέργειες έδειξαν μειωμένη έκφραση των Runx2, ALP, Col-I, OSX και OSC μετά από θεραπεία με διφωσφονικά [318]. Ωστόσο η μείωση αυτή αποδείχθηκε στατιστικά σημαντική μόνο για συγκεκριμένους παράγοντες και σε συγκεκριμένες συγκεντρώσεις. Για παράδειγμα καμία διαφορά δεν παρατηρήθηκε σε καλλιέργειες ανθρώπινων οστεοβλαστών όταν χρησιμοποιήθηκε ζολενδρονικό ή αλενδρονάτη σε δόσεις 10^{-5} M. Οι Peris et al υποστηρίζουν ότι θεραπεία διφωσφονικών σε υγιείς μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες οδηγεί σε μείωση της έκφρασης των γονιδίων που σχετίζονται με την οστεογένεση, συμπεριλαμβανομένου του RUNX2 [319]. Ωστόσο η μελέτη αυτή δεν επεκτάθηκε σε ομάδες οστεοπορωτικών ασθενών και έτσι τα συμπεράσματά τους δεν μπορούν να γενικευτούν. Στη δική μας μελέτη η ανάλυση των

επιπέδων RUNX2 σε σχέση με τη χρήση διφωσφονικών αφορούσε μόνο οστεοπορωτικούς ασθενείς.

Η χορήγηση τεριπαρατίδης έχει επίσης συσχετισθεί με αλλαγή στα επίπεδα έκφρασης του RUNX2. Στη μελέτη των Zhu et al σε οστεοπορωτικές γυναίκες, ημερήσια πρόσληψη 20μg rhPTH για 6 μήνες οδήγησε σε υποέκφραση των επιπέδων Runx2 στον ορό [320]. Αντίστοιχα συμπεράσματα αναφέρθηκαν και σε μια Ελληνική μη τυχαιοποιημένη, κλινική μελέτη παρατήρησης από τους Anastasilakis AD et al με υποέκφραση του RUNX2 αλλά και του DKK-1 μετά από 3 μήνες και 12 μήνες θεραπείας με τεριπαρατίδη αντίστοιχα [321]. Δυστυχώς, στην παρούσα μελέτη δεν κατέστη δυνατή η ανάλυση της επίδρασης της παραθορμόνης, του στρόντιου και της ραλοξιφαίνης στα επίπεδα έκφρασης του RUNX2 λόγω της χαμηλής τους συχνότητας στο δείγμα των ασθενών.

Από τη στατιστική ανάλυση προέκυψε επίσης συσχέτιση μεταξύ του πολυμορφισμού c.*121T>C του γονιδίου CER1 και της έκφρασης RUNX2. Συγκεκριμένα, η ύπαρξη παθολογικού αλληλόμορφου του c.*121T>C σχετίσθηκε με υπερέκφραση του RUNX2 (1.31 ± 0.09 vs 1.26 ± 0.09 , $p=0.036$). Παρατηρήθηκε επίσης υπερέκφραση του RUNX2 σε συνάρτηση με τον παθολογικό γονότυπο του πολυμορφισμού c.548-43 A>G του DKK1 (1.31 ± 0.09 vs 1.25 ± 0.1 , $p=0.041$). Τα ευρήματα αυτά υποστηρίζουν την αλληλεπίδραση μεταξύ των σηματοδοτικών μονοπατιών TGF- β /BMP και Wnt με τον παράγοντα RUNX2 σε δείγματα περιφερικού αίματος οστεοπορωτικών ασθενών. Από όσο γνωρίζουμε η συγκεκριμένη μελέτη αποτελεί την πρώτη προσπάθεια συσχέτισης των επιπέδων έκφρασης του RUNX2 με πολυμορφισμούς γονιδίων που φαίνεται να εμπλέκονται στη ρύθμιση της οστικής μάζας και στην παθογένεση της οστεοπόρωσης.

Τέλος, έγινε ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης σε 4 γονίδια που επίσης εμπλέκονται στο σηματοδοτικό μονοπάτι του TGF, ονομαστικά των FST, ITGB5, SOX-4 και SMAD1. Ο FST είναι το γονίδιο που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη φολιστατίνη, η οποία συνδέεται με παράγοντες του μονοπατιού του TGF β και ανστέλει τη λειτουργία τους. Ο ITGB5 (integrin subunit beta 5) εμπλέκεται στην αλληλεπίδραση των κυττάρων μεταξύ τους αλλά και με τη μεσοκυττάρια θεμέλια ουσία. Ο SOX-4 (SRY-related HMG-box) είναι

ένας μεταγραφικός παράγοντας που επηρεάζει τη διαφοροποίηση πολλών τύπων κυττάρων. Κατά την οστεογένεση συμμετέχει στη δημιουργία του χόνδρινου υπόβαθρου του οστού, πριν εμπλακεί ο SOX9. Μελέτες σε οστεοπορωτικούς ασθενείς έχουν αναδείξει πιθανή συσχέτιση του SOX4 με τη ρύθμιση της οστικής μάζας. Τέλος ο SMAD1 εμπλέκεται στη σηματοδότηση του TGF- β και την αλληλεπίδρασή του με το μονοπάτι του Wnt.

Ανάλυση της έκφρασης των εν λόγω γονιδίων στη μελέτη μας ανέδειξε μια τάση διαφοροποίησης μεταξύ οστεοπορωτικών ασθενών και μαρτύρων καθώς και μεταξύ δειγμάτων αίματος και οστίτη ιστού, χωρίς όμως να φτάσει στατιστικά σημαντικά επίπεδα. Επιπλέον, η περαιτέρω ανάλυση και σύγκριση σε συνάρτηση με κλινικούς παράγοντες που συζητήθηκαν πιο πάνω, δεν οδήγησε σε ασφαλή συμπεράσματα, λόγω του μικρού αριθμού δειγμάτων ανα κατηγορία και του μεγάλου αριθμού παραμέτρων που μελετήθηκαν. Απαιτείται λοιπόν περαιτέρω διερεύνηση της εν λόγω έκφρασης και πιθανής συσχέτισης με την οστική μάζα και οστεοπόρωση σε μεγαλύτερο αριθμό δειγμάτων.

3. Συμπεράσματα

Στην παρούσα μελέτη παρέχονται συμπεράσματα ανάλυσης πληθώρας κλινικών παραμέτρων σε ομάδες ασθενών με οστεοπόρωση ή/και οστεοπορωτικά κατάγματα, καθώς και μελέτης του γενετικού προφίλ των οστεοπορωτικών ασθενών. Οι κλινικοί παράγοντες αφορούσαν όλα τα δημογραφικά χαρακτηριστικά και κλινικές οντότητες που έχουν συσχετισθεί ιστορικά με την οστεοπόρωση και μελετήθηκαν είτε μεμονωμένα είτε ως σύνολο μέσω υπολογισμού του FRAX score. Στην ανάλυση προστέθηκαν δεδομένα μετρήσεων οστικής πυκνότητας με DEXA καθώς και βιοχημικοί δείκτες οστικού μεταβολισμού. Η γονιδιακή ανάλυση επικεντρώθηκε σε 2 σηματοδοτικά μονοπάτια που ρυθμίζουν τις διαδικασίες οστεογένεσης και διατήρησης της ομοιοστασίας του οστού, το μονοπάτι του TGF- β /BMP και το κανονικό μονοπάτι του Wnt, καθώς και σε ένα από τα τελικά γονίδια στόχους τους, τον RUNX2.

Συνοπτικά, συγκεκριμένοι πολυμορφισμοί του CER1 φάνηκε να διαφέρουν σημαντικά μεταξύ οστεοπορωτικών ασθενών και μαρτύρων. Διαφορές παρατηρήθηκαν επίσης κατά τη μελέτη της έκφραση του γονιδίου RUNX-2 μεταξύ οστεοπορωτικών ασθενών και μαρτύρων και μεταξύ δειγμάτων αίματος και οστίτη ιστού οστεοπορωτικών. Η παρουσία πολυμορφισμών και οι αλλαγές στα επίπεδα έκφρασης φάνηκε να σχετίζεται με παρουσία κλινικών παραγόντων δευτεροπαθούς οστεοπόρωσης και αυξημένο καταγματικό κίνδυνο (για συγκεκριμένους τύπους καταγμάτων), όπως αναφέρθηκε αναλυτικά και παραπάνω.

Η παρούσα διατριβή προσεγγίζει την οστεοπόρωση ως πολυπαραγοντική νόσο και παρέχει τη δυνατότητα εμπειριστατωμένης μελέτης και καλύτερη κατανόηση των κλινικών παραγόντων κινδύνου και του γενετικού προφίλ των οστεοπορωτικών ασθενών. Τα δεδομένα που προέκυψαν θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως υπόβαθρο για ανάπτυξη τεχνικών εξατομικευμένης και ακριβέστερης διάγνωσης και πρόβλεψης του κινδύνου εμφάνισης καταγμάτων μέσω της συνδυασμένης χρήσης στοιχείων από το ιστορικό των ασθενών, δεδομένων μέτρησης BMD, ειδικών βιολογικών δεικτών οστικού μεταβολισμού στο αίμα και δεδομένων από το γενετικό έλεγχο του κάθε ασθενούς.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Richard Snell. Introduction. In: Clinical Anatomy for Medical Students. 3rd edition. Little, Brown and Company. Boston, 1986. Pages 1-49. ISBN 13: 9780316802178
2. Clarke B. Normal bone anatomy and physiology. Clin J Am Soc Nephrol. 2008;3 Suppl 3:S131-9.
3. Jon C. Thompson. Chapter 1-Basic Science. In: Netter's Concise Orthopaedic Anatomy E-Book, Second Edition. Philadelphia, 2010 by Saunders, an imprint of Elsevier Inc. ISBN: 978-1-4160-5987-5
4. Cooper RR, Milgram JW, Robinson RA. Morphology of the Osteon: An Electron Microscopic Study. J Bone Joint Surg Am. 1966;48(7):1239-1271.
5. Musculoskeletal system. In: Gray's Anatomy, 39th Ed., edited by Standring S, New York, Elsevier, 2004. Pages 83 –135
6. Bone Structure – Anatomy and Physiology - BC Open Textbooks. Chapter 6. Bone Tissue and the Skeletal System. <https://opentextbc.ca/anatomyandphysiology/chapter/6-3-bone-structure/>
7. Steiniche T. Normal Structure and Function of Bone. In: Handbook of Histology Methods for Bone and Cartilage. An, Yuehuei H., Martin, Kylie L. (Eds.) New York, Humana Press, 2003. Pages 59-72. ISBN 978-1-59259-417-7.
8. Leslie P. Gartner and James L. Hiatt. Chapter 7-Cartilage and Bone. In Color Textbook of Histology (Second Edition). W.B. Saunders Company, Philadelphia, 2001, Pages 147-169. ISBN-13: 978-0721688060
9. Tracy Jones. Bone Matrix. Orthobullets. <https://www.orthobullets.com/basic-science/9003/bone-matrix>
10. Adele L. Boskey and Pamela Gehron Robey. Chapter 11 - The Regulatory Role of Matrix Proteins in Mineralization of Bone, In Osteoporosis (Fourth Edition), edited by Robert Marcus, David Feldman, David W. Dempster, Marjorie Luckey and Jane A. Cauley, Academic Press, San Diego, 2013, Pages 235-255, ISBN 9780124158535, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415853-5.00011-X>.

11. Eyre DR, Weis MA. Bone collagen: new clues to its mineralization mechanism from recessive osteogenesis imperfecta. *Calcif Tissue Int.* 2013;93(4):338-47. doi: 10.1007/s00223-013-9723-9.
12. Marlowe AE, Yingling YG. The Effect of Genetic Mutations on Structural and Mechanical Properties of Collagen: Molecular Dynamics Simulations. *Biophysical Journal*, 2010; 98 (3): 568a
13. Vetter U, Weis MA, Mörike M, Eanes ED, Eyre DR. Collagen crosslinks and mineral crystallinity in bone of patients with osteogenesis imperfecta. *J Bone Miner Res.* 1993;8(2):133-137.
14. Pamela Gehron Robey, Chapter 17 - Noncollagenous Bone Matrix Proteins, In *Principles of Bone Biology (Third Edition)*, edited by John P. Bilezikian, Lawrence G. Raisz and T. John Martin, Academic Press, San Diego, 2008, Pages 335-349, ISBN 9780123738844, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-373884-4.00036-7>
15. Walsh William R. Cell Structure and Biology of Bone and Cartilage. In: *Handbook of Histology Methods for Bone and Cartilage*. An, Yuehuei H., Martin, Kylie L. (Eds.) New York, Humana Press, 2003. Pages 35-58. ISBN 978-1-59259-417-7.
16. Lowe JS, Anderson PG. Musculoskeletal System. In *Human Histology (Fourth Edition)*, Stevens & Lowe (Eds), Philadelphia, Elsevier Mosby Ltd, 2015. Pages 239-262. ISBN: 9780723435020
17. Jensen ED, Gopalakrishnan R, Westendorf JJ. Regulation of gene expression in osteoblasts. *Biofactors.* 2010;36(1):25–32.
18. Rutkovskiy A, Stenslækken KO, Vaage IJ. Osteoblast Differentiation at a Glance. *Med Sci Monit Basic Res.* 2016; 22: 95–106.
19. Via AG, Frizziero A, Oliva F. Biological properties of mesenchymal Stem Cells from different sources. *Muscles Ligaments Tendons J.* 2012;2(3):154-62.
20. Long F. Building strong bones: Molecular regulation of the osteoblast lineage. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012; 13(1): 27–38
21. Signaling and transcriptional regulation in osteoblast commitment and differentiation. *Front Biosci.* 2013; 12: 3068–3092

22. He X*, Bougioukli S*, Ortega B, Arevalo E, Lieberman JR, McMahon AP. Sox9 positive periosteal cells in fracture repair of the adult mammalian long bone. *Bone*. 2017;103:12-19.
23. Crockett JC, Rogers MJ, Coxon FP, Hocking LJ, Helfrich MH. Bone remodeling at a glance. *J Cell Sci*. 2011;124(Pt 7):991-998. doi: 10.1242/jcs.063032.
24. Tatsumi S, Ishii K, Amizuka N, et al. Targeted ablation of osteocytes induces osteoporosis with defective mechanotransduction. *Cell Metab*. 2007; 5: 464-475.
25. Rochefort GY, Pallu S, Benhamou CL. Osteocyte: the unrecognised side of bone tissue. *Osteoporos Int*. 2010; 21: 1457-1469.
26. Crockett JC, Mellis DJ, Scott DI, Helfrich MH. New knowledge on critical osteoclast formation and activation pathways from study of rare genetic diseases of osteoclasts: focus on the RANK/RANKL axis. *Osteoporos Int*. 2011; 1: 1-20.
27. Leibbrandt A, Penninger JM. RANK/RANKL: regulators of immune responses and bone physiology. *Ann NY Acad Sci*. 2008; 1143: 123-150.
28. NIH Consensus Development Panel on Optimal Calcium Intake. NIH Consensus conference. Optimal calcium intake. *JAMA*. 1994;272(24):1942-1948.
29. Institute of Medicine (US) Committee to Review Dietary Reference Intakes for Vitamin D and Calcium; Ross AC, Taylor CL, Yaktine AL, et al., editors. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. Washington (DC): National Academies Press (US); 2011. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK56070/> doi: 10.17226/13050
30. John T. Potts, Jr., Harald Jüppner. Disorders of the Parathyroid Gland and Calcium Homeostasis. In: Kasper, Fauci, Hauser et al. *Harrisons Principles of Internal Medicine*, Volume 3. McGraw-Hill Education. 2015
31. Khundmiri SJ, Murray RD, Lederer E. PTH and Vitamin D. *Compr Physiol*. 2016;6(2):561-601. doi: 10.1002/cphy.c140071.
32. Boden SD, Kaplan FS. Calcium homeostasis. *Orthop Clin North Am*. 1990;21(1):31-42.
33. Holick MF. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. *Mayo Clinic Proceedings*. 2006; 81 (3): 353–373.

34. Holick MF. McCollum Award Lecture, 1994: vitamin D--new horizons for the 21st century. *Am J Clin Nutr.* 1994;60(4):619-630.
35. Pike JW, Meyer MB. The vitamin D receptor: new paradigms for the regulation of gene expression by 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Rheum Dis Clin North Am.* 2012;38(1):13-27. doi: 10.1016/j.rdc.2012.03.004.
36. Bouillon R, Van Cromphaut S, Carmeliet G. Intestinal calcium absorption: Molecular vitamin D mediated mechanisms. *Journal of Cellular Biochemistry.* 2003; 88 (2): 332–339.
37. Holick MF. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *The American Journal of Clinical Nutrition.* 2004; 80 (6 Suppl): 1678S–1688S.
38. Lips P. Vitamin D physiology. *Prog Biophys Mol Biol.* 2006;92(1):4-8.
39. Holick MF. Vitamin D. In: Shils ME, Shike M, Ross AC, Caballero B, Cousins RJ, eds. *Modern Nutrition in Health and Disease*, 10th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006.
40. Norman AW, Henry HH. Vitamin D. In: Bowman BA, Russell RM, eds. *Present Knowledge in Nutrition*, 9th ed. Washington DC: ILSI Press, 2006.
41. Gunther T, Chen ZF, Kim J, et al. Genetic ablation of parathyroid glands reveals another source of parathyroid hormone. *Nature.* 2000; 406: 199–203.
42. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. *Biochemistry* 5th edition. New York. W.H. Freeman and Company. Page 707. 2002. ISBN 978-0-7167-2009-6.
43. Kulkarni NH, Halladay DL, Miles RR, et al. Effects of parathyroid hormone on Wnt signaling pathway in bone. *J Cell Biochem.* 2005;95(6):1178-1190.
44. Poole KE, Reeve J. Parathyroid hormone - a bone anabolic and catabolic agent. *Curr Opin Pharmacol.* 2005; 5 (6): 612–7. doi:10.1016/j.coph.2005.07.004.
45. Pajevic PD, Wein MN, Kronenberg HM. Parathyroid Hormone Actions on Bone and Kidney. In: Brandi M., Brown E. (eds) *Hypoparathyroidism*. Springer, Milan, 2015.
46. Wimalawansa SJ. Calcitonin: History, Physiology, Pathophysiology and Therapeutic Applications. In Eric S. Orwoll, John P. Bilezikian, Dirk Vanderschueren (Eds).

- Osteoporosis in Men-Second Edition. Academic Press. San Diego, 2010, Pages 653-666, ISBN 9780123746023
47. Masi L, Brandi ML. Calcitonin and calcitonin receptors. Clin Cases Miner Bone Metab. 2007;4(2):117-122.
 48. Akter F, Ibanez J. Bone and Cartilage Tissue Engineering. In: Akter F (Eds), Tissue Engineering Made Easy. Academic Press. 2016. Pages 77-97. ISBN 9780128053614.
 49. Moore D. Bone formation and Healing. In Orthobullets: Basic Science <https://www.orthobullets.com/basic-science/9007/intramembranous-bone-formation>. Last accessed on 03/20/2018.
 50. Kronenberg HM. Developmental regulation of the growth plate. Nature. 2003;423(6937):332-336.
 51. Hu DP, Ferro F, Yang F, Taylor AJ, Chang W, Miclau T, Marcucio RS, Bahney CS. Cartilage to bone transformation during fracture healing is coordinated by the invading vasculature and induction of the core pluripotency genes. Development. 2017;144(2):221-234.
 52. Mackie EJ, Ahmed YA, Tatarczuch L, Chen KS, Mirams M. Endochondral ossification: how cartilage is converted into bone in the developing skeleton. Int J Biochem Cell Biol. 2008;40(1):46-62.
 53. Hata K, Takahata Y, Murakami T, Nishimura R. Transcriptional Network Controlling Endochondral Ossification. J Bone Metab. 2017;24(2):75-82.
 54. Yu K, Ornitz DM. FGF signaling regulates mesenchymal differentiation and skeletal patterning along the limb bud proximodistal axis. Development. 2008;135:483–491.
 55. Yu K, Xu J, Liu Z, et al. Conditional inactivation of FGF receptor 2 reveals an essential role for FGF signaling in the regulation of osteoblast function and bone growth. Development. 2003;130:3063–3074.
 56. Bi W, Deng JM, Zhang Z, et al. Sox9 is required for cartilage formation. Nat Genet. 1999;22:85–89.
 57. Bi W, Huang W, Whitworth DJ, et al. Haploinsufficiency of Sox9 results in defective cartilage primordia and premature skeletal mineralization. Proc Natl Acad Sci U S A. 2001;98:6698–6703.

58. Akiyama H, Chaboissier MC, Martin JF, et al. The transcription factor Sox9 has essential roles in successive steps of the chondrocyte differentiation pathway and is required for expression of Sox5 and Sox6. *Genes Dev.* 2002;16:2813–2828.
59. Nishimura R, Hata K, Ono K, et al. Regulation of endochondral ossification by transcription factors. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2012;17:2657-2666.
60. Farnum CE, Lee R, O'Hara K, Urban JP. Volume increase in growth plate chondrocytes during hypertrophy: the contribution of organic osmolytes. *Bone.* 2002; 30(4):574-581.
61. Cooper KL, Oh S, Sung Y, Dasari RR, Kirschner MW, Tabin CJ. Multiple phases of chondrocyte enlargement underlie differences in skeletal proportions. *Nature.* 2013; 495(7441):375-378.
62. Frost HM. Dynamics of bone remodeling. *Bone Biodyn* 1964; 315–333
63. Eriksen EF. Cellular mechanisms of bone remodeling. *Rev Endocr Metab Disord.* 2010;11(4):219-227.
64. Sims NA, Martin TJ. Coupling the activities of bone formation and resorption: a multitude of signals within the basic multicellular unit. *BoneKEy Reports.* 2014; Article number: 481
65. Hauge EM, Qvesel D, Eriksen EF, Mosekilde L, Melsen F. Cancellous bone remodeling occurs in specialized compartments lined by cells expressing osteoblastic markers. *J Bone Miner Res* 2001;16:1575–1582.
66. Verborgt O, Gibson GJ, Schaffler MB. Loss of osteocyte integrity in association with microdamage and bone remodeling after fatigue in vivo. *J Bone Miner Res* 2000;15: 60–67.
67. Kristensen HB, Andersen TL, Marcussen N, Rolighed L, Delaisse JM. Increased presence of capillaries next to remodeling sites in adult human cancellous bone. *J Bone Miner Res* 2013;28:574–585.
68. Hadjidakis DJ, Androulakis II. Bone remodeling. *Ann N Y Acad Sci.* 2006;1092:385-396.
69. Jilka RL. Biology of the basic multicellular unit and the pathophysiology of osteoporosis. *Med Pediatr Oncol.* 2003;41(3):182-185.

70. Glaser DL, Kaplan FS. Osteoporosis. Definition and clinical presentation. *Spine* (Phila Pa 1976). 1997;22(24 Suppl):12S-16S.
71. Kanis JA. Textbook of osteoporosis. Oxford: Blackwell Science, 1996
72. Gennari C, Martini G, Nuti R. Secondary osteoporosis. *Aging* (Milano). 1998;10(3):214-224.
73. Wasnich RD. Epidemiology of osteoporosis in the United States of America. *Osteoporos Int* 1997;7 Suppl 3:S68-72
74. Masi L. Epidemiology of osteoporosis. *Clin Cases Miner Bone Metab*. 2008;5(1):11-13.
75. Facts and statistics about osteoporosis and its impact. IOF. <https://www.iofbonehealth.org/facts-statistics>. Last accessed on 04/12/2018.
76. Gullberg B, Johnell O, Kanis JA. World-wide projections for hip fracture. *Osteoporos Int*. 1997;7:407.
77. Cooper C, Campion G, Melton LJ 3rd. Hip fractures in the elderly: a world-wide projection. *Osteoporos Int*. 1992;2(6):285-289.
78. Lippuner K, von Overbeck J, Perrelet R, Bosshard H, Jaeger P. Incidence and direct medical cost of hospitalization due to osteoporotic fractures in Switzerland. *Osteoporos Int*. 1997;7(5):414-25.
79. Svedbom A, Hernlund E, Ivergård M, et al. Osteoporosis in the European Union: a compendium of country-specific reports. *Arch Osteoporos*. 2013;8:137.
80. Paspatis I, Galanos A, Lyritis GP. Hip Fracture Epidemiology in Greece During 1977–1992. *Calcif Tissue Int*. 1998 Jun;62(6):542-547.
81. Svedbom A, Hernlund E, Ivergård M, et al. Epidemiology and Economic Burden of Osteoporosis in Greece. *Arch Osteoporos*. 2013;8:137.
82. Keene GS, Parker MJ, Pryor GA. Mortality and morbidity after hip fractures. *BMJ*. 1993; 307(6914):1248-1250.
83. Johnell O, Gullberg B, Allander E, et al. The apparent incidence of hip fracture in Europe: a study of national register sources. *Osteoporosis Int*. 1992;2:298–302.
84. Rodan GA, Raisz LG, Bilezikian JP. Chapter 73 - Pathophysiology of Osteoporosis. In: *Principles of Bone Biology* (Second Edition), Academic Press, San Diego, 2002, Pages 1275-1289, ISBN 9780120986521.

85. World Health Organization (1998) Guidelines for preclinical evaluation and clinical trials in osteoporosis. <http://apps.who.int/iris/handle/10665/42088>. Accessed 28 February 2018.
86. Cannada LK, Hill BW. Osteoporotic Hip and Spine Fractures: A Current Review. *Geriatr Orthop Surg Rehabil*. 2014;5(4):207-212.
87. Magaziner J, Lydick E, Hawkes W, et al. (1997) Excess mortality attributable to hip fracture in white women aged 70 years and older. *Am J Public Health* 87:1630.
88. Abbasi D, Moore D. Osteoporotic Vertebral Compression Fracture. In *Orthobullets: Spine*. <https://www.orthobullets.com/spine/2021/osteoporotic-vertebral-compression-fracture>. Accessed on 15/03/2018.
89. Hasserijs R, Karlsson MK, Nilsson BE, et al. Prevalent vertebral deformities predict increased mortality and increased fracture rate in both men and women: a 10-year population-based study of 598 individuals from the Swedish cohort in the European Vertebral Osteoporosis Study. *Osteoporos Int*. 2003; 14:61.
90. Lindsay R, Silverman SL, Cooper C, et al. Risk of new vertebral fracture in the year following a fracture. *JAMA*. 2001; 285:320.
91. Πουρνάρας ΙΔ. Ορθοπαιδική Χειρουργική. Εκδόσεις Πασχαλίδης. 2009. ISBN: 978-960-399-767-2
92. Dai LY, Chen DY, Wu DS, Wen Y. Osteoporosis in Colles fracture. *Arch Orthop Trauma Surg*. 1998;117(1-2):65-67.
93. Holloway KL, Henry MJ, Brennan-Olsen SL, et al. Non-hip and non-vertebral fractures: the neglected fracture sites. *Osteoporos Int*. 2016;27(3):905-913.
94. Hagino H. Other non-vertebral fractures. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2013;27(6):731-741.
95. Dontas IA, Yiannakopoulos CK. Risk factors and prevention of osteoporosis-related fractures. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2007;7(3):268-272.
96. Kanis JA. Textbook of osteoporosis. Oxford: Blackwell Science, 1996.
97. Riggs BL. The mechanisms of estrogen regulation of bone resorption. *J Clin Invest*. 2000;106(10):1203-1204.

98. Nikander R, Sievänen H, Heinonen A, Daly RM, Uusi-Rasi K, Kannus P. Targeted exercise against osteoporosis: A systematic review and meta-analysis for optimising bone strength throughout life. *BMC Med.* 2010;8:47.
99. Epstein S, Inzerillo AM, Caminis J, Zaidi M. Disorders associated with acute rapid and severe bone loss. *J Bone Miner Res.* 2003; 18:2083-2094.
100. Shuster LT, Rhodes DJ, Gostout BS, Grossardt BR, Rocca WA. Premature menopause or early menopause: long-term health consequences. *Maturitas.* 2010;65:161-166.
101. Kanis JA, Borgstrom F, De Laet C, Johansson H, Johnell O, et al. Assessment of fracture risk. *Osteoporos Int .* 2005; 16(6):581-589.
102. Kanis JA, McCloskey EV. Risk factors in osteoporosis. *Maturitas.* 1998;30(3):229-233.
103. Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN) (2015). Management of osteoporosis and the prevention of fragility fractures (SIGN publication no. 142). <http://www.sign.ac.uk>. Accessed March 2016.
104. Wang J et al. Increased risk of vertebral fracture in patients with diabetes: a meta-analysis of cohort studies. *Int Orthop.* 2016;40(6):1299-307.
105. Janghorbani M, et al. Systematic review of type 1 and type 2 diabetes mellitus and risk of fracture. *Am J Epidemiol.* 2007;166(5):495-505.
106. Rathmann W, Kostev K. Fracture risk in patients with newly diagnosed type 2 diabetes: a retrospective database analysis in primary care. *J Diabetes Complications.* 2015;29(6):766-770.
107. Janghorbani M, Van Dam RM, Willett WC, Hu FB. Systematic review of type 1 and type 2 diabetes mellitus and risk of fracture. *Am J Epidemiol.* 2007;166(5):495-505.
108. Forst T, et al. Peripheral osteopenia in adult patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabet Med.* 1995;12(10):874–879.
109. Abdulameer SA, et al. Osteoporosis and type 2 diabetes mellitus: what do we know, and what we can do? *Patient Prefer Adherence.* 2012;6:435-448.
110. Hofbauer LC, et al. Osteoporosis in patients with diabetes mellitus. *J Bone Miner Res.* 2007;22(9):1317-1328.

111. Montagnani A, Gonnelli S. Antidiabetic therapy effects on bone metabolism and fracture risk. *Diabetes Obes Metab*. 2013;15(9):784-791.
112. Garnero P, Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover. Applications for osteoporosis. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 1998;27(2):303-23.
113. Tromp AM, Ooms ME, Popp-Snijders C, Roos JC, Lips P. Predictors of Fractures in Elderly Women. *Osteoporos Int*. 2000;11(2):134-140.
114. Garnero P, Delmas PD. New developments in biochemical markers for osteoporosis. *Calcif Tissue Int*. 1996;59 Suppl 1:S2-9.
115. Diagnosing Osteoporosis. IOF. <https://www.iofbonehealth.org/diagnosing-osteoporosis>. Accessed last on January 20, 2018.
116. Μουρμουρής Χ. Απεικονιστική διάγνωση οστεοπόρωσης – DXA scan <https://www.hygeia.gr/apeikonistiki-diagnosi-osteoporosis-dxa-scan/> Accessed last on January 20, 2018.
117. Blake GM, Fogelman I. Role of dual-energy X-ray absorptiometry in the diagnosis and treatment of osteoporosis. *J Clin Densitom*. 2007;10(1):102-110
118. Blake GM, Fogelman I. An update on dual-energy x-ray absorptiometry. *Semin Nucl Med*. 2010;40(1):62-73.
119. Cummings SR, Bates D, Black DM. Clinical use of bone densitometry: scientific review. *JAMA*. 2002;288(15):1889-1897.
120. Johnell O, Kanis JA, Oden A, et al. Predictive Value of BMD for Hip and Other Fractures. *J Bone Miner Res*. 2005 20(7):1185-1194.
121. Prevention and management of osteoporosis. World Health Organ Tech Rep Ser. 2003; 921:1-164.
122. World Health Organization (2007) Assessment of osteoporosis at the primary health care level. Summary Report of a WHO Scientific Group. WHO, Geneva. www.who.int/chp/topics/rheumatic/en/index.html
123. Fracture Risk Assessment Tool. <https://www.sheffield.ac.uk/FRAX/> Accessed last on January 20, 2018.
124. Kanis JA, Johnell O, Oden A, Johansson H, McCloskey E. FRAX and the assessment of fracture probability in men and women from the UK. *Osteoporos Int*. 2008;19(4):385-397.

125. USPSTF. Osteoporosis Screening (2011).
<https://www.uspreventiveservicestaskforce.org/Page/Document/UpdateSummaryFinal/osteoporosis-screening>. Accessed last on January 20, 2018.
126. Bray VJ. ISCD: Osteoporosis Screening Guidelines.
<https://www.iscd.org/publications/osteoflash/osteoporosis-screening-guidelines/>
 Accessed last on January 20, 2018.
127. Kling JM, Clarke BL, Sandhu NP. Osteoporosis prevention, screening, and treatment: a review. *J Womens Health (Larchmt)*. 2014;23(7):563-572.
128. Nachtigall LE, Nachtigall RH, Nachtigall RD, Beckman EM. Estrogen replacement therapy I: a 10-year prospective study in the relationship to osteoporosis. *Obstet Gynecol*. 1979;53(3):277-281.
129. Lufkin EG, Wahner HW, O'Fallon WM, et al. Treatment of postmenopausal osteoporosis with transdermal estrogen. *Ann Intern Med*.;117(1):1-9.
130. Komulainen MH, Kröger H, Tuppurainen MT, et al. HRT and Vit D in prevention of non-vertebral fractures in postmenopausal women; a 5 year randomized trial. *Maturitas*. 1998;31(1):45-54.
131. Marjoribanks J, Farquhar C, Roberts H, Lethaby A, Lee J. Long-term hormone therapy for perimenopausal and postmenopausal women. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017;1:CD004143.
132. An KC. Selective Estrogen Receptor Modulators. *Asian Spine J*. 2016; 10(4), 787–791.
133. Dickler MN, Norton L. The MORE trial: multiple outcomes for raloxifene evaluation--breast cancer as a secondary end point: implications for prevention. *Ann N Y Acad Sci*. 2001;949:134-142.
134. Kaufman JM, Palacios S, Silverman S, Sutradhar S, Chines A. An evaluation of the Fracture Risk Assessment Tool (FRAX®) as an indicator of treatment efficacy: the effects of bazedoxifene and raloxifene on vertebral, nonvertebral, and all clinical fractures as a function of baseline fracture risk assessed by FRAX. *Osteoporos Int*. 2013;24:2561–2569.

135. Russell R, Watts N, Ebetino F, Rogers M. Mechanisms of action of bisphosphonates: similarities and differences and their potential influence on clinical efficacy. *Osteoporos Int*. 2008;19: 733–759
136. Bone H, Hosking D, Devogelaer J, et al. Ten years' experience with alendronate for osteoporosis in postmenopausal women. *N Engl J Med*. 2004; 350: 1189–1199.
137. Black D, Schwartz A, Ensrud K, et al. Effects of continuing or stopping alendronate after 5 years of treatment: the Fracture Intervention Trial Long-term Extension (FLEX): a randomized trial. *JAMA*. 2006; 296: 2927–2938.
138. Schwartz A, Bauer D, Cummings S, et al. Efficacy of continued alendronate for fractures in women with and without prevalent vertebral fracture: the FLEX trial. *J Bone Miner Res*. 2010; 25: 976–982.
139. Mellstrom D, Sorensen O, Goemaere S, Roux C, Johnson T, Chines A. Seven years of treatment with risedronate in women with postmenopausal osteoporosis. *Calcif Tissue Int* . 2004;75: 462–468.
140. Black D, Reid I, Boonen S, et al. The effect of 3 versus 6 years of zoledronic acid treatment of osteoporosis: a randomized extension to the HORIZON-Pivotal Fracture Trial (PFT). *J Bone Miner Res*. 2012; 27: 243–254.
141. Cranney A, Wells G, Willan A, et al. Meta-analyses of therapies for postmenopausal osteoporosis. II. Meta-analysis of alendronate for the treatment of postmenopausal women. *Endocr Rev*. 2002;23(4):508-516.
142. Black DM, Cummings SR, Karpf DB, et al. Randomised trial of effect of alendronate on risk of fracture in women with existing vertebral fractures. Fracture Intervention Trial Research Group. *Lancet*. 1996;348(9041):1535-1541.
143. Diab DL, Watts NB. Bisphosphonate drug holiday: who, when and how long. *Ther Adv Musculoskelet Dis*. 2013;5(3):107-111.
144. Whitaker M, Guo J, Kehoe T, Benson G. Bisphosphonates for osteoporosis—where do we go from here? *N Engl J Med*. 2012; 366(22): 2048–2051.
145. National Osteoporosis Foundation. Clinician's guide to prevention and treatment of osteoporosis. Washington, DC: National Osteoporosis Foundation, 2010;1–56
146. Greenspan SL, Bone HG, Ettinger MP, et al. Effect of recombinant human parathyroid hormone (1–84) on vertebral fracture and bone mineral density in

- postmenopausal women with osteoporosis: a randomized trial. *Ann Intern Med.* 2007;146(5):326–339.
147. Orwoll E, Scheele WH, Paul S, et al. The effect of teriparatide (human parathyroid hormone 1-34) therapy on bone mineral density in postmenopausal men with osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 2003;18:9–17.
 148. Kaufman JM, Orwoll E, Goemaere S, et al. Teriparatide effects on vertebral fractures and bone mineral density in men with osteoporosis: treatment and discontinuation of therapy. *Osteoporos Int.* 2005;16(5):510–516.
 149. Neer RM, Arnaud CD, Zanchetta JR, et al. Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med.* 2001; 344:1434-1441.
 150. Siminoski K, Josse RG. Prevention and management of osteoporosis: Consensus statements from the Scientific Advisory Board of the Osteoporosis Society of Canada: 9, calcitonin in the treatment of osteoporosis. *CMAJ.* 1996;155:962–965.
 151. Chesnut CH, Silverman S, Andriano K, et al. A randomized trial of nasal spray salmon calcitonin in postmenopausal women with established osteoporosis: the Prevent Recurrence of Osteoporotic Fractures Study. *Am J Med.* 2000;109(4):267–276.
 152. Overgaard K, Hansen MA, Jensen SB, Christiansen C. Effect of salmon calcitonin given intranasally on bone mass and fracture rates in established osteoporosis: a dose-response study. *BMJ.* 1992;305:556–561.
 153. Rico H, Revilla M, Hernandez E, Villa LF, Alverex de Buergo M. Total and regional bone mineral content and fracture rate in postmenopausal osteoporosis treated with salmon calcitonin: a prospective study. *Calcif Tissue Int.* 1995;56:181–185.
 154. Heep M et al. Calcitonin use and risk of malignancy: a meta-analysis of 17 RCTs in patients with osteoporosis. 2012. Presented at the American Society of Bone and Mineral Research Annual Meeting 2012. Abstract 1234.

155. Bonnelye E, Chabadel A, Saltel F, Jurdic P. Dual effect of strontium ranelate: stimulation of osteoblast differentiation and inhibition of osteoclast formation and resorption in vitro. *Bone*. 2008;42:129–138.
156. Fonseca JE, Brandi ML. Mechanism of action of strontium ranelate: what are the facts? *Clin Cases Miner Bone Metab*. 2010;7(1):17-18.
157. Briot K, Roux C. Strontium ranelate: state of the art. *Womens Health (Lond)*. 2005 Jul;1(1):15-21. doi: 10.2217/17455057.1.1.15.
158. European Medicines Agency's Committee for Medicinal Products for Human Use (2013) Recommendation to restrict the use of Protelos/Osseor (strontium ranelate). http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/news_and_events/news/2013/04/news_detail_001774.jsp&mid=WC0b01ac058004d5c1. Accessed 5 March 2018
159. Osteoporosis drug strontium ranelate (Protelos) no longer available after August. <https://nos.org.uk/news/2017/may/31/osteoporosis-drug-strontium-ranelate-protelos-no-longer-available-after-august/> Accessed last 5 March 2018
160. Δενοσουμάμπη. Γαληνός Οδηγός Φαρμάκων. <https://www.galinos.gr/web/drugs/main/substances/denosumab>. Accessed last on January 20, 2018.
161. Roland B et al. Denosumab and bisphosphonates: different mechanisms of action and effects. *Bone*. 2011; 48(4): 677-692.
162. Hanley DA, Adachi JD, Bell A, Brown V. Denosumab: mechanism of action and clinical outcomes. *Int J Clin Pract*. 2012;66(12):1139-1146.
163. Cummings SR, San Martin J, McClung MR, et al. FREEDOM Trial. Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2009;361:756–765 Erratum in: *N Engl J Med*. 2009;361:1914.
164. Mafi Golchin M, Heidari L, Ghaderian SM, Akhavan-Niaki H. Osteoporosis: A Silent Disease with Complex Genetic Contribution. *J Genet Genomics*. 2016;43(2):49-61.
165. Liu K, Tan L-J, Wang P, Chen X-D, Zhu L-H, Zeng Q, et al. Functional relevance for associations between osteoporosis and genetic variants. *PLoS ONE*. 2017; 12(4): e0174808.

166. Deng HW, Chen WM, Recker S, et al. Genetic determination of Colles' fracture and differential bone mass in women with and without Colles' fracture. *J Bone Miner Res.* 2000;15:1243-1252.
167. Richards JB, Zheng HF, Spector TD. Genetics of osteoporosis from genome-wide association studies: advances and challenges. *Nat Rev Genet.* 2012;13:576-588.
168. Andrew T, Antoniadou L, Scurrah KJ, Macgregor AJ, Spector TD. Risk of wrist fracture in women is heritable and is influenced by genes that are largely independent of those influencing BMD. *J Bone Miner Res.* 2005;20:67-74.
169. Rocha-Braz MG, Ferraz-de-Souza B. Genetics of osteoporosis: searching for candidate genes for bone fragility. *Arch Endocrinol Metab.* 2016;60(4):391-401.
170. Keupp K, Beleggia F, Kayserili H, et al. Mutations in WNT1 cause different forms of bone fragility. *Am J Hum Genet.* 2013;92:565-574.
171. van Dijk FS, Zillikens MC, Micha D, et al. PLS3 mutations in X-linked osteoporosis with fractures. *N Engl J Med.* 2013;369:1529-1536.
172. Richards JB, Rivadeneira F, Inouye M, et al. Bone mineral density, osteoporosis, and osteoporotic fractures: a genome-wide association study. *Lancet.* 2008;371:1505-1512.
173. Stykarsdottir U, Halldorsson BV, Gretarsdottir S, Gudbjartsson DF, Walters GB, Ingvarsson T, et al. Multiple genetic loci for bone mineral density and fractures. *N Engl J Med.* 2008;358:2355-2365.
174. Stewart TL, Ralston SH. Role of genetic factors in the pathogenesis of osteoporosis. *J Endocrinol.* 2000;166(2):235-245.
175. Baldock PA, Eisman JA. Genetic determinants of bone mass. *Curr Opin Rheumatol.* 2004;16(4):450-456.
176. Gordon KJ, Blobel GC. Role of transforming growth factor-beta superfamily signaling pathways in human disease. *Biochim Biophys Acta.* 2008;1782(4):197-228.

177. Wu M, Chen G, Li YP. TGF- β and BMP signaling in osteoblast, skeletal development, and bone formation, homeostasis and disease. *Bone Res.* 2016;4:16009.
178. Κορομηλά Θ. Ανάλυση πολυμορφισμών και προσδιορισμός γονιδίων που εμπλέκονται στην οστεοπόρωση. 2012.
179. TGF-beta Signaling Pathways. R&D Systems. <https://www.rndsystems.com/pathways/tgf-beta-signaling-pathways>. Last accessed on April 1, 2018.
180. Attisano L, Wrana JL. Signal integration in TGF- β , WNT, and Hippo pathways. *F1000Prime Rep.* 2013;5:17.
181. Wrana JL. Signaling by the TGF β superfamily. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2013;5(10):a011197.
182. Janssens K, Gershoni-Baruch R, Van Hul E, et al. Localisation of the gene causing diaphyseal dysplasia Camurati-Engelmann to chromosome 19q13. *J Med Genet.* 2000;37(4):245-249.
183. Shen R, Chen M, Wang YJ, et al. Smad6 interacts with Runx2 and mediates Smad ubiquitin regulatory factor 1-induced degradation. *J Biol Chem.* 2006 Feb 10;281(6):3569-3576.
184. Langdahl BL, Carstens M, Stenkjaer L, Eriksen EF. Polymorphisms in the transforming growth factor beta 1 gene and osteoporosis. *Bone.* 2003;32(3):297-310.
185. Yamada Y, Miyauchi A, Goto J, et al. Association of a polymorphism of the transforming growth factor-beta1 gene with genetic susceptibility to osteoporosis in postmenopausal Japanese women. *J Bone Miner Res.* 1998;13(10):1569-1576.
186. Yamada Y, Harada A, Hosoi T, et al. Association of transforming growth factor beta1 genotype with therapeutic response to active vitamin D for postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 2000;15(3):415-420.
187. Watanabe Y, Kinoshita A, Yamada T, et al. A catalog of 106 single-nucleotide polymorphisms (SNPs) and 11 other types of variations in genes for transforming growth factor-beta1 (TGF-beta1) and its signaling pathway. *J Hum Genet.* 2002;47(9):478-83.

188. Mueller CG, Hess E. Emerging Functions of RANKL in Lymphoid Tissues. *Front Immunol.* 2012; 3: 261.
189. Wada T, Nakashima T, Hiroshi N, Penninger JM. RANKL-RANK signaling in osteoclastogenesis and bone disease. *Trends Mol Med.* 2006; 12 (1): 17–25.
190. Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR, Lacey DL, Boyle WJ, Riggs BL. The roles of osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand in the paracrine regulation of bone resorption. *J Bone Miner Res.* 2000;15:2–12.
191. Brendan BF, Xing L. Biology of RANK, RANKL and osteoprotegerin. *Arthritis Research & Therapy.* 2007;9 Suppl 1:S1.
192. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell.* 1997; 89 (2): 309-319.
193. Schoppet M, Preissner KT, Hofbauer LC. RANK ligand and osteoprotegerin: paracrine regulators of bone metabolism and vascular function. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.* 2002; 22 (4): 549–553.
194. Boyce BF, Xing L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Arch Biochem Biophys.* 2008; 473(2):139-146.
195. Kong YY, Yoshida H, Sarosi I, et al. OPG is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature.* 1999;397:315-323.
196. Mizuno A, Amizuka N, Irie K, et al. Severe osteoporosis in mice lacking osteoclastogenesis inhibitory factor/osteoprotegerin. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998;247:610-615.
197. Whyte MP, Obrecht SE, Finnegan PM, et al. Osteoprotegerin deficiency and juvenile Paget's disease. *N Engl J Med.* 2002;347:175-184.
198. Cundy T, Hegde M, Naot D, et al. A mutation in the gene TNFRSF11B encoding osteoprotegerin causes an idiopathic hyperphosphatasia phenotype. *Hum Mol Genet.* 2002;11:2119–2127.
199. McClung M. Role of RANKL inhibition in osteoporosis. *Arthritis Res Ther.* 2007;9 Suppl 1:S3.

200. Styrkarsdottir U, Halldorsson BV, Gretarsdottir S, et al. Multiple genetic loci for bone mineral density and fractures. *N Engl J Med*. 2008;358(22):2355-2365.
201. Arko B, Prezelj J, Komel R, Kocijancic A, Hudler P, Marc J. Sequence variations in the osteoprotegerin gene promoter in patients with postmenopausal osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002; 87:4080-4084.
202. Langdahl BL, Carstens M, Stenkjaer L, Eriksen EF. Polymorphisms in the osteoprotegerin gene are associated with osteoporotic fractures. *J Bone Miner Res*. 2002; 17:1245-1255.
203. Brändström H, Gerdhem P, Stiger F, et al. Single nucleotide polymorphisms in the human gene for osteoprotegerin are not related to bone mineral density or fracture in elderly women. *Calcif Tissue Int* 2004; 74:18-24.
204. Ohmori H, Makita Y, Funamizu M, et al. Linkage and association analyses of the osteoprotegerin gene locus with human osteoporosis. *J Hum Genet*. 2002; 47:400-406.
205. Wynne F, Drummond F, O'Sullivan K, et al. Investigation of the genetic influence of the OPG, VDR (Fok1), and COLIA Sp1 polymorphisms on BMD in the Irish population. *Calcif Tissue Int*. 2002; 71:26-35.
206. Huang W, Yang S, Shao J, Li YP. Signaling and transcriptional regulation in osteoblast commitment and differentiation. *Front Biosci*. 2007;12:3068-3092.
207. Westendorf JJ, Kahler RA, Schroeder TM. Wnt signaling in osteoblasts and bone diseases. *Gene*. 2004; 341:19–39.
208. Canalis E. Update in new anabolic therapies for osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95(4):1496-1504.
209. Rodda SJ, McMahon AP. Distinct roles for Hedgehog and canonical Wnt signaling in specification, differentiation and maintenance of osteoblast progenitors. *Development*. 2006;133(16):3231–3244.
210. Gong Y, Slee RB, Fukai N, et al. LDL receptor-related protein 5 (LRP5) affects bone accrual and eye development. *Cell*. 2001; 107(4):513-523.
211. Gaur T, Lengner CJ, Hovhannisyan H, et al. Canonical WNT signaling promotes osteogenesis by directly stimulating Runx2 gene expression. *J Biol Chem*. 2005;280(39):33132-33140.

212. Manolagas SC. Wnt signaling and osteoporosis. *Maturitas*. 2014;78(3):233-237.
213. Smith E, Frenkel B. Glucocorticoids inhibit the transcriptional activity of LEF/TCF in differentiating osteoblasts in a glycogen synthase kinase-3 β -dependent and -independent manner. *J Biol Chem*. 2005; 280:2388–2394.
214. Canalis E, Mazziotti G, Giustina A, Bilezikian JP. Glucocorticoid-induced osteoporosis: pathophysiology and therapy. *Osteoporos Int*. 2007; 18:1319–1328.
215. Kawano Y, Kypta R. Secreted antagonists of the Wnt signalling pathway. *J Cell Sci*. 2003; 116:2627–2634.
216. Keller H, Kneissel M. SOST is a target gene for PTH in bone. *Bone*. 2005; 37:148–158.
217. Tuppurainen M, Kröger H, Saarikoski S, Honkanen R, Alhava E. The effect of gynecological risk factors on lumbar and femoral bone mineral density in peri- and postmenopausal women. *Maturitas*. 1995; 21:137-145.
218. Prentice A. Diet, nutrition and the prevention of osteoporosis. *Public Health Nutr*. 2004; 7:227-243.
219. Kellgren JH, Lawrence JS. Radiological assessment of osteo-arthritis. *Ann Rheum Dis*. 1957;16:494–502.
220. Carter PH, Schipani E. The roles of parathyroid hormone and calcitonin in bone remodeling: prospects for novel therapeutics. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2006;6(1):59-76.
221. Costanzo LS. *BRS Physiology*. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2011. p. 245-249.
222. Wei J, Karsenty G. An overview of the metabolic functions of osteocalcin. *Rev Endocr Metab Disord*. 2015;16(2):93-98.
223. Guntur AR, Rosen CJ. IGF-1 regulation of key signaling pathways in bone. *BoneKEy Reports*. 2013; 2: 437.
224. Locatelli V, Bianchi VE. Effect of GH/IGF-1 on Bone Metabolism and Osteoporosis. *International Journal of Endocrinology*. 2014; Article ID 235060, 25 pages.
225. Upadhyay J, Farr OM, Mantzoros CS. The role of leptin in regulating bone metabolism. *Metabolism*. 2015;64(1):105-113.

226. Chen XX, Yang T. Roles of leptin in bone metabolism and bone diseases. *J Bone Miner Metab.* 2015;33(5):474-485.
227. Koromila T, Georgoulas P, Dailiana Z, et al. CER1 gene variations associated with bone mineral density, bone markers, and early menopause in postmenopausal women. *Hum Genomics.* 2013;7:21.
228. Garnero P, Delmas PD. New developments in biochemical markers for osteoporosis. *Calcif Tissue Int.* 1996;59(Suppl 1):S2–9.
229. Kelly NH, Schimenti JC, Patrick Ross F, van der Meulen MC. A method for isolating high quality RNA from mouse cortical and cancellous bone. *Bone.* 2014;68:1-5.
230. Bustin SA, Benes V, Nolan T, Pfaffl MW. Quantitative real-time RT-PCR--a perspective. *J Mol Endocrinol.* 2005; 34, 597-601.
231. Kubista M, Andrade JM, Bengtsson M, et al. The real-time polymerase chain reaction. *Mol Aspects Med.* 2006;27(2-3):95-125.
232. Johnell O, Kanis J. Epidemiology of osteoporotic fractures. *Osteoporos Int.* 2005; 16:S3-S7.
233. Center JR, Bliuc D, Nguyen TV, Eisman JA. Risk of subsequent fracture after low-trauma fracture in men and women. *JAMA.* 2007; 297:387-394.
234. Klotzbuecher CM, Ross PD, Landsman PB, Abbott TA III, Berger M. Patients with prior fractures have an increased risk of future fractures: a summary of the literature and statistical synthesis. *J Bone Miner Res.* 2000; 15:721-739.
235. Kanis JA. Diagnosis of osteoporosis and assessment of fracture risk. *Lancet.* 2002; 359:1929-1936.
236. Hajcsar EE, Hawker G, Bogoch ER. Investigation and treatment of osteoporosis in patients with fragility fractures. *CMAJ.* 2000; 163:819-822
237. Elliot-Gibson V, Bogoch ER, Jamal SA, Beaton DE. Practice patterns in the diagnosis and treatment of osteoporosis after a fragility fracture: a systematic review. *Osteoporos Int.* 2004; 15:767-778.
238. McLellan AR, Gallacher SJ, Fraser M, McQuillan C. The fracture liaison service: success of a program for the evaluation and management of patients with osteoporotic fracture. *Osteoporos Int.* 2003; 14:1028-1034.

239. Bunta AD, Edwards BJ, Macaulay WB Jr, et al. Own the Bone, a System-Based Intervention, Improves Osteoporosis Care After Fragility Fractures. *J Bone Joint Surg Am.* 2016; 98:e109
240. Cummings SR, Kelsey JL, Nevitt MC, O'Dowd KJ. Epidemiology of osteoporosis and osteoporotic fractures. *Epidemiol Rev.* 1985;7:178–208.
241. Mallimin H, Ljunghall S, Naessen T. Colles' fracture associated with reduced bone mineral content: photon densitometry in 74 patients with matched controls. *Acta Orthop Scand* 1992;63:552–4
242. Nilsson BE, Westlin NE. The bone mineral content in the forearm of women with Colles' fracture. *Acta Orthop Scand* 1974;45:836–44.
243. Krolner B, Tondevold E, Toft B, Berthelsen B, Nielsen SP. Bone mass of the axial and appendicular skeleton in women with Colles' fracture: its relation to physical activity. *Clin Physiol* 1982;2:147–57
244. Wallace WA, Armstrong AL, Coupland C, Pye DW. An investigation of the relationship between wrist fracture type and bone density in post-menopausal women. In: Ring EFJ, Elvins DM, Bhalla AK, editors. *Current research in osteoporosis and bone mineral measurement III*. London: British Institute of Radiology, 1994;33–4
245. Czerwinski E, Golda W. Bone mineral density of the distal radius after Colles' fracture. In: Ring EFJ, Elvins DM, Bhalla AK, editors. *Current research in osteoporosis and bone mineral measurement IV: 1996 Bath Conference on Osteoporosis and Bone Mineral Measurement*. London: British Institute of Radiology, 1996;64.
246. Earnshaw SA, Cawte SA, Worley A, Hosking DJ. Colles' fracture of the wrist as an indicator of underlying osteoporosis in postmenopausal women: a prospective study of bone mineral density and bone turnover rate. *Osteoporos Int.* 1998;8(1):53-60.
247. Faulkner KG, von Stetten E, Miller P. Discordance in patient classification using T-scores. *Journal of Clinical Densitometry*, 1999, 2:343–350.
248. Hamdy RC, Petak SM, Lenchik L; International Society for Clinical Densitometry Position Development Panel and Scientific Advisory Committee. Which central dual

- X-ray absorptiometry skeletal sites and regions of interest should be used to determine the diagnosis of osteoporosis? *J Clin Densitom.* 2002; 5 Suppl:S11-8.
249. Lewiecki EM, Kendler DL, Kiebzak GM, et al. Special report on the official positions of the International Society for Clinical Densitometry. *Osteoporos Int* 2004;15(10):779-784.
250. Mounach A, Abayi DA, Ghazi M, et al. Discordance Between Hip and Spine Bone Mineral Density Measurement Using DXA: Prevalence and Risk Factors. *Semin Arthritis Rheum.* 2009; 38(6):467-471.
251. CDC. National and state attributable medical expenditures and lost earnings attributable to arthritis and other rheumatic conditions—United States. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 2007;56(1):4–7.
252. Lawrence RC, Felson DT, Helmick CG et al. Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part II. *Arthritis Rheum.* 2008; 58(1):26–35.
253. Franklin J, Englund M, Ingvarsson T, Lohmander S. The association between hip fracture and hip osteoarthritis: A case-control study. *BMC Musculoskelet Disord.* 2010;11:274.
254. Cumming RG, Klineberg RJ: Epidemiological study of the relation between arthritis of the hip and hip fractures. *Annals of the rheumatic diseases.* 1993; 52:707-710.
255. Dequeker J, Johnell O. Osteoarthritis protects against femoral neck fracture: the MEDOS study experience. *Bone.* 1993; 14(Suppl 1):S51-56.
256. Kohn MD, Sassoon AA, Fernando ND. Classifications in Brief: Kellgren-Lawrence Classification of Osteoarthritis. *Clin Orthop Relat Res.* 2016;474(8):1886-1893.
257. Koromila T, Dailiana Z, Samara S, et al. Novel sequence variations in the CER1 gene are strongly associated with low bone mineral density and risk of osteoporotic fracture in postmenopausal women. *Calcif Tissue Int.* 2012;91(1):15-23.
258. Johnell O, Kanis JA, Odén A, et al. Fracture risk following an osteoporotic fracture. *Osteoporos Int.* 2004; 15:175-179.

259. Suhm N, Lamy O, Lippuner K; OsteoCare study group. Management of fragility fractures in Switzerland: results of a nationwide survey. *Swiss Med Wkly.* 2008;138:674-683.
260. Ruggiero C, Zampi E, Rinonapoli G, et al. Fracture prevention service to bridge the osteoporosis care gap. *Clin Interv Aging.* 2015;10:1035-1042.
261. USPSTF. Final Recommendation Statement. Vitamin D and Calcium to Prevent Fractures: Preventive Medication. <http://www.uspreventiveservicestaskforce.org/Page/Document/RecommendationStatementFinal/vitamin-d-and-calcium-to-prevent-fractures-preventive-medication>. Accessed 18 October 2016.
262. Boonen S, Vanderschueren D, Haentjens P, Lips P. Calcium and vitamin D in the prevention and treatment of osteoporosis - a clinical update. *J Intern Med.* 2006; 259:539-552.
263. Joffe HV. Calcitonin salmon for the treatment of postmenopausal osteoporosis. Silver Spring (MD): FDA; <http://www.fda.gov/downloads/AdvisoryCommittees/CommitteesMeetingMaterials/Drugs/ReproductiveHealthDrugsAdvisoryCommittee/UCM343748.pdf>. Accessed 21 January 2017.
264. Wells G, Chernoff J, Gilligan JP, Krause DS (2016) Does salmon calcitonin cause cancer? A review and meta-analysis. *Osteoporos Int.* 2016; 27(1):13-9.
265. Hawker G, Ridout R, Ricupero M, Jaglal S, Bogoch E. The impact of a simple fracture clinic intervention in improving the diagnosis and treatment of osteoporosis in fragility fracture patients. *Osteoporos Int.* 2003;14:171-178.
266. Panneman MJ, Lips P, Sen SS, Herings RM. Undertreatment with anti-osteoporotic drugs after hospitalization for fracture. *Osteoporos Int.* 2004;15:120-124.
267. Balasubramanian A, Tosi LL, Lane JM, Dirschl DR, Ho PR, O'Malley CD. Declining rates of osteoporosis management following fragility fractures in the U.S., 2000 through 2009. *J Bone Joint Surg Am.* 2014; 96:e52.

268. Center JR, Nguyen TV, Schneider D, Sambrook PN, Eisman JA. Mortality after all major types of osteoporotic fracture in men and women: an observational study. *Lancet*. 1999;353:878-882.
269. Ensrud KE. Epidemiology of fracture risk with advancing age. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2013; 68:1236-1242.
270. Ahmed LA, Center JR, Bjørnerem A, et al. Progressively increasing fracture risk with advancing age after initial incident fragility fracture: the Tromsø study. *J Bone Miner Res*. 2013; 28:2214-2221.
271. Maher RL, Hanlon J, Hajjar ER. Clinical consequences of polypharmacy in elderly. *Expert Opin Drug Saf*. 2014;13:57-65.
272. Rabenda V, Vanoverloop J, Fabri V, et al. Low incidence of anti-osteoporosis treatment after hip fracture. *J Bone Joint Surg Am*. 2008; 90:2142-2148.
273. Marsh D, Akesson K, Beaton DE, et al. Coordinator-based systems for secondary prevention in fragility fracture patients. *Osteoporos Int*. 2011;22:2051-2065.
274. Walters S, Khan T, Ong T, Sahota O. Fracture liaison services: improving outcomes for patients with osteoporosis. *Clin Interv Aging*. 2017;10:117-127.
275. Woodson G. Dual X-ray absorptiometry T-score concordance and discordance between the hip and spine measurement sites. *J Clin Densitom*. 2000;3(4):319-324.
276. Singh M, Magon N, Singh T. Major and minor discordance in the diagnosis of postmenopausal osteoporosis among Indian women using hip and spine dual-energy X-ray absorptiometry. *J Midlife Health*. 2012;3(2):76-80.
277. Moayyeri A, Soltani A, Tabari NK, Sadatsafavi M, Hossein-Neghad A, Larijani B. Discordance in diagnosis of osteoporosis using spine and hip bone densitometry. *BMC Endocr Disord*. 2005;5(1):3.
278. Alavizadeh SA, Mohajeri-Tehrani MR, Rostamian A, et al. Prevalence and associated factors of T-score discordance between different sites in Iranian patients with spinal cord injury. *Spinal Cord*. 2014;52(4):322-326.
279. Blumsohn A, Eastell R. Age-related factors. In: Riggs BL, Melton LJ III, editors. *Osteoporosis Etiology, Diagnosis, and Management*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1995,161-182.

280. Aaron JE, Johnson DR, Paxton S, Kanis JA. Secondary osteoporosis and the microanatomy of trabecular bone. *Clin Rheumatol*.1989;8:(Suppl 2):84-8
281. Younes M, Ben Hammouda S, Jguirim M, et al. Discordance between spine and hip Bone Mineral Density measurement using DXA in osteoporosis diagnosis: prevalence and risk factors. *Tunis Med*. 2014;92(1):1-5.
282. Foss MV, Byers PD. Bone density, osteoarthritis of the hip, and fracture of the upper end of the femur. *Ann Rheum Dis*. 1972;31:259–264
283. Burger H, van Daele PL, Odding E, et al. Association of radiographically evident osteoarthritis with higher bone mineral density and increased bone loss with age. The Rotterdam Study. *Arthritis Rheum*. 1996;39:81–86.
284. Hart DJ, Mootoosamy I, Doyle DV, Spector TD. The relationship between osteoarthritis and osteoporosis in the general population: the Chingford Study. *Ann Rheum Dis*. 1994; 53:158-162.
285. Nevitt MC, Lane NE, Scott JC, et al. Radiographic osteoarthritis of the hip and bone mineral density. The Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Arthritis Rheum*. 1995;38:907–916.
286. Hart DJ, Cronin C, Daniels M, Worthy T, Doyle DV, Spector TD. The relationship of bone density and fracture to incident and progressive radiographic osteoarthritis of the knee: the Chingford Study. *Arthritis Rheum*. 2002;46:92–99.
287. Zhang Y, Hannan MT, Chaisson CE, et al. Bone mineral density and risk of incident and progressive radiographic knee osteoarthritis in women: the Framingham Study. *J Rheumatol*. 2000;27:1032–1037.
288. Arden NK, Nevitt MC, Lane NE, et al. Osteoarthritis and risk of falls, rates of bone loss, and osteoporotic fractures. Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Arthritis Rheum*. 1999;42:1378–1385.
289. Jones G, Nguyen T, Sambrook PN, Lord SR, Kelly PJ, Eisman JA. Osteoarthritis, bone density, postural stability, and osteoporotic fractures: a population based study. *J Rheumatol*. 1995;22:921–925.
290. Im GI, Kim MK. The relationship between osteoarthritis and osteoporosis. *J Bone Miner Metab*. 2014;32(2):101-109.

291. Ding C, Cicuttini F, Boon C, Boon P, Srikanth V, Cooley H, Jones G. Knee and hip radiographic osteoarthritis predict total hip bone loss in older adults: a prospective study. *J Bone Miner Res.* 2010;25:858–865.
292. Hochberg MC, Lethbridge-Cejku M, Tobin JD. Bone mineral density and osteoarthritis: data from the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Osteoarthritis Cartilage.* 2004; 12:S45-S48.
293. Bergink AP, van der Klift M, Hofman A, et al. Osteoarthritis of the knee is associated with vertebral and nonvertebral fractures in the elderly: the Rotterdam Study. *Arthritis Rheum.* 2003;49:648–657.
294. Baron R, Rawadi G: Wnt signaling and the regulation of bone mass. *Curr Osteoporos Rep.* 2007;5:73–80.
295. Ke HZ, Richards WG, Li X, Ominsky MS. Sclerostin and dickkopf-1 as therapeutic targets in bone diseases. *Endocr Rev.* 2012;33:747–783.
296. Maruotti N, Corrado A, Neve A, Cantatore F. Systemic effects of Wnt signaling. *J Cell Physiol.* 2013; 228:1428–1432.
297. McDonald MM, Morse A, Schindeler A, et al. Homozygous Dkk1 Knockout Mice Exhibit High Bone Mass Phenotype Due to Increased Bone Formation. *Calcif Tissue Int.* 2018;102(1):105-116.
298. Morvan F, Boulukos K, Cle´ment-Lacroix P, et al. Deletion of a single allele of the Dkk1 gene leads to an increase in bone formation and bone mass. *J Bone Miner Res.* 2006;21(6):934–945.
299. Li J, Sarosi I, Cattley RC, et al. Dkk1-mediated inhibition of Wnt signaling in bone results in osteopenia. *Bone.* 2006;39(4):754–766.
300. Yao GQ, Wu JJ, Troiano N, Insogna K. Targeted overexpression of Dkk1 in osteoblasts reduces bone mass but does not impair the anabolic response to intermittent PTH treatment in mice. *J Bone Miner Metab.* 2011;29(2):141–148.
301. Estrada K, Styrkarsdottir U, Evangelou E, et al. Genome-wide meta-analysis identifies 56 bone mineral density loci and reveals 14 loci associated with risk of fracture. *Nat Genet.* 2012;44:491–501
302. Piters E, Balemans W, Nielsen TL, et al. Common genetic variation in the DKK1 gene is associated with hip axis length but not with bone mineral density and bone

- turnover markers in young adult men: results from the Odense Androgen Study. *Calcified Tissue International*. 2010;86(4):271–281.
303. Ralston SH, Galwey N, Mackay I, et al. Loci for regulation of bone mineral density in men and women identified by genome wide linkage scan: the FAMOS study. *Human Molecular Genetics*. 2005;14(7):943–951.
 304. Piccolo S, Agius E, Leyns L, et al. The head inducer Cerberus is a multifunctional antagonist of Nodal, BMP and Wnt signals. *Nature*. 1999;397(6721):707-710.
 305. Singh S, Kumar D, Lal AK. Serum Osteocalcin as a Diagnostic Biomarker for Primary Osteoporosis in Women. *J Clin Diagn Res*. 2015;9(8):RC04-7.
 306. Tang PL, Cheung CL, Sham PC, et al. Genome-wide haplotype association mapping in mice identifies a genetic variant in CER1 associated with BMD and fracture in southern Chinese women. *J Bone Miner Res*. 2009;24:1013–1021.
 307. Kagoshima H, Shigesada K, Satake M, et al. The Runt domain identifies a new family of heteromeric transcriptional regulators. *Trends Genet*. 1993;9:338-341.
 308. Mundlos S, Otto F, Mundlos C, et al. Mutations involving the transcription factor CBFA1 cause cleidocranial dysplasia. *Cell*. 1997;89:773-779.
 309. Komori T, Yagi H, Nomura S, et al. Targeted disruption of Cbfa1 results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts. *Cell*. 1997;89:755–764.
 310. Liu W, Toyosawa S, Furuichi T, et al. Overexpression of Cbfa1 in osteoblasts inhibits osteoblast maturation and causes osteopenia with multiple fractures. *J Cell Biol* 2001;155:157-166.
 311. Geoffroy V, Kneissel M, Fournier B, Boyde APM. High bone resorption in adult aging transgenic mice overexpressing cbfa1/runx2 in cells of the osteoblastic lineage. *Mol Cell Biol*. 2002;22:6222-6233.
 312. McCarthy TL, Chang WZ, Liu Y, Centrella M. Runx2 integrates estrogen activity in osteoblasts. *J Biol Chem*. 2003;278(44):43121-43129.
 313. Plant A, Samuels A, Perry MJ, Colley S, Gibson R, Tobias JH. Estrogen-induced osteogenesis in mice is associated with the appearance of Cbfa1-expressing bone marrow cells. *J Cell Biochem*. 2002;84(2):285-294.

314. Koromila T, Baniwal SK, Song YS, Martin A, Xiong J, Frenkel B. Glucocorticoids antagonize RUNX2 during osteoblast differentiation in cultures of ST2 pluripotent mesenchymal cells. *J Cell Biochem.* 2014;115(1):27-33. doi: 10.1002/jcb.24646.
315. Viereck V, Siggelkow H, Tauber S, Raddatz D, Schutze N, Hüfner M. Differential regulation of Cbfa1/Runx2 and osteocalcin gene expression by vitamin-D3, dexamethasone, and local growth factors in primary human osteoblasts. *J Cell Biochem.* 2002;86(2):348-356.
316. Xiong Y, Yang HJ, Feng J, Shi ZL, Wu LD. Effects of alendronate on the proliferation and osteogenic differentiation of MG-63 cells. *J Intern Med Res.* 2009;37(2):407–416.
317. Reinholz GG, Betz B, Pederson L, et al. Bisphosphonates directly regulate cell proliferation, differentiation, and gene expression in human osteoclasts. *Cancer Res.* 2000;60(21):6001–6007.
318. Manzano-Moreno FJ, Ramos-Torrecillas J, Melguizo-Rodríguez L, Illescas-Montes R, Ruiz C, García-Martínez O. Bisphosphonate Modulation of the Gene Expression of Different Markers Involved in Osteoblast Physiology: Possible Implications in Bisphosphonate-Related Osteonecrosis of the Jaw. *Int J Med Sci.* 2018;15(4):359-367.
319. Peris P, Atkinson EJ, Gössl M, et al. Effects of bisphosphonate treatment on circulating osteogenic endothelial progenitor cells in postmenopausal women. *Mayo Clin Proc.* 2013;88(1):46-55.
320. Zhu W, Yang ML, Yang GY, Boden G, Li L. Changes in serum runt-related transcription factor 2 levels after a 6-month treatment with recombinant human parathyroid hormone in patients with osteoporosis. *J Endocrinol Invest.* 2012;35(6):602-606.
321. Anastasilakis AD, Makras P, Pikilidou M, et al. Changes of Circulating MicroRNAs in Response to Treatment With Teriparatide or Denosumab in Postmenopausal Osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2018;103(3):1206-1213.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α

ΓΕΝΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ**1 ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ****2 ΦΥΛΟ**

ΑΡΡΕΝ

☐

ΘΥΛΗ

☐**3 ΗΛΙΚΙΑ****4 ΒΑΡΟΣ****5 ΥΨΟΣ****6 ΤΟΠΟΣ ΔΙΑΜΟΝΗΣ**

ΓΗΡΟΚΟΜΕΙΟ

ΜΟΝΟΣ

ΜΕ ΣΥΓΓΕΝΕΙΣ

☐**7 ΤΗΛΕΦΩΝΟ****ΙΣΤΟΡΙΚΟ****8 ΠΑΡΟΥΣΑ ΝΟΣΟΣ****9 ΣΥΝΟΔΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ****10 ΦΑΡΜΑΚΑ****11 ΚΟΡΤΙΚΟΣΤΕΡΟΕΙΔΗ****12 ΧΕΙΡΟΥΡΓΙΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ****13 ΗΛΙΚΙΑ ΕΜΜΗΝΑΡΧΗΣ****14. ΗΛΙΚΙΑ ΕΜΜΗΝΟΠΑΥΣΗΣ****15 ΤΕΚΝΑ****16 ΔΙΑΤΗΤΙΚΕΣ ΣΥΝΗΘΕΙΕΣ**

ΚΑΠΝΙΣΜΑ

ΓΑΛΑΚΤΟΚΟΜΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

☐**17 ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ
ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗΣ**

ΝΑΙ

☐

ΟΧΙ

☐**18 ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ
ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΤΙΚΟΥ ΚΑΤΑΓΜΑΤΟΣ ΙΣΧΙΟΥ**

ΝΑΙ

☐

ΟΧΙ

☐

19 ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΟ ΚΑΤΑΓΜΑΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

ΟΜΣΣ

ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

ΣΥΣΤΟΙΧΟ ΜΗΡΙΑΙΟ

ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐ΕΤΕΡΟΠΛΕΥΡΟ ΙΣΧΙΟ
ΥΠΟΚΕΦΑΛΙΚΟ
ΔΙΑΤΡΟΧΑΝΘΡΙΟΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

ΚΑΤΑΓΜΑ COLLES

ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

ΑΛΛΟ ΚΑΤΑΓΜΑ

ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐**20 ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ
ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗΣ****21 ΜΕΘΟΔΟΣ ΔΙΑΓΝΩΣΗΣ****22 ΠΡΟΗΓΟΥΜΕΝΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ
ΕΑΝ ΝΑΙ**ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐ΔΙΦΩΣΦΟΝΙΚΑ
ΚΑΛΣΙΤΟΝΙΝΗ
ΟΙΣΤΡΟΓΟΝΑ
SERMS
ΠΑΡΑΘΟΡΜΟΝΗ
ΣΤΡΟΝΤΙΟ☐
☐
☐
☐
☐
☐**23 ΕΠΙΠΕΔΟ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑΣ
ΠΡΙΝ ΤΟ ΚΑΤΑΓΜΑ**ΠΛΗΡΗΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ
ΑΠΛΗ ΒΑΔΙΣΗ ΕΚΤΟΣ ΟΙΚΕΙΑΣ
ΒΑΔΙΣΗ ΕΝΤΟΣ ΟΙΚΕΙΑΣ
ΚΛΙΝΟΣΤΑΤΙΣΜΟΣ☐
☐
☐
☐**24 ΕΠΙΠΕΔΟ ΕΓΚΕΦΑΛΙΚΗΣ
ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑΣ**ΠΛΗΡΗΣ ΔΙΑΥΓΕΙΑ
ΜΕΡΙΚΗ ΔΙΑΤΑΡΑΧΗ
ΣΥΓΧΥΣΗ-ΕΛΛΕΙΨΗ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑΣ☐
☐
☐

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β

Failure in diagnosis and under-treatment of osteoporosis in elderly patients with fragility fractures

Sofia Bougioukli¹ · Panagoula Kollia² · Theodora Koromila² · Sokratis Varitimidis¹ · Michael Hantes¹ · Theofilos Karachalios¹ · Konstantinos N. Malizos¹ · Zoe H. Dailiana¹

Received: 22 January 2018 / Accepted: 24 March 2018

© The Japanese Society for Bone and Mineral Research and Springer Japan KK, part of Springer Nature 2018

Abstract

We evaluated whether osteoporosis is adequately managed and treated in patients suffering from fragility fractures. Factors that influenced osteoporosis diagnosis and treatment rates were also assessed. To this end, patients with the principal diagnosis of low-energy hip, vertebral, or distal radius fractures were recruited for the study. Collected data included risk factors for osteoporosis, history of previous fractures, known history of osteoporosis, and osteoporosis treatment at the time of admission. The patients' prefracture risk profile was also assessed to determine whether osteoporosis could have been identified prior to the index fracture. We identified 308 patients with fragility fractures, including 214 hip, 41 vertebral, and 53 distal radius fractures. Overall, 238 patients (77.3%) had at least one risk factor for osteoporosis. Eighty-eight patients (28.6%) had sustained ≥ 1 prior fragility fractures in the past. However, only 79 patients (25.6%) were aware that they had osteoporosis and even fewer (66 patients, 21.4%) had been receiving osteoporosis treatment preceding the current admission. Anti-osteoporotic agents were more commonly prescribed in patients 66–75 years old ($p=0.008$), with a family history of osteoporosis ($p=0.009$) or history of a prior fragility fracture ($p=0.012$). The treatment rate was higher in women than men ($p=0.026$) and in patients with vertebral or multiple prior fractures compared to patients with prior hip fractures. The current study provides evidence that individuals who experience fragility fractures are not adequately managed for osteoporosis. Only few of the historically known risk factors for osteoporosis were adequately recognized and associated with osteoporosis evaluation and treatment.

Keywords Fragility fracture · Osteoporosis · Osteoporosis risk assessment · Anti-osteoporotic treatment

Introduction

Osteoporosis and its subsequent fractures have been identified as a major public health problem in aging populations, since they are associated with increased morbidity, mortality, and healthcare costs. Due to the increasing life

expectancy, the incidence of osteoporosis-related fractures is expected to increase significantly. It has been estimated that the number of hip fractures occurring globally each year will rise from 1.66 million in 1990 to 6.26 million by 2050 [1]. At present, the lifetime risk for a fragility fracture at any site at the age of 50 is approximately 40–53% in women and 13–21% in men [2]. The risk of a future osteoporotic fracture increases significantly in patients with the previous low-energy fractures [3]. A systematic review and meta-analysis of the literature has demonstrated a 2.3-, 7.2-, and 1.8-fold increased risk of sustaining a future wrist, spine, and hip fracture, respectively, in patients with a history of fragility fracture at any site [4]. Other factors that have also been associated with an increased risk of osteoporotic fractures include but are not limited to age, female sex, low body mass index (BMI), premature menopause, family history of osteoporosis, co-morbidities related to secondary osteoporosis, low calcium intake, and smoking [5].

Electronic supplementary material The online version of this article (<https://doi.org/10.1007/s00774-018-0923-2>) contains supplementary material, which is available to authorized users.

✉ Zoe H. Dailiana
dailiana@med.uth.gr

¹ Department of Orthopaedic Surgery, Faculty of Medicine, University of Thessaly, 3 Panepistimiou St, Biopolis, 41500 Larissa, Greece

² Department of Genetics and Biotechnology, Faculty of Biology, National and Kapodistrian University of Athens, Athens, Greece

Published online: 17 April 2018

Springer

Despite the clear association between prior fragility fractures and subsequent osteoporotic fractures, the presence of adequate diagnostic methods in identifying patients at high risk of osteoporosis, and the availability of effective anti-osteoporotic treatment regimens, only a few patients with non-traumatic fractures undergo further evaluation and treatment for osteoporosis, to prevent the risk for a subsequent osteoporotic fracture [6, 7].

The aim of the present study was to assess the trends in evaluating and managing osteoporosis in patients presenting with fragility fractures, within a University tertiary referral hospital setting in Greece between 2007 and 2013. In addition, we investigated which factors influenced osteoporosis diagnosis and treatment rates.

In this study, we hypothesized that secondary fracture prevention services and initiatives like the International Osteoporosis Foundation's "fracture liaison service" [8] and the American Orthopaedic Association's "Own the Bone" [9] would be adopted by a growing number of hospitals and clinics in our country, with resultant improvement in rates of osteoporosis testing and treatment in high-risk populations as compared to prior studies in the US and Europe. We also hypothesized that the presence of well-established risk factors for osteoporosis would affect evaluation and treatment rates.

Materials and methods

Patient selection

Patients over 45 years of age who were admitted to the Department of Orthopaedic Surgery of a University hospital between 1/2007 and 2/2013 with the principal diagnosis of a fragility fracture of the distal radius, vertebral body, or proximal femur participated in this retrospective cohort study. Fragility fractures were defined as fractures that resulted from a fall from a standing height or less, or presented in the absence of obvious trauma, that would be insufficient to fracture a normal bone [10]. Patients were excluded if they had bone cancer, Paget's disease, osteomyelitis/septic arthritis, severe dementia, or were unwilling to participate in the study. The hospital's institutional review board reviewed and approved the protocol before the commencement of the study.

Data collection

Data were collected through patients' interviews during their hospitalization. An assessment of prefracture risk status was made to determine whether osteoporosis could have been identified prior to the index fracture. Obtained data included the patients' age, sex, site, and etiology of the

present fracture, risk factors for osteoporosis (Supplementary Table 1), prior history of osteoporosis, and/or fragility fractures and use of anti-osteoporotic medications. In cases of prior fragility fractures, the patients were asked whether they had undergone further evaluation for osteoporosis while hospitalized or during the follow-up visits following the primary fracture and whether anti-osteoporotic agents were prescribed. Clinical examination included height and weight measurement to assess BMI. Vertebral fractures were assessed clinically and radiographically using lateral plain radiographs of the spine to determine vertebral shape (wedge, concave, or crush) and height decreases in anterior, middle, and posterior vertebra as described by Genant et al. [11]. The FRAX tool was also used to calculate the 10-year probability of a major fracture or hip fracture alone for all patients aged < 90 years, based on the patients' risk factors prior to the index fracture, without the addition of BMD.

Definitions and diagnostic criteria

Late menarche was defined as the absence of menarche by age 15 [12]. Premature menopause was defined as the absence of menstruation for at least 12 months before the age of 40 years [13]. Any BMI < 20 kg/m² was defined as low. Corticosteroid use was considered a risk factor for osteoporosis in patients receiving orally administered glucocorticoids in a dose of at least 5 mg for longer than 2 months. The term diabetes mellitus (DM) was used interchangeably for DM type 1 and 2 as a risk factor for osteoporosis. We did not attempt to differentiate between DM type 1 and 2, since there is strong evidence in the literature in support of high fracture risk in both types of DM in elderly patients. Low dietary calcium intake was defined as a daily intake of calcium of < 500 mg [14]. Immobilization was recognized as a risk factor in patients with chronic paresis or hemiparesis/hemiplegia caused by trauma, poliomyelitis, multiple sclerosis, or cerebrovascular events [15].

Statistical analysis

Statistical analysis was performed with SPSS with the significance level set at 0.05. Demographic characteristics, presence of risk factors, and osteoporosis diagnosis/treatment rates preceding the index fracture were estimated overall and according to fracture site. Descriptive statistics are reported as the mean (and standard deviation) or the number (and percentage). One-way ANOVA and post hoc analysis with Bonferroni test were used to compare age, BMI, and menopause age between patients with different fracture types (hip, wrist, and spine). Independent samples *t* test was used for age and BMI comparisons between male and female patients and patients with or without history of osteoporosis treatment. Mann–Whitney *U* test and Kruskal–Wallis test were used for

comparisons in FRAX scores between patients with or without history of osteoporosis treatment and between patients with different fracture types, respectively. Chi-square tests were used for the rest of the calculations. A multivariate analysis, including only the variables with $p < 0.05$ in the univariate analysis, was performed to assess the factors that influenced osteoporosis treatment rates.

Results

General characteristics

A total of 308 patients (257 female, 51 male) with the principal diagnosis of fragility fracture of the hip, spine, or wrist met the eligibility criteria and were included in the study (Table 1). In detail, 214 patients had sustained a proximal femur fracture (69.5%), 41 a vertebral body fracture (13.3%), and 53 a distal radius fracture (17.2%). There was a significant difference in fracture site between males and females (hip 88.2 vs 65.8%, spine 7.8 vs 14.4%, wrist 4 vs 19.8%, respectively, $p = 0.003$). The overall mean age of the enrolled patients was 75.9 ± 11.5 years. Patients admitted with a hip fracture were significantly older than those with spine or wrist fractures ($p < 0.001$). No differences with respect to mean age were observed between male and female patients (78.7 ± 12.5 vs 75.9 ± 11.5 years, $p = 0.06$). In the female population, 255 patients were postmenopausal (mean age of menopause = 47.7 ± 6.3 years) and 2 peri-menopausal. No difference in the menopause age was seen between patients with different fracture types. The overall average BMI was 27 ± 4.8 kg/m², with hip fracture patients having a significantly lower BMI ($p = 0.001$).

Prior history of fractures

Of the 308 patients, 88 (28.6%) had sustained a prior non-traumatic fracture, including 37 hip, 10 vertebral, 13 wrist, and 17 other (proximal humerus, calcaneus, distal femur,

etc.) fragility fractures. Eleven patients (all of them in the hip fracture group) had sustained more than one previous fragility fractures. There was no association between the presence of a prior osteoporotic fracture and gender ($p = 0.117$). However, there was an association between the present fracture site and the history of a previous osteoporotic fracture; patients with hip fractures had a higher prevalence of fragility fracture history compared to patients with the other two fracture types ($p = 0.029$). The most common prior fracture type was a contralateral hip fracture in the hip group (49.3%), vertebral body fracture in the spine group (62.5%), and contralateral distal radius fracture in the wrist group (88.9%) (Supplementary Figure).

Other risk factors for osteoporosis

The majority of patients (238/308, 77.3%) reported at least one risk factor for osteoporosis. The most commonly reported risk factors in decreasing order were low calcium nutrition, diabetes mellitus, family history of osteoporosis, use of osteoporosis-associated medications, and thyroid disorders (Table 2). No difference was observed between patients admitted for different fragility fractures with respect to the presence of risk factors in general. However, there were certain differences when examining the different risk factors individually. Patients with a distal radius fracture reported family history of osteoporosis more often compared to hip fracture patients (32.1 vs 11.2%, $p < 0.001$). On the other hand, diabetes mellitus and prolonged immobilization were significantly more common in hip versus wrist fracture patients (22 vs 9.4%, $p = 0.036$ and 15 vs 3.8%, $p = 0.035$). Moreover, significant differences were noted in the FRAX scores when comparing patients admitted with hip fractures to the other two groups. In detail, patients in the hip fracture group had a higher 10-year probability of a major fracture ($21.8 \pm 13.2\%$) and hip fracture ($13.2 \pm 12.2\%$) versus wrist ($p < 0.001$) and vertebra ($p = 0.001$) fracture patients (Table 1).

Table 1 Patient demographics overall and by fracture type

Characteristic	Fracture type			Overall
	Hip	Spine	Distal radius	
No of patients (%)	214 (69.5%)	41 (13.3%)	53 (17.2%)	308
Sex				
Male	45 (88%)	4 (7.8%)	2 (3.9%)	51 (16.6%)
Female	169 (65.8%)	37 (14.4%)	51 (19.8%)	257 (83.4%)
Age (mean $\pm$ SD)	79.6 ± 10	69.5 ± 9.4	66 ± 10.7	75.9 ± 11.5
Age of menopause (mean $\pm$ SD)	47.8 ± 6.3	47.9 ± 6.4	47.3 ± 6.3	47.7 ± 6.3
BMI (mean $\pm$ SD)	26.1 ± 4.4	29.1 ± 5.9	28.8 ± 4.4	27 ± 4.8
FRAX-major fracture	21.8 ± 13.2	14.2 ± 9.7	12.9 ± 10	19.1 ± 12.8
FRAX-hip fracture	13.2 ± 12.2	6.3 ± 6.9	5.5 ± 7.7	10.8 ± 11.4

Table 2 Risk factors for osteoporosis in the study population overall and by fracture type

Risk factors for osteoporosis	Fracture type			Overall
	Hip	Spine	Distal radius	
Any risk factor	168 (78.5%)	30 (73.2%)	40 (75.5%)	238 (77.3%)
Genetic/constitutional				
Previous fragility fracture	71 (33%)	8 (19.5%)	9 (17%)	88 (28.6%)
Family history of osteoporosis	24 (11.2%)	8 (19.5%)	17 (32.1%)	49 (15.6%)
Late menarche	20 (9.3%)	6 (14.6%)	7 (13.2%)	33 (10.7%)
Premature menopause	20 (9.3%)	4 (9.8%)	8 (15.1%)	32 (10.4%)
Concomitant disorders				
Thyroid disease	25 (11.6%)	5 (12.2%)	10 (18.9%)	40 (13%)
Chronic renal failure	8 (3.7%)	0	0	8 (2.6%)
Rheumatoid arthritis	6 (2.8%)	1 (2.4%)	2 (3.8%)	9 (2.9%)
Endocrinopathies and autoimmune disorders	7 (3.3%)	4 (9.8%)	1 (1.9%)	12 (3.9%)
Chronic obstructive lung disease	11 (5.1%)	1 (2.4%)	1 (1.9%)	13 (4.2%)
Diabetes mellitus	47 (22%)	4 (9.8%)	5 (9.4%)	56 (18.2%)
Prolonged immobilization	32 (15%)	4 (9.8%)	2 (3.8%)	38 (12.3%)
Medications				
Corticosteroids	30 (14%)	2 (4.9%)	3 (5.7%)	35 (11.4%)
Other (PPIs, heparin, antiepileptics, etc.)	29 (13.6%)	7 (17.1%)	5 (9.4%)	41 (13.3%)
Lifestyle				
Low dietary calcium intake	59 (27.6%)	7 (17.1%)	8 (15.1%)	74 (24%)
Nulliparity	16 (7.5%)	5 (12.2%)	3 (5.7%)	24 (7.8%)
Smoking	24 (11.2%)	7 (17.1%)	7 (13.2%)	38 (12.3%)
Low BMI ($\leq 20 \text{ kg/m}^2$)	18 (8.4%)	1 (2.4%)	2 (3.8%)	21 (6.8%)

Management of osteoporosis preceding the present fracture

At the time of admission, only 79 patients (25.6%) were aware that they had osteoporosis. Sixty six of them were on anti-osteoporotic treatment and reported compliance and adherence to their osteoporosis medication. Supplements of calcium/vitamin D were the most commonly used (40.9%), closely followed by bisphosphonates (39.4%). Other prescribed agents were calcitonin (12.1%), parathyroid hormone (PTH) (1.5%), strontium ranelate (1.5%), and raloxifene (1.5%). Two patients were on multiple anti-osteoporotic drugs (Fig. 1B). The rest of the diagnosed, but not currently treated patients (13/79) were either not prescribed treatment at all or were initiated on osteoporosis therapy, but discontinued therapy by themselves fairly soon after initiation (<6 months). Thus, the patients that reported discontinuation of the anti-osteoporosis medications were considered non-treated and included in the “diagnosed, but not treated” group (Fig. 1a).

Patients receiving treatment for osteoporosis were significantly younger compared to those not treated ($p=0.026$). Furthermore, women were more likely to have received diagnosis/treatment for osteoporosis compared to men. In detail, 29.6% of women were previously diagnosed with osteoporosis and 24.5% (63/257) were receiving treatment,

whereas only 6% of the men had documented osteoporosis with proper therapy ($p<0.001$ and $p=0.002$, respectively). There was no association between osteoporosis treatment and BMI or menopause age (Table 3). FRAX scores for major fractures or hip fracture alone did not differ significantly ($p>0.05$) between treated and not treated patients (Table 3).

Patients with the previous fractures were more likely to have a documented diagnosis of osteoporosis and subsequent anti-osteoporotic treatment compared to patients without prior fractures (diagnosis 34.1 vs 22.5%, $p=0.036$; treatment 31.8 vs 17.4%, $p=0.006$). An association was also observed between the prior fracture site and osteoporosis treatment ($p=0.012$); treatment was initiated in 22% of patients with prior hip fractures, 62.5% with previous vertebral fractures, 57% with known wrist fractures, 18% with other fractures, and 75% with multiple osteoporotic fractures. As per the rest of the risk factors, only few of them were associated with higher rates of osteoporosis management, namely corticosteroid use, and family history of osteoporosis (Table 4).

The statistically significant results of the univariate analysis were used as the independent variables in the multivariate logistic regression model. Through the multivariate analysis, we identified 6 characteristics that were independently associated with the likelihood of receiving anti-osteoporotic treatment: age, sex, history of prior

Fig. 1 Management of osteoporosis in patients with low-energy or non-traumatic fractures of the hip, spine or distal radius prior to admission. Previous diagnosis and treatment of osteoporosis is pre-

sented overall and by fracture type (a). Treatment agents by fracture site are also given (b). *Pts* patients, *PTH* parathyroid hormone

Table 3 Univariate analysis of numerical variables between previously treated and non-treated patients

Characteristic	Previous osteoporosis treatment		<i>p</i> value
	Yes	No	
	N=66	N=242	
Age	73 ± 10.7	76.6 ± 11.6	0.026
BMI	27.3 ± 3.8	26.9 ± 5	0.456
Menopause age	48.1 ± 5.4	47.6 ± 6.6	0.557
FRAX-major fracture	22.2 ± 14.7	18.3 ± 12.2	0.072
FRAX-hip fracture	12.2 ± 13.8	10.4 ± 10.6	0.645

fractures, prior fracture site, diabetes mellitus, and family history of osteoporosis (Table 5). In detail, women were 4 times more likely to receive treatment compared to men (OR 4.28; 95% CI 1.19–15.4). Moreover, patients 66–75 years old were 4 times more likely to receive treatment compared to patients > 86 years (OR 4.60; 95% CI 1.50–14.11). Increased odds of receiving anti-osteoporotic agents were also observed in patients with prior fragility fractures (OR 2.32; 95% CI 1.20–4.48) and family history of osteoporosis

(OR 2.71, 95% CI 1.28–5.76) after controlling for other factors. The treatment rate was particularly high in patients with vertebral (OR 5.83; 95% CI 1.07–31.76) or multiple prior fractures (OR 10.50, 95% CI 1.67–66.09) compared to patients with prior hip fractures. Finally, patients with diabetes were less likely to have received treatment for osteoporosis compared to patients without diabetes (OR 0.27, 95% CI 0.09–0.79).

Discussion

Several clinical factors have been associated in the literature with an increased risk for osteoporosis and subsequent fragility fractures, in part independently of BMD. In our series, 77.3% of the enrolled patients had ≥ 1 known risk factors for osteoporosis and 28.6% of them reported ≥ 1 non/low-traumatic fractures during adulthood, preceding the current admission. Regarding the site of prior fracture and the index fracture, there was a remarkable predilection for the involvement of the same (spine) or contralateral (hip and distal radius) site. This observation is consistent with what

Table 4 Univariate analysis of categorical variables in patients treated or not treated for osteoporosis at the time of admission

Studied factors	Osteoporosis treatment <i>N</i> = 66	No osteoporosis treatment <i>N</i> = 242	RR (95% CI)	<i>p</i> value
Sex				
Female	63 (95.5%)	194 (80.2%)	4.081 (1.34–12.5)	0.002
Male	3 (4.5%)	48 (19.8%)	0.245 (0.08–0.75)	0.002
Any risk factor	56 (84.8%)	182 (75.2%)	1.6 (0.86–2.97)	0.119
Previous fragility fracture	28 (42.4%)	60 (24.8%)	1.82 (1.52–2.78)	0.006
Family history of osteoporosis	19 (28.8%)	30 (12.4%)	2.13 (1.38–3.29)	0.001
Late menarche	7 (10.6%)	26 (10.7%)	0.86 (0.43–1.73)	0.674
Premature menopause	6 (9.1%)	26 (10.7%)	0.75 (0.35–1.60)	0.440
Thyroid disease	11 (16.7%)	29 (12%)	1.34 (0.77–2.33)	0.322
Chronic renal failure	2 (3%)	6 (2.5%)	1.16 (0.34–3.94)	0.684
Rheumatoid arthritis	4 (6.1%)	5 (2.1%)	1 (0.97–4.59)	0.104
Endocrinopathies and autoimmune	5 (7.6%)	7 (2.9%)	2.02 (1–4.08)	0.083
Chronic obstructive lung disease	2 (3%)	11 (4.5%)	0.71 (0.19–2.58)	0.742
Diabetes mellitus	5 (7.6%)	51 (21.1%)	0.37 (0.15–0.87)	0.011
Prolonged immobilization	8 (12.1%)	30 (12.4%)	0.98 (0.5–1.89)	0.943
Corticosteroids	13 (19.7%)	22 (9.1%)	1.9 (1.16–3.13)	0.017
Other relevant drugs	8 (12.1%)	33 (12.4%)	1.01 (0.54–1.89)	0.971
Low dietary calcium intake	14 (21.2%)	60 (24.8%)	0.97 (0.59–1.96)	0.900
Nulliparity	5 (7.6%)	19 (7.9%)	0.97 (0.46–2.02)	0.925
Smoking	8 (12.1%)	30 (12.4%)	0.97 (0.5–1.87)	0.925
Low BMI (≤ 20 kg/m ²)	2 (3%)	19 (7.9%)	0.43 (0.11–1.62)	0.269

has been reported in the literature. Johnell et al. demonstrated that a prior hip fracture was a significant risk factor for a new hip fracture in both men and women [16]. Klotzbuecher et al. reported a relationship between prior vertebral fractures and future fractures, with the association being the strongest for subsequent vertebral fractures (RR 4.4, 95% CI 3.6–5.4 for peri/postmenopausal women and RR 19, 95% CI 6.5–55.3 for other patient populations) [4]. Moreover, it has been shown that wrist fractures are strong predictors of subsequent wrist fractures (RR 3.3, 95% CI 2.0–5.3) compared to other fracture sites in peri/postmenopausal women [4].

Despite the presence of several clinical risk factors historically known to contribute to fracture risk, including prior fragility fractures, and significantly high FRAX scores, osteoporosis was poorly recognized prior to the present admission. The current study suggests that the management of osteoporosis in patients admitted with fragility fractures is not adequate in our country. At the time of admission, only 21.4% of the patients were aware that they had osteoporosis and were on anti-osteoporosis medications, despite the fact that most of them were at high risk for osteoporosis. This treatment rate is similar to what has been reported in the literature. A retrospective study conducted in Ontario in 2000 showed that patients with fragility fractures had a treatment rate of 18.5% prior to the index fracture [6]. Furthermore, a nationwide survey in Switzerland identified a treatment rate

of 23.2% in patients > 50 years of age admitted for fragility fractures [17], with a more recent study in Italy reporting a treatment rate of 22.5% in patients ≥ 65 years old hospitalized with low-energy hip fractures [18]. What is also interesting is the fact that there is no significant difference in the treatment rates of osteoporosis between the aforementioned studies (including our own), despite the fact that they were all done at different time points more than 10–15 years apart. This indicates that little progress has been made in improving clinical practice patterns for osteoporosis management in high-risk patients, despite the fact that there are universally acceptable screening policies to identify patients at high-risk and effective treatment options for osteoporosis.

Regarding the type of treatment received, only some of the treated patients were on optimal therapy for osteoporosis significantly reducing the risk of vertebral, hip, and other non-vertebral fractures (bisphosphonates, strontium ranelate, or combination therapy), whereas the remaining patients were most likely undertreated (e.g., calcium and vitamin D alone, PTH alone, and raloxifene). Calcium and vitamin D supplements alone are usually insufficient to prevent osteoporosis-related fractures especially in low doses (daily supplementation with < 400 IU of vitamin D3 and < 1000 mg of calcium) [19]. However, they may be beneficial in patients > 65 years of age at increased risk for falls, or with calcium or vitamin D insufficiency or when

Table 5 Multivariate logistic regression analysis on factors that may affect the receipt of anti-osteoporotic treatment prior to admission

Characteristic	Odds ratio (95% CI)	<i>p</i> value
Sex		
Male	1.00 (Ref)	
Female	4.28 (1.19–15.40)	0.026
Age group		
< 55	1.30 (0.22–7.62)	0.774
56–65	2.41 (0.68–8.54)	0.173
66–75	4.60 (1.50–14.11)	0.008
76–85	1.66 (0.55–5.00)	0.368
> 86	1.00 (Ref)	
Prior fragility fracture		
Yes	2.32 (1.20–4.48)	0.012
No	1.00 (Ref)	
Prior fracture site		
Hip	1.00 (Ref)	
Wrist	4.67 (0.81–26.87)	0.085
Spine	5.83 (1.07–31.76)	0.041
Other	0.778 (0.13–4.62)	0.782
Multiple	10.50 (1.67–66.09)	0.012
Corticosteroid use		
Yes	2.25 (0.83–6.06)	0.110
No	1.00 (Ref)	
Diabetes mellitus		
Yes	0.27 (0.09–0.79)	0.016
No	1.00 (Ref)	
Family history		
Yes	2.71 (1.28–5.76)	0.009
No	1.00 (Ref)	

combined with an antiresorptive or anabolic agent [20]. PTH has been shown to decrease the risk of vertebral fractures, but, to date, has no clear measurable effect in non-vertebral fractures [21]. Raloxifene reduces bone turnover, prevents bone loss, and diminishes the vertebral fracture risk without modifying the risk of non-vertebral fractures. Calcitonin has been shown to reduce bone loss, but no safe conclusions regarding its fracture prevention efficacy can be made [22]. Finally, strontium ranelate, an agent approved in Europe for the treatment of postmenopausal osteoporosis, has been proven to be effective in improving bone strength and preventing vertebral and non-vertebral fractures. Concerns about cardiac safety have led to a recommendation issued by European Medicines Agency for restriction of strontium use only in postmenopausal women or men with severe osteoporosis and increased risk of fracture [23].

Our study also identified predictors of receiving osteoporosis treatment preceding the index fracture. The most likely recipients of anti-osteoporotic drugs were women, patients 66–75 years of age, with a family history of osteoporosis, or

a history of prior fragility fractures, especially in the spine or multiple sites. On the contrary, older age (> 86 years), certain prior fragility fractures, and diabetes were inversely related to the likelihood of receiving pharmacological treatment.

The low rate of osteoporosis diagnosis/treatment in men observed in our study is consistent with what has been previously reported in the literature, with treatment rates ranging from 0 to 15% [24–26]. Surprisingly, it seems that there is still the misconception that osteoporosis is a women's disorder only, despite the several studies demonstrating the problem of osteoporosis in male patients and the higher mortality rate associated with all fragility fractures in men compared to women [27]. Another observation is that patients over 86 years of age received poor osteoporosis treatment, although the risk for all major fragility fractures increases significantly with advancing age [28, 29]. This could be related to the fact that elderly patients usually have complex medical histories with multiple co-morbidities and polypharmacy. Prescribing additional medications to elderly patients with polypharmacy might increase the risk of drug–drug interactions, adverse effects, and patient non-adherence [30].

It is also interesting to note that anti-osteoporosis treatment was initiated in only 22% of patients with prior hip fractures compared to the significantly higher treatment rates in patients with wrist or spine fractures. These results fall within the range that has been reported in the literature, with treatment rates following a hip fracture varying from 6 to 22.5% in other European countries [18, 25, 31]. One possible reason could be the belief of many healthcare providers that, once a hip fracture has occurred, it is way too late to alter the progression of the disease. This is particularly true for elderly individuals, who tend to present with these fractures, as compared to the younger patients that usually suffer from distal radius or vertebra fractures and have a higher chance of getting adequate treatment. Another obstacle in properly addressing osteoporosis in hip fracture patients could be the increasing reports for the association of bisphosphonates with atypical femoral fractures. The result of such reports was to make physicians even more reluctant to administer anti-osteoporosis medication. Low treatment rates were also seen in patients with non-hip/non-vertebral fragility fractures (excluding wrist fractures). In general, fragility fractures in sites other than the hip, spine, or wrist tend to be perceived as irrelevant to osteoporosis and thus are not further evaluated, even though there is strong evidence to support the contrary [4, 29].

Finally, diabetes mellitus was not recognized as a risk factor for osteoporosis; on the contrary, it was inversely related to the likelihood of receiving anti-osteoporosis treatment. The rest of the well-known risk factors for osteoporosis did not seem to affect the evaluation and treatment rate in any way, further supporting the hypothesis that there is a gap in

osteoporosis care even in high-risk patients. These observations represent either lack of knowledge or poor strategies in translating knowledge into diagnostic and therapeutic practices for osteoporosis.

In 2005, the American Orthopaedic Association launched the secondary prevention program “Own the Bone” to educate physicians and patients on the importance of osteoporosis screening and treatment in individuals with fragility fractures. To date, “Own the Bone” has been implemented in 220 institutions in the USA, leading to significant improvements in the management of osteoporosis postfracture [9]. More recently, the Fracture Working Group of the International Osteoporosis Foundation published a paper describing coordinator-based systems for secondary prevention services in patients suffering from osteoporosis-related fractures [32]. This initiative aims to close the secondary fracture prevention care gap by identifying patients presenting with fragility fractures and coordinating their care for proper evaluation of fracture risk, further assessment, and recommendation of appropriate treatment. The fracture liaison service (FLS) model was originally designed in the UK [8], but, since then, has been implemented in many countries in Europe, Australia, and the USA. Despite the promising preliminary results with regards to osteoporosis intervention rates, reduction in refracture risk, reduced mortality, and cost-effectiveness [33] in certain reference centers, further work needs to be done. Such intervention programs need to be implemented in a larger scale internationally to help change physicians’ behavior and positively impact osteoporosis treatment rates and incidence of future fragility fractures.

There are several limitations to our study. First, this study was done in a single hospital, and thus, the results may not be easily generalizable to the whole country’s population. However, this hospital is the only tertiary referral center in the central part of the country covering a population of ~ 1.5 million people. Another limitation is the relatively small sample size for spine and wrist fractures compared to the hip fracture patients. In the present study, only inpatients with fragility fractures were recruited. However, most vertebral and distal radius fractures are managed in the emergency room or in the outpatient clinic, in contrast to hip fractures that are always admitted. Finally, BMD was not included in the statistical analysis, since DEXA results were available only in 83/308 patients at the time of admission.

Our study builds upon the findings previously reported in the literature, providing recent data for a Greek population of both male and female patients with different fragility fractures. To our knowledge, this is the first study ever conducted in a homogeneous subpopulation of osteoporotic patients in Greece to determine whether osteoporosis is adequately managed and treated in patients suffering from fragility fractures. Our analysis also provides important insights into the various parameters that may affect the physicians’ decision

to treat in the respective country. It is also one of the few studies that have been done internationally after the implementation of initiatives like the International Osteoporosis Foundation’s “fracture liaison service” and the American Orthopaedic Association’s “Own the Bone”. Interestingly, our diagnosis/treatment rates were similar to the previous reports, suggesting that there has been no noticeable improvement in recent years, despite the emphasis in secondary fracture prevention services.

In conclusion, the current study provides evidence that the management of osteoporosis in individuals who experience fragility fractures is inadequate, despite the fact that the majority of them have at least one known risk factor for osteoporosis, including prior fragility fractures. Factors such as age, sex, family history of osteoporosis, and prior fragility fractures may influence the patient’s likelihood of receiving osteoporosis evaluation and treatment prior to the index fracture, whereas other risk factors are widely disregarded or poorly recognized as relevant to osteoporosis. Interventions to improve rates of risk assessment, early diagnosis, and use of anti-osteoporotic medications are necessary to reverse the current poor trend in osteoporosis care. Physicians need to realize that targeting high-risk patients is critical; adequate osteoporosis management can decrease the risk for a subsequent osteoporotic fracture and its associated personal, social, and economic burden.

Acknowledgements The authors would like to thank Dr. Antonios Koutalos for his invaluable assistance with patient interviews.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest The authors declare no conflicts of interest.

Ethical approval The study has been approved by the University’s institutional research board and has been performed in accordance with the ethical standards as laid down in the 1964 Declaration of Helsinki and its later amendments.

References

1. Cooper C, Campion G, Melton LJ III (1992) Hip fractures in the elderly: a world-wide projection. *Osteoporos Int* 2:285–289
2. Johnell O, Kanis J (2005) Epidemiology of osteoporotic fractures. *Osteoporos Int* 16:S3–S7
3. Center JR, Bliuc D, Nguyen TV, Eisman JA (2007) Risk of subsequent fracture after low-trauma fracture in men and women. *JAMA* 297:387–394
4. Klotzbuecher CM, Ross PD, Landsman PB, Abbott TA III, Berger M (2000) Patients with prior fractures have an increased risk of future fractures: a summary of the literature and statistical synthesis. *J Bone Miner Res* 15:721–739
5. Kanis JA (2002) Diagnosis of osteoporosis and assessment of fracture risk. *Lancet* 359:1929–1936

6. Hajcsar EE, Hawker G, Bogoch ER (2000) Investigation and treatment of osteoporosis in patients with fragility fractures. *CMAJ* 163:819–822
7. Elliot-Gibson V, Bogoch ER, Jamal SA, Beaton DE (2004) Practice patterns in the diagnosis and treatment of osteoporosis after a fragility fracture: a systematic review. *Osteoporos Int* 15:767–778
8. McLellan AR, Gallacher SJ, Fraser M, McQuillan C (2003) The fracture liaison service: success of a program for the evaluation and management of patients with osteoporotic fracture. *Osteoporos Int* 14:1028–1034
9. Bunta AD, Edwards BJ, Macaulay WB Jr, Jeray KJ, Tosi LL, Jones CB, Sietsema DL, Kaufman JD, Murphy SA, Song J, Goulet JA, Friedlaender GE, Swiontkowski MF, Dirschl DR (2016) Own the bone, a system-based intervention, improves osteoporosis care after fragility fractures. *J Bone Jt Surg Am* 98:e109
10. World Health Organization (1998) Guidelines for preclinical evaluation and clinical trials in osteoporosis. <http://apps.who.int/iris/handle/10665/42088>. Accessed 28 Feb 2018
11. Genant HK, Wu CY, van Kuijk C, Nevitt MC (1993) Vertebral fracture assessment using a semiquantitative technique. *J Bone Miner Res* 8:1137–1148
12. Tuppurainen M, Kröger H, Saarikoski S, Honkanen R, Alhava E (1995) The effect of gynecological risk factors on lumbar and femoral bone mineral density in peri- and postmenopausal women. *Maturitas* 21:137–145
13. Shuster LT, Rhodes DJ, Gostout BS, Grossardt BR, Rocca WA (2010) Premature menopause or early menopause: long-term health consequences. *Maturitas* 65:161–166
14. Prentice A (2004) Diet, nutrition and the prevention of osteoporosis. *Public Health Nutr* 7:227–243
15. Epstein S, Inzerillo AM, Caminis J, Zaidi M (2003) Disorders associated with acute rapid and severe bone loss. *J Bone Miner Res* 18:2083–2094
16. Johnell O, Kanis JA, Odén A, Sernbo I, Redlund-Johnell I, Pettersson C, De Laet C, Jönsson B (2004) Fracture risk following an osteoporotic fracture. *Osteoporos Int* 15:175–179
17. Suhm N, Lamy O, Lippuner K, OsteoCare study group (2008) Management of fragility fractures in Switzerland: results of a nationwide survey. *Swiss Med Wkly* 138:674–683
18. Ruggiero C, Zampi E, Rinonapoli G, Baroni M, Serra R, Zengarini E, Baglioni G, Duranti G, Ercolani S, Conti F, Caraffa A, Mecocci P, Brandi ML (2015) Fracture prevention service to bridge the osteoporosis care gap. *Clin Interv Aging* 10:1035–1042
19. USPSTF (2016) Final Recommendation Statement. Vitamin D and calcium to prevent fractures: preventive medication. <http://www.uspreventiveservicestaskforce.org/Page/Document/RecommendationStatementFinal/vitamin-d-and-calcium-to-prevent-fractures-preventive-medication>. Accessed 18 Oct 2016
20. Boonen S, Vanderschueren D, Haentjens P, Lips P (2006) Calcium and vitamin D in the prevention and treatment of osteoporosis—a clinical update. *J Intern Med* 259:539–552
21. Neer RM, Arnaud CD, Zanchetta JR, Prince R, Gaich GA, Reginster JY, Hodsman AB, Eriksen EF, Ish-Shalom S, Genant HK, Wang O, Mitlak BH (2001) Effect of parathyroid hormone (1–34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 344:1434–1441
22. Joffe HV (2013) Calcitonin salmon for the treatment of postmenopausal osteoporosis. Silver spring (MD): FDA; <http://www.fda.gov/downloads/AdvisoryCommittees/CommitteesMeetingMaterials/Drugs/ReproductiveHealthDrugsAdvisoryCommittee/UCM343748.pdf>. Accessed 21 Jan 2017
23. European Medicines Agency's Committee for Medicinal Products for Human Use (2013) Recommendation to restrict the use of Protelos/Osseor (strontium ranelate). http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/news_and_events/news/2013/04/news_detail_001774.jsp&mid=WCOb01ac058004d5c1. Accessed 5 Mar 2018
24. Hawker G, Ridout R, Ricupero M, Jaglal S, Bogoch E (2003) The impact of a simple fracture clinic intervention in improving the diagnosis and treatment of osteoporosis in fragility fracture patients. *Osteoporos Int* 14:171–178
25. Panneman MJ, Lips P, Sen SS, Herings RM (2004) Undertreatment with anti-osteoporotic drugs after hospitalization for fracture. *Osteoporos Int* 15:120–124
26. Balasubramanian A, Tosi LL, Lane JM, Dirschl DR, Ho PR, O'Malley CD (2014) Declining rates of osteoporosis management following fragility fractures in the U.S., 2000 through 2009. *J Bone Jt Surg Am* 96:e52
27. Center JR, Nguyen TV, Schneider D, Sambrook PN, Eisman JA (1999) Mortality after all major types of osteoporotic fracture in men and women: an observational study. *Lancet* 353:878–882
28. Ensrud KE (2013) Epidemiology of fracture risk with advancing age. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 68:1236–1242
29. Ahmed LA, Center JR, Bjørnerem A, Bluic D, Joakimsen RM, Jørgensen L, Meyer HE, Nguyen ND, Nguyen TV, Omsland TK, Størmer J, Tell GS, van Geel TA, Eisman JA, Emaus N (2013) Progressively increasing fracture risk with advancing age after initial incident fragility fracture: the Tromsø study. *J Bone Miner Res* 28:2214–2221
30. Maher RL, Hanlon J, Hajjar ER (2014) Clinical consequences of polypharmacy in elderly. *Expert Opin Drug Saf* 13:57–65
31. Rabenda V, Vanoverloop J, Fabri V, Mertens R, Sumkay F, Vannecke C, Deswaef A, Verpooten GA, Reginster JY (2008) Low incidence of anti-osteoporosis treatment after hip fracture. *J Bone Jt Surg Am* 90:2142–2148
32. Marsh D, Akesson K, Beaton DE, Bogoch ER, Boonen S, Brandi ML, McLellan AR, Mitchell PJ, Sale JE, Wahl DA, IOF CSA Fracture Working Group (2011) Coordinator-based systems for secondary prevention in fragility fracture patients. *Osteoporos Int* 22:2051–2065
33. Walters S, Khan T, Ong T, Sahota O (2017) Fracture liaison services: improving outcomes for patients with osteoporosis. *Clin Interv Aging* 10:117–127