ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

Τμήμα Επιστήμης Διατροφής και Διαιτολογίας

Διδακτορική Διατριβή

Κανελλάκη Σπυρίδωνα, MSc

Θέμα:

«Σχεδιασμός, υλοποίηση και αξιολόγηση προγράμματος διατροφικής παρέμβασης διάρκειας 12 μηνών σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες: αλλαγές σε δείκτες οστικού μεταβολισμού και οστικής πυκνότητας»

Αθήνα, Ιούλιος 2013

Τριμελής Επιτροπή:

Μανιός Ιωάννης, Επίκουρος Καθηγητής Διατροφικής Αγωγής και Αξιολόγησης

Τμήμα Επιστήμης Διατροφής και Διαιτολογίας, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Σκοπούλη Φωτεινή, Καθηγήτρια Παθολογίας - Ανοσολογίας

Τμήμα Επιστήμης Διατροφής και Διαιτολογίας, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Παπαϊωάννου Νικόλαος, Αναπληρωτής Καθηγητής Ορθοπεδικής, Πανεπιστημίου Αθηνών

Διευθυντής Εργαστηρίου Έρευνας Μυοσκελετικού Συστήματος

Επταμελής επιτροπή:

Μανιός Ιωάννης, Επίκουρος Καθηγητής Διατροφικής Αγωγής και Αξιολόγησης, Τμήμα Επιστήμης Διατροφής και Διαιτολογίας, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Σκοπούλη Φωτεινή, Καθηγήτρια Παθολογίας – Ανοσολογίας, Τμήμα Επιστήμης Διατροφής και Διαιτολογίας, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

Παπαϊωάννου Νικόλαος, Αναπληρωτής Καθηγητής Ορθοπεδικής, Πανεπιστημίο Αθηνών

Ζαμπέλας Αντώνης, Καθηγητής Τμ. Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Καψοκεφάλου Μαρία, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια, Τμ. Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Φραγκιαδάκης Γεώργιος, Αναπληρωτής Καθηγητής Τμ. Διατροφής και Διαιτολογίας του Α.Τ.Ε.Ι Κρήτης

Τέντα Ρωξάνη, Επίκουρη Καθηγήτρια Τμ. Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο

European Union
European Social Fund

OPERATIONAL PROGRAMME
EDUCATION AND LIFELONG LEARNING
investing in knowledge society
MINISTRY OF EDUCATION & RELIGIOUS AFFAIRS, CULTURE & SPORTS
MANAGING AUTHORITY

NSRF 2007-2013
programme for development
EUROPEAN SOCIAL FUND

Co-financed by Greece and the European Union

This research has been co-financed by the European Union (European Social Fund – ESF) and Greek national funds through the Operational Program "Education and Lifelong Learning" of the National Strategic Reference Framework (NSRF) - Research Funding Program: Heracleitus II. Investing in knowledge society through the European Social Fund.

Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο

ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ
επένδυση στην κοινωνία της γνώσης
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ, ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

ΕΣΠΑ 2007-2013
πρόγραμμα για την ανάπτυξη
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

Η παρούσα έρευνα έχει συγχρηματοδοτηθεί από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο - ΕΚΤ) και από εθνικούς πόρους μέσω του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» του Εθνικού Στρατηγικού Πλαισίου Αναφοράς (ΕΣΠΑ) – Ερευνητικό Χρηματοδοτούμενο Έργο: Ηράκλειτος ΙΙ . Επένδυση στην κοινωνία της γνώσης μέσω του Ευρωπαϊκού Κοινωνικού Ταμείου.

Αντί προλόγου…

"There are but two roads that lead to an important goal and to the doing of great things: strength and perseverance. Strength is the lot of but a few privileged men; but austere perseverance, harsh and continuous, may be employed by the smallest of us and rarely fails of its purpose, for its silent power grows irresistibly greater with time."

— Johann Wolfgang von Goethe, Faust

Ευχαριστίες

Ξεκινώντας αυτή τη διατριβή δεν μπορούσα να φανταστώ πόσο δύσκολο και επίπονο μπορεί να είναι, πάντα όμως θυμώνουν τα λόγια ενός φίλου "Το σημαντικότερο είναι να κρατήσουμε το καλύτερο κομμάτι της ψυχής μας αλώβητο..".

Για αυτό το ταξίδι θα ήθελα να ευχαριστήσω, μέσα από καρδιάς, όλους αυτούς που με στήριξαν για να το πραγματοποιήσω:

Τον εισηγητή μου **Αναπληρωτή Καθηγητή Δρ Ιωάννη Μανιό** που με εμπιστεύτηκε και μου έδωσε το εισιτήριο να το πραγματοποιήσω, καθώς και για τις πολύτιμες συμβουλές του σε όλες τις κρίσιμες στιγμές.

Τα μέλη τις τριμελούς επιτροπής **Καθηγήτρια Δρ Σκοπούλη Φωτεινή** και τον **Αναπληρωτή Καθηγητή Δρ Παπαϊωάννου Νικόλαο** για τη βοήθεια που μου έδωσαν όποτε ζήτησα τη συμβουλή τους.

Το **Δρ. Μοσχώνη Γεώργιο** για την υποστήριξή που μου παρείχε μέσα από την μεγάλη του εμπειρία αλλά και τη ψυχολογική ενίσχυση σε όλες τις δύσκολες στιγμές.

Τον **Αναπληρωτή Καθηγητή Δρ. Φραγκιαδάκη Γεώργιο** για τις καθοριστικές συμβουλές που μου έδωσε όποτε τις ζήτησα.

Τέλος τους γονείς μου **κ. Σταυρούλα Κανελλάκη** και **κ. Λεωνίδα Κανελλάκη** τον αδερφό μου **κ. Κωνσταντίνο Κανελλάκη** και την **κ. Ευαγγελία Μπουντουβή** για την αστείρευτη ψυχολογική υποστήριξη που μου έδωσαν.

Το ταξίδι συνεχίζεται…

Περιεχόμενα

Περίληψη 7

Abstract 9

Πινάκας Συντμήσεων: 11

1. Εισαγωγή 12

1.1 Επιδημιολογικά στοιχεία για την οστεοπόρωση 12

1.2 Ορισμός οστεοπόρωσης 13

1.3 Οστίτης ιστός 14

1.3.2 Κύτταρα οστίτη ιστού 15

1.4 Οστικός μεταβολισμός 17

1.5 Παράγοντες Κινδύνου 21

1.5.1 Τροποποιήσιμες συμπεριφορές 23

1.6 Ανασκόπηση Βιβλιογραφίας - Αναφορά σε μελέτες συνδυαστικής χορήγησης συμπληρωμάτων/ εμπλουτισμένων προϊόντων παράλληλα με ή χωρίς διατροφική συμβουλευτική ή μόνο διατροφικής συμβουλευτικής 29

1.6.1 Μελέτες με συμπληρώματα χωρίς συμπεριφοριστική παρέμβαση 29

1.6.2 Μελέτες με εμπλουτισμένα γαλακτοκομικά προϊόντα χωρίς συμπεριφοριστική παρέμβαση ... 32

1.6.3 Μελέτες μόνο με συμπεριφοριστική παρέμβαση 34

1.6.4 Μελέτες με συνδυασμό συμπληρωμάτων/ εμπλουτισμένων προϊόντων και διατροφικής συμβουλευτικής. 36

1.7 Σκοπός 39

2. Μεθοδολογία 40

2.1 Κριτήρια εισαγωγής στην μελέτη 40

2.2 Παρέμβαση 43

2.3 Αξιολόγηση της παρέμβασης 50

2.4 Δημιουργία εργαλείων αξιολόγησης σύστασης σώματος. 55

2.4.1 Αξιολόγηση εξισώσεων βιβλιογραφίας 55

2.4.2 Δημιουργία και αξιολόγηση εγκυρότητας εξισώσεων εκτίμησης σύστασης σώματος 56

2.5 Στατιστική Ανάλυση 57

3. Αποτελέσματα 60

3.1 Περιγραφή δείγματος 60

3.2 Μεταβολές στους 12 μήνες της παρέμβασης* 62

3.3 Μεταβολές στους 36 μήνες – δύο έτη μετά το τέλος της παρέμβασης* 72

3.4 Εργαλεία αξιολόγησης σύστασης σώματος* 80

4. Συζήτηση 85

4.1 Συζήτηση αναφορικά με τα αποτελέσματα στο τέλος της παρέμβασης (12 μήνες) και δύο έτη μετά 85

4.1.1 Σχολιασμός των ευρημάτων της μελέτης 85

4.1.2 Προτάσεις για το μέλλον – Περιορισμοί της μελέτης 91

4.3 Συζήτηση αναφορικά με τις εξισώσεις υπολογισμού σύστασης σώματος 92

4.3.1 Αξιολόγηση απλών εξισώσεων υπολογισμού σύστασης σώματος. 92

4.3.2 Αξιολόγηση ανθρωπομετρικής εξίσωσης υπολογισμού λιπώδους μάζας σώματος 93

4.3.3 Αξιολόγηση ανθρωπομετρικής εξίσωσης υπολογισμού κοιλιακού λίπους 94

5. Συμπέρασμα 96

Δημοσιεύσεις 97

Βιβλιογραφία 98

Παράρτημα – Δημοσιεύσεις 111

Περίληψη

Εισαγωγή: Εκτός από το ασβέστιο και τη βιταμίνη D, πρόσφατες μελέτες έχουν προτείνει ότι και η συμπληρωματική χορήγηση βιταμίνης K μπορεί να έχει ωφέλιμη δράση στον οστικό μεταβολισμό. Επιπρόσθετα η προαγωγή ενός πιο υγιεινού τρόπου ζωής με αυξημένη φυσική δραστηριότητα και καλύτερη διατροφή μέσα από συμπεριφοριστικά προγράμματα διατροφικής συμβουλευτικής θα μπορούσε να επιδράσει θετικά στην πρόληψη της οστεοπόρωσης. Περιορισμένος αριθμός μελετών έχουν γίνει συνδυάζοντας τα παραπάνω ενώ καμία τέτοια συνδυαστική προσέγγιση δεν έχει γίνει με παράλληλη χορήγηση βιταμίνης K, ενώ ακαθόριστο είναι ακόμα πια είναι η πιο δραστική μορφή της.

Σκοπός: Η παρούσα μελέτη απέβλεπε στον έλεγχο της αποτελεσματικότητας 12μηνης παρέμβασης που συνδύαζε συμβουλευτική σε θέματα διατροφής και τρόπου ζωής με παράλληλη χορήγηση γαλακτοκομικών προϊόντων, εμπλουτισμένων με Βιταμίνη D, ασβέστιο και Βιταμίνη K στην μεταβολή συμπεριφορών που σχετίζονται με την σκελετική υγεία.

Επιμέρους σκοποί είναι: α) είναι η διερεύνηση κατά πόσο η συνδυασμένη χρήση φυλλοκινόνης ή μενακινόνης – 7 έχει επιπρόσθετα οφέλη στην οστική πυκνότητα σε σύγκριση μόνο με το Ασβέστιο και την Βιταμίνη D στους 12 μήνες της παρέμβασης και 24 μήνες μετά το τέλος αυτής. β) Ο έλεγχος εγκυρότητας για ήδη υπάρχουσες ανθρωπομετρικές εξισώσεις εκτίμησης σύστασης σώματος και για δύο νέες εξισώσεις που δημιουργήθηκαν και εκτιμούν το συνολικό σωματικό λίπος και το ποσοστό κοιλιακού λίπους από απλά ανθρωπομετρικά δεδομένα.

Υλικό και μέθοδοι: Στην παρούσα μελέτη αξιολογήθηκαν 115 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες χωρισμένες σε τρεις ομάδες παρέμβασης και μια ομάδα ελέγχου. Οι τρεις ομάδες παρακολούθησαν συμβουλευτικές συνεδρίες σε θέματα διατροφής και τρόπου ζωής που στηρίχθηκαν στο «Υπόδειγμα Πεποίθησης για την Υγεία» και στην «Κοινωνική Γνωσιακή Θεωρία». Επιπρόσθετα λάμβαναν δυο μερίδες γαλακτοκομικών προϊόντων ημερησίως για 12 μήνες, εμπλουτισμένων με 800mg ασβεστίου και 10μg Βιταμίνης D. Επιπρόσθετα οι δύο ομάδες λάμβαναν 100μg φυλλοκινόνης ή 100μg Μενακινόνης – 7 ημερησίως αντίστοιχα. Η ομάδα ελέγχου δεν συμμετείχε στις συνεδρίες και δεν έλαβε κανένα προϊόν.

Ο έλεγχος της αποτελεσματικότητας της παρέμβασης έγινε με αξιολόγηση της διαιτητικής πρόσληψης, της ποιότητας διατροφής, της φυσικής δραστηριότητας, των μεταβολών σε βιοχημικούς δείκτες οστικού μεταβολισμού και των μεταβολών στην οστική πυκνότητα σε διάφορα ανατομικά σημεία. Δύο έτη μετά το τέλος της παρέμβασης έγινε επανέλεγχος μεταβολής στην οστική πυκνότητα.

Από τα ανθρωπομετρικά δεδομένα που συλλέχθηκαν από την παρούσα μελέτη έγινε έλεγχος εγκυρότητας ανθρωπομετρικών εξισώσεων εκτίμησης σύστασης σώματος και δημιουργία δύο νέων εξισώσεων που εκτιμούν το ολικό και κοιλιακό λίπος αντίστοιχα.

Αποτελέσματα: Σε διατροφικό επίπεδο παρατηρήθηκαν αυξήσεις στις προσλήψεις ασβεστίου, βιταμίνης D για όλες τις ομάδες παρέμβασης ενώ παρατηρήθηκε και αύξηση στην πρόσληψη βιταμίνης K για τις δύο ομάδες που την λάμβαναν ($p=0,015$, $p=0,001$, $p=0,001$ αντίστοιχα). Επιπρόσθετα

αυξήθηκε η φυσική δραστηριότητα των εθελοντριών και στις τρεις ομάδες παρέμβασης (p=0,003). Οι αλλαγές αυτές επέφεραν αύξηση των επιπέδων βιταμίνης D ορού στις τρεις ομάδες παρέμβασης (p=0,001), αύξηση στον IGF-I ορού για την ομάδα που λάμβανε μενακινόνη – 7 (p=0,028), ελάττωση του ποσοστού υποκαρβοξυλιωμένης οστεοκαλσίνης στις δύο ομάδες που λάμβαναν φυλλοκινόνη ή μενακινόνη – 7 (p=0,001) έναντι της ομάδας ελέγχου, ενώ παρατηρήθηκε και στατιστικά σημαντική μείωση στη δεοξυπιριδινολίνη ούρων για τις ομάδες που λάμβαναν βιταμίνη K σε σχέση με τις αρχικές τιμές. Σε επίπεδο οστικής πυκνότητας παρατηρήθηκε αύξηση στην ολική οστική πυκνότητα για τις τρεις ομάδες παρέμβασης έναντι της ομάδας ελέγχου (p=0,001), και αύξηση στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης για τις ομάδες που λάμβαναν βιταμίνη K έναντι της ομάδας ελέγχου (p=0,001).

Δύο έτη μετά το τέλος της παρέμβασης η οστική πυκνότητα βρέθηκε να έχει μειωθεί σε όλα τα ανατομικά σημεία για όλες τις ομάδες. Ωστόσο η μείωση αυτή ήταν μικρότερη στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης για τις ομάδες που λάμβαναν βιταμίνη K έναντι της ομάδας ελέγχου (p=0,003).

Αναφορικά με τον έλεγχο των ανθρωπομετρικών εξισώσεων εκτίμησης σύστασης σώματος βρέθηκε καταλληλότερη ή εξίσωση των Visser και συν. με χρήση της εξίσωσης του Brozek και συν. Οι εξισώσεις που δημιουργήθηκαν για τον υπολογισμό σωματικού λίπους και ποσοστού κοιλιακού λίπους βρέθηκαν να αποδίδουν καλύτερα στο συγκεκριμένο πληθυσμό από αυτές που ανακτήθηκαν από τη βιβλιογραφία.

Συμπέρασμα: Η παρούσα μελέτη έδειξε ότι η χρήση συμπεριφοριστικών προσεγγίσεων με στόχο την αλλαγή τρόπου ζωής συνδυαζόμενη με χρήση εμπλουτισμένων γαλακτοκομικών προϊόντων επέφερε σημαντική θετική δράση σε βιοχημικούς δείκτες οστικού μεταβολισμού και αύξηση οστικής μάζας σε επίπεδο ολικού σώματος για όλες τις ομάδες παρέμβασης. Σε δύο από τις ομάδες αυτές που δόθηκε επιπλέον φυλλοκινόνη ή μενακινόνη – 7 παρατηρήθηκαν επιπρόσθετα σημαντικά οφέλη σε δείκτες οστικού μεταβολισμού και αύξηση της οστικής μάζας στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης στους 12 μήνες. Ενώ στα δύο χρόνια από το τέλος της παρέμβασης, σε αυτές τις δύο ομάδες, παρατηρήθηκε μικρότερη οστική απώλεια.

Abstract

Introduction: In addition to calcium and vitamin D, recent evidence suggests that supplementation with vitamin K also seems to have a favorable role in bone metabolism and bone mass maintenance. Although supplementation of all these nutrients essential for bone metabolism is one approach in achieving adequate intakes, consumption of fortified staple foods, such as dairy products, has also been proven to be an effective approach. Additionally a small number of studies have used nutritional and lifestyle counseling programs in order to motivate subjects to make the necessary lifestyle changes for optimal effect. Moreover, there have been very few studies combining nutritional and lifestyle counseling with supplementation of essential nutrients for bone metabolism through dairy products. To the best of our knowledge this is the first study providing calcium, vitamin D, vitamin K, through dairy products.

Aim: The aim of the current study was to examine the effect of a nutrition and lifestyle counseling program combined with consumption of dairy products enriched with calcium, vitamin D_3, and phylloquinone or menaquinone 7.

Additional aims were: a) to examine whether the combined administration of phylloquinone or menaquinone- 7 has any additional effect on bone metabolism and mineral density compared to calcium and vitamin D during the 12 months of intervention and 24 months after the end of it. b) To validate equations based on anthropometry estimating body composition that were retrieved from the literature and validate two new equations that were developed and estimate total fat mass and adipose fat mass percentage from simple anthropometric data.

Methods: At the current study 115 postmenopausal women were evaluated divided to three intervention groups and one control group. All three intervention groups attended bimonthly sessions of nutritional and lifestyle counseling based on Health Belief Model and Social Cognitive Theory. Furthermore, they received fortified dairy products providing daily 800 mg of calcium and 10 μg of vitamin D3. Moreover, in the two out of three intervention groups the dairy products were also enriched with vitamin K, providing daily 100 μg either of phylloquinone or menaquinone-7, respectively.

The outcome of the 12month intervention was examined by changes in nutritional intake, physical activity and biochemical indices of bone metabolism such as parathormone, calcidiol, IGF-I, osteocalcin, undercarboxylated osteocalsin, OPG, RANKL, PINP, MGP, pyridinoline and D - pyridnoline. Furthermore, changes in bone mineral density were examined at several anatomical sites. Twenty four months after the end of the intervention volunteers were examined whether if they maintained the beneficial nutrition, lifestyle and bone mineral density changes achieved during the intervention.

Moreover, in this study, five simple models estimating fat mass were validated and two more were developed, estimating total fat mass and abdominal fat percentage, based on anthropometric data.

Results: Volunteers of the three intervention groups increased calcium, vitamin D and vitamin K (for the two vitamin K supplemented group) dietary intake and physical activity ($p=0.015$, $p=0.001$,

p=0.001 and p=0.003 respectively). The increase observed for serum 25(OH)D levels in all intervention groups and the increase observed for serum IGF-I levels in the menaquinone – 7 group were differentiating significantly compared to the changes observed in the control group (*P*=0.010 and *P*=0.028). Furthermore, both the vitamin K supplemented groups had significantly lower mean serum undercarboxylated osteocalcin to osteocalcin ratio and urine deoxypyridinoline levels at follow-up as compared to the other two groups (*P*=0.001 and *P*=0.047). Significant increases in total body BMD were observed in all intervention groups compared to the control group (*P*<0.001), while significant increases in lumbar spine BMD were only observed for vitamin K supplemented groups compared to the control group (*P*<0.001). Two years after the end of the intervention BMD decreased at all sites, yet it was found to decrease less in the vitamin K supplemented groups at lumbar spine compared to the control group (*P<0.003*).

Regarding the equations estimating body composition, more valid was find to be the model of Visser et al. The equations developed for estimating body fat mass and abdominal fat mass percentage were found to be valid in the current population.

Conclusion: The current study showed that a 12 - month nutrition and lifestyle counseling program combining fortified dairy products supplementation managed to induce favorable changes in dietary quality of these women and increased the dietary intake of calcium, Vitamin D and Vitamin K and physical activity. All these were shown to have a beneficial effect in biochemical indices of bone metabolism and to increase total BMD in these women. Furthermore volunteers receiving menaquinone or phylloquinone – 7 were found to have additional beneficial effect in biochemical markers and an increase in lumbar spine BMD compared to control group. Two years after the end of intervention bone mineral mass was found to have decreased less, for the vitamin K supplemented groups compared to control group at lumbar spine (L2-L4). These findings suggest additional beneficial effect of vitamin K supplementation.

Πινάκας Συντμήσεων:

%ΣΛ……Ποσοστό Σωματικού Λίπους

ANCOVA……..Ανάλυση Συνδιακυμάνσεων

CTX……..Καρβοξυτελικό τελοπεπτίδιο Κολλαγόνου Τύπου Ι

DPYD……..Δεοξυπυριδινολίνη

DXA……..Απορροφησιομετρία

FFQ……..Ημερολόγιο Συχνότητας Κατανάλωσης Τροφίμων

HBM……Υπόδειγμα Πεποίθησης για την Υγεία

HDL……Υψηλής Πυκνότητας Λιποπρωτεΐνες

ICC……..Intra Class Correlation Coefficient

IGF-I……Σωματομεδίνη 1

OAD……..Ομάδα πρόσληψης ασβεστίου και βιταμίνης D

OADK1……..Ομάδα πρόσληψης ασβεστίου, βιταμίνης D και φυλλοκινόνης

OADK2…… Ομάδα πρόσληψης ασβεστίου, βιταμίνης D και μενακινόνης – 7

OC……..Οστεοκαλσίνη

OE……..Ομάδα Ελέγχου

OPG……Οστεοπροτεγερόνη

PINP……Αμινοτελικό προπεπτίδιο του προκολλαγόνου τύπου Ι

PTH……..Παραθορμόνη

PYD……..Πυριδινολίνη

RANKL……Receptor of Nuclear Factor Kappa – B Ligand

RMANOVA……..Ανάλυση Διακυμάνσεων Επαναλαμβανόμενων Μετρήσεων

UCOC……Υποκαρβοξυλιωμένη Οστεοκαλσίνη

ΔΜΣ……Δείκτης Μάζας Σώματος

ΛΜΣ……Λιπώδης Μάζα Σώματος

ΠΣ……..Πυκνότητα Σώματος

1. Εισαγωγή

1.1 Επιδημιολογικά στοιχεία για την οστεοπόρωση

Τα οστεοπορωτικά κατάγματα, αποτελούν ένα πολύ μεγάλο πρόβλημα και για τα δύο φύλλα, αλλά κυριότερα για τον γυναικείο πληθυσμό. Αρκεί να ειπωθεί ότι περίπου 1 στις 6 γυναίκες κάποια στιγμή στην ζωή της θα υποστεί ένα οστεοπορωτικό κάταγμα σπονδυλικής στήλης (16% αθροιστικό δια βίου κίνδυνο), 1 στις 7 περίπου κάταγμα καρπού (15% αθροιστικό δια βίου κίνδυνο) και 1 στις 6 κάταγμα του ισχίου (16% αθροιστικό δια βίου κίνδυνο) (1, 2).

Πιο συγκεκριμένα, στην Ευρώπη ο επιπολασμός των σπονδυλικών καταγμάτων χαμηλής ενέργειας στις γυναίκες είναι 10,7/1000 άτομα/ έτος και στους άντρες 5,7/1000 άτομα/ έτος και των μη σπονδυλικών καταγμάτων χαμηλής ενέργειας είναι 19/1000 άτομα/ έτος και 7,3/1000 άτομα/ έτος για γυναίκες και άντρες αντίστοιχα (3, 4). Το μέσο κόστος για κάθε οστεοπορωτικό κάταγμα σπονδυλικής στήλης στην Ευρωπαϊκή Ένωση υπολογίστηκε στα 3,9 χιλιάδες ευρώ, με μέση διάρκεια νοσηλείας τις 13 μέρες (5). Συνολικά περίπου 36 δισεκατομμύρια ευρώ υπολογίζεται το κόστος για το σύνολο των σπονδυλικών καταγμάτων στην Ευρωπαϊκή ένωση (6). Στην Ελλάδα τα επιδημιολογικά δεδομένα που υπάρχουν δυστυχώς είναι παλιότερα. Το 1997 υπολογίστηκε ότι η επίπτωση καταγμάτων ισχίου σε γυναίκες άνω των 50 ετών ήταν 448,7/100000 πληθυσμού, ενώ η δαπάνη για αυτά τα κατάγματα για το έτος 2002 υπολογίζεται σε 46.250.000 ευρώ (7). Για τα κατάγματα της σπονδυλικής στήλης και του καρπού δεν υπάρχουν επιδημιολογικά στοιχεία στην Ελλάδα.

Αξίζει να σημειωθεί ότι περίπου το 20-24% των καταγμάτων ισχίου οδηγούν στον θάνατο στο πρώτο κιόλας έτος, συνήθως ως αποτέλεσμα άλλων επιπλοκών που προέρχονται από αυτό (8, 9). Σχετικά με τα κατάγματα σπονδυλικής στήλης τα περισσότερα δεν διαγιγνώσκονται παρά το ότι προκαλούν πόνο και υποβάθμιση της ποιότητας ζωής των ασθενών με μόνο το 10% αυτών να καταλήγουν σε νοσοκομειακή περίθαλψη (10).

Από όλα τα παραπάνω είναι αντιληπτό ότι η οστεοπόρωση είναι μία πάθηση με πολύ μεγάλες επιδημιολογικές, οικονομικές και κοινωνικές προεκτάσεις. Αφενός ο αυξημένος επιπολασμός, η αυξημένη θνησιμότητα, η υποβαθμισμένη ποιότητα ζωής των ασθενών και αφετέρου οι μεγάλες οικονομικές προεκτάσεις καθιστούν την πάθηση μείζον θέμα δημόσιας υγείας.

1.2 Ορισμός οστεοπόρωσης

Γενικά, ως οστεοπόρωση θα μπορούσαμε να πούμε ότι ορίζεται η σκελετική διαταραχή που έχει ως αποτέλεσμα την ελαττωμένη οστική αντοχή που εκθέτει το άτομο σε μεγαλύτερο καταγματικό κίνδυνο. Ενώ πρακτικά δεν υπάρχει ακριβής τρόπος να μετρηθεί η μηχανική αντοχή των οστών, η μέτρηση της οστικής μάζας θεωρείται ένας καλός δείκτης (11). Η οστεοπόρωση, η οποία αποτελεί τη συχνότερη πάθηση των οστών, χαρακτηρίζεται από ελάττωση των αλάτων και της θεμέλιας ουσίας των οστών με αποτέλεσμα να ελαττώνεται η ποσότητα του οστίτη ιστού (12).

Η κατηγοριοποίηση των τιμών οστικής πυκνότητας που έχει δοθεί για την οστεοπόρωση από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας έχει ως εξής:

- Φυσιολογική οστική πυκνότητα: Οστική πυκνότητα όχι κάτω από -1 τυπική απόκλιση από το μέσο νεαρό ενήλικο (Τ- σκορ >-1).
- Οστεοπενία : Οστική πυκνότητα μεταξύ -1 και -2.5 τυπικών αποκλίσεων από το μέσο νεαρό ενήλικο (Τ- σκορ μεταξύ -1 και -2.5).
- Οστεοπόρωση: Οστική πυκνότητα κάτω από -2.5 τυπικές αποκλίσεις από το μέσο νεαρό ενήλικο (Τ- σκορ < -2.5).
- Σοβαρή οστεοπόρωση ή εγκατεστημένη οστεοπόρωση: Οστική πυκνότητα κάτω από -2.5 τυπικές αποκλίσεις από το μέσο νεαρό ενήλικο (Τ- σκορ < -2.5) και 1 τουλάχιστον οστεοπορωτικό κάταγμα.

Γενικά, πρέπει να διατηρήσουμε σαν τοποθέτηση ότι οι έννοιες της οστικής μάζας και της οστεοπόρωσης είναι αντιστρόφως ανάλογες.

1.3 Οστίτης ιστός

1.3.1 Γενικά στοιχεία για τον οστίτη ιστό- Κύριες λειτουργίες των οστών

Τα οστά αποτελούμενα από τον ισχυρότερο τύπο συνδετικού ιστού του ανθρωπίνου σώματος, τον οστίτη ιστό, διαδραματίζουν σπουδαίο ρόλο στην εύρυθμη λειτουργία του οργανισμού με ουσιώδη συνεισφορά στην ποιότητα ζωής. Συνιστούν περίπου το 17% του σωματικού βάρους και περίπου το 9% του όγκου των ενήλικων ανδρών και γυναικών (13, 14) και είναι σχεδιασμένα ώστε να εξυπηρετούν τις εξής βασικές λειτουργίες:

- Δρώντας συνεργικά με τα υπόλοιπα στοιχεία του μυοσκελετικού συστήματος εξισορροπούν την επίδραση των βαρυτικών δυνάμεων, παρέχοντας μηχανική υποστήριξη και επιτρέποντας την επίτευξη της όρθιας θέσης και την κινητικότητα.
- Παρέχουν προστασία σε ευαίσθητες δομές και όργανα, όπως το κεντρικό νευρικό σύστημα (κρανίο- σπονδυλική στήλη), την καρδιά, τους πνεύμονες και τα ενδοκοιλιακά όργανα του θωρακικού κλωβού.
- Μέσω της οστικής ανακατασκευής επιτυγχάνεται η σκελετική ανάπτυξη του οργανισμού, η διαρκής επιδιόρθωση μικροφθορών και η προσαρμογή του σκελετού στην επίδραση των μηχανικών πιέσεων (λ.χ. κατά την άσκηση).
- Οι διαδικασίες της οστικής ανακατασκευής εξυπηρετούν παράλληλα άλλη μία θεμελιώδη λειτουργία, την ομοιόσταση του ασβεστίου, του φωσφόρου και του μαγνησίου.
- Αποτελούν μία ευμεγέθη μεταβολική «δεξαμενή», καθώς στα οστά και στα δόντια εμπεριέχεται περίπου το 99% του συνολικού ασβεστίου, κατέχοντας δομικό ρόλο, το 70% του ολικού μαγνησίου, το 35% του νατρίου, φώσφορος και άλλα μεταλλοστοιχεία (15).
- Μετέχουν στην ρύθμιση της οξεοβασικής ισορροπίας.
- Ο μυελός των οστών αποτελεί όργανο αιμοποίησης.

Ο οστίτης ιστός, λοιπόν, αποτελεί έναν εξειδικευμένο, ζωντανό ιστό μεταβολικά ενεργό καθ' όλη την διάρκεια της ζωής και αρδεύεται από πλούσιο δίκτυο αιμάτωσης με συνολική παροχή αίματος της τάξεως των 200-400ml/min στους ενήλικες (16).

1.3.2 Κύτταρα οστίτη ιστού

Τρεις κυρίως ομάδες κυττάρων, οι οστεοβλάστες, τα οστεοκύτταρα και οι οστεοκλάστες απαρτίζουν τον οστίτη ιστό.

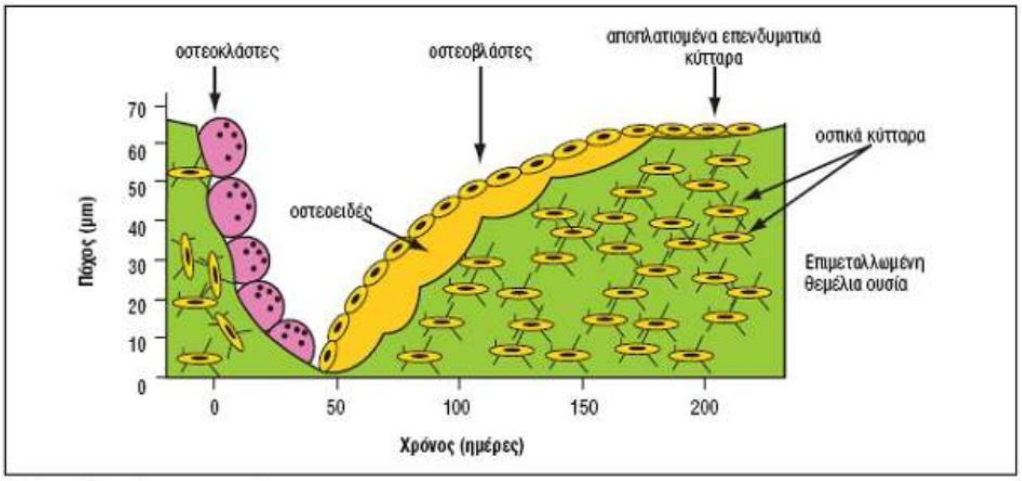
Οι οστεοβλάστες αποτελούν οστεοπαραγωγικά κύτταρα υπεύθυνα για τον οστικό σχηματισμό. Προέρχονται από τα αρχέγονα οστικά μεσεγχυματικά κύτταρα, τα οποία, υπό την επίδραση κυτοκινών, διαφοροποιούνται εν τέλει σε ώριμους οστεοβλάστες. Ανατομικά είναι μικρά μονοπύρηνα κυβοειδή κύτταρα, με βασεόφιλο πρωτόπλασμα, ανεπτυγμένο δίκτυο Golgi, εφοδιασμένα με διάφορα ένζυμα, αλλά και υποδοχείς ορμονών και κυτοκινών που εξυπηρετούν την δράση των εξειδικευμένων αυτών κυττάρων. Η δράση τους συνίσταται στην παραγωγή και εναπόθεση κολλαγόνου, τύπου 1, και μη κολλαγονικών πρωτεϊνών σε μια οστική κοιλότητα ήδη σχηματισμένη από τους οστεοκλάστες. Το αρχικό αυτό οστεοειδές, κατόπιν ενός σταδίου ωρίμανσης, μεταλλοποιείται μέσω της εναπόθεσης συμπλεγμάτων υδροξυαπατίτη. Με την ολοκλήρωση του οστεοπαραγωγικού τους έργου μεταπίπτουν σε φάση ηρεμίας ως αποπλατυσμένα επενδυτικά κύτταρα. Κατά την επιμετάλλωση του παραγόμενου οστού, ορισμένοι οστεοβλάστες εγκλωβίζονται σε μια κυψελίδα της θεμέλιας ουσίας μετατρεπόμενοι σε οστεοκύτταρα. Τα κύτταρα αυτά παρουσιάζουν αστεροειδή δομή και, μέσω σωληνίσκων, επικοινωνούν με γειτονικά οστεοκύτταρα και με τα επενδυτικά κύτταρα των οστικών επιφανειών. Το δίκτυο αυτό επικοινωνίας, λοιπόν, φέρεται υπεύθυνο για την μεταφορά μηχανικών ερεθισμάτων ενεργοποιώντας την οστική ανακατασκευή. Τέλος, φαίνεται να διαδραματίζουν ενεργό ρόλο και στην ομοιόσταση του ασβεστίου (12).

Οι οστεοκλάστες είναι κύτταρα υπεύθυνα για την οστική απορρόφηση, δράση αντίθετη με αυτή των οστεοβλαστών. Προέρχονται από πρόδρομα κύτταρα της αιμοποιητικής σειράς τα οποία υπό την επίδραση πολλών ορμονών, κυτταροκινών, αλλά και την δράση του απαραίτητου μεσολαβητή RANKL, επιστρατεύονται και διαφοροποιούνται σε ώριμους οστεοκλάστες. Από ανατομικής απόψεως είναι πολυπύρηνα γιγαντοκύτταρα, που παρουσιάζουν κυτταρική πόλωση, καθώς διαθέτουν μία κροσσωτή πλευρά, σθεναρά συνδεδεμένη με την οστική επιφάνεια. Διαμορφώνεται έτσι μια ερμητικά κλειστή κοιλότητα. Σε αυτήν εκκρίνονται από τους κροσσούς

πρωτεϊνολυτικά ένζυμα, οστεολυτικά οξέα και ελεύθερες ρίζες οξυγόνου και υδρογόνου, επιτυγχάνοντας την πέψη των πρωτεϊνών, του κολλαγόνου, καθώς και την διάλυση των κρυστάλλων υδροξυαπατίτη. Συνεπεία της διάλυσης των κρυστάλλων αυτών είναι η απελευθέρωση ασβεστίου και φωσφόρου στην κυκλοφορία. Τέλος, οι οστεοκλάστες διατηρούν την κινητικότητά τους και έτσι έχουν την ικανότητα να απορροφούν οστό σε διάφορα σημεία, μεταναστεύοντας σε νέες θέσεις, ενώ υπόκεινται στην επίδραση ποικίλων συστηματικών (καλσιτονίνη- οιστρογόνα), αλλά και τοπικών (PGL- ενδοθηλίνη κλπ.) παραγόντων (12).

Η δράση των οστεοβλαστών και των οστεοκλαστών είναι συνυφασμένες χρονικά και τοπικά (16). Αυτή η διαδικασία ορίζεται ως οστική ανακατασκευή και είναι μια δυναμική κατάσταση που καθορίζεται από διάφορους ορμονικούς παράγοντες, όπως η δράση της παραθορμόνης, Βιταμίνης D, της σωματομεδίνης 1, και του συστήματος OPG-RANKL-RANK που θα αναπτυχθούν αργότερα.

Εικόνα 1.1 Οστική Ανακατασκευή



Από: Διατροφική Αξιολόγηση, 2006.

1.4 Οστικός μεταβολισμός

Ο οστίτης ιστός είναι ένας ζωντανός, μεταβολικά δραστήριος ιστός που βρίσκεται σε μια δυναμική ισορροπία, μέσω του ρυθμού οστικής ανακατασκευής. Η οστική ανακατασκευή είναι μια διαδικασία που στηρίζεται στην παράλληλη λειτουργία των οστεοβλαστών (οστική παραγωγή) και των οστεοκλαστών (οστική απορρόφηση).

Πάρα πολύ σημαντικό ρόλο στον μεταβολισμό των οστών παίζουν οι ασβεστιορυθμιστικές ορμόνες. Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται ορμονικοί παράγοντες, που συμβάλουν στην ομοιοστασία του ασβεστίου στον οργανισμό, ρυθμίζοντας 3 σημαντικές παραμέτρους του μεταβολισμού του: την απορρόφηση, την απέκκριση και την αποθήκευσή του. Οι κυριότεροι από τους προαναφερθέντες παράγοντες είναι η βιταμίνη D και η παραθορμόνη. Επίσης, πολύ σημαντικό ρόλο στον μεταβολισμό των οστών παίζουν η σωματομεδίνη 1, ειδικότερα στην διαφοροποίηση των οστεοκλαστών, και το σύστημα OPG-RANKL-RANK.

Ο βασικότερος παράγοντας ρύθμισης του μεταβολισμού των οστών είναι η ρύθμιση των επιπέδων ασβεστίου στο αίμα.

- ***Το ασβέστιο*** λοιπόν και η βιοδιαθεσιμότητα του είναι κλειδιά στην ρύθμιση της οστικής εναλλαγής. Δεδομένου ότι τα οστά αποτελούν, πρακτικά, την μοναδική αποθήκη ασβεστίου στο ανθρώπινο σώμα, μόλις τα επίπεδά του στο αίμα μειωθούν, κυρίως λόγω ανεπαρκής πρόσληψης, τότε αναλαμβάνουν οι ασβεστιορυθμιστικές ορμόνες, η Βιταμίνη D και η παραθορμόνη.

- ***Η βιταμίνη D*** συναντάται σε δύο μορφές την D2 (εργοκαλσιφερόλη) και την D3 (χοληκαλσιφερόλη) (17). Η D3 Συντίθεται στο δέρμα από την πρόδρομη της 7-δεϋδροχοληκαλσιφερόλη που μετατρέπεται σε προβιταμίνη D3 μέσω της καταλυτικής δράσης της υπεριώδους ακτινοβολίας του ήλιου (UVB: 290-315 nm), η οποία στη συνέχεια ισομερίζεται σε βιταμίνη D3. Η συντιθέμενη βιταμίνη D3 και οι μεταβολίτες της δεσμεύονται από την αντίστοιχη δεσμευτική πρωτεΐνη και μεταφέρεται στη κυκλοφορία του αίματος. Η βιταμίνη D2 προέρχεται από τη εργοστερόλη, μία φυτική στερόλη και προσλαμβάνεται από τροφές φυτικής προέλευσης. Στον οργανισμό η βιταμίνη D2 απορροφάται στο ανώτερο τμήμα του λεπτού εντέρου με τη βοήθεια των χολικών αλάτων και μεταφέρεται στην αιματική κυκλοφορία μέσω της λεμφικής κυκλοφορίας, αφού δεσμευτεί από πρωτεΐνη μεταφορέα. Η βιταμίνη D, είτε ως D2 είτε ως D3, υδροξυλιώνεται

στο ήπαρ σε 25 υδρόξυ-βιταμίνη D [25(OH)D], η οποία αποτελεί και τον κύριο μεταβολίτη της βιταμίνης στην κυκλοφορία. Μία δεύτερη υδροξυλίωση λαμβάνει χώρα στους νεφρούς, σχηματίζοντας την 1,25(OH)2D που διεγείρεται από την παραθορμόνη και αναστέλλεται από τα φωσφορικά ιόντα. Η 25(OH)D έχει, επίσης, βιολογική δράση πολύ μικρότερη, όμως, της 1,25(OH)2D η οποία πρακτικά αποτελεί τον ενεργό μεταβολίτη που διεγείρει την απορρόφηση ασβεστίου και φωσφόρου από το έντερο. Η δράση της 1,25(OH)2D στα οστά γίνεται μέσω της ενεργοποίησης των οστεοβλαστών (16).

- ***Η παραθορμόνη*** είναι ο κυριότερος ρυθμιστής της ομοιοστασίας του ασβεστίου. Η δράση της ασκείται στο έντερο, στα οστά και στους νεφρούς. Η ρύθμιση της παραθορμόνης γίνεται σε δυο επίπεδα της γονιδιακής σύνθεσης και της έκκρισής της. Ακόμα και σε μικρή ελάττωση των επιπέδων ασβεστίου του αίματος εκκρίνεται αποθηκευμένη παραθορμόνη και μέσα σε λίγα δευτερόλεπτα ελαττώνεται η αποδόμηση της και αυξάνεται η σύνθεσή της μέσα σε λίγες ώρες. Η έκκρισή της, επίσης, ρυθμίζεται από τα επίπεδα 1,25(OH)2D, μαγνησίου, και φωσφόρου. Η δράση της ασκείται στα οστά, στο έντερο και στους νεφρούς έως ότου αποκατασταθούν φυσιολογικά επίπεδα ασβεστίου στο αίμα. Πιο συγκεκριμένα, στα οστά διεγείρει την οστεοκλαστογένεση μέσω της διέγερσης της RANKLigand και της αναστολής της έκκρισης OPG, και επομένως και μέσω της απόδοσης ασβεστίου στην κυκλοφορία. Στο έντερο διεγείρει την απορρόφηση ασβεστίου. Στα νεφρά διεγείρει τον σχηματισμό 1,25(OH)2D, και αυξάνει την απέκκριση φωσφόρου (16). Σε βάθος χρόνου η παραθορμόνη διεγείρει και τους οστεοκλάστες και τους οστεοβλάστες ενώ, μέτρια αυξημένα επίπεδα έχουν, μάλλον, αναβολικό αποτέλεσμα (16).

Τα τελευταία χρόνια, όσων αφορά τον οστικό μεταβολισμό, η Βιταμίνη Κ έχει εγείρει αυξημένο ενδιαφέρον. Η κύρια δράση της φαίνεται να έγκειται στην καρβοξυλίωση της οστεοκαλσίνης.

- ***Η Βιταμίνη Κ,*** σε αυξημένη διατροφικά πρόσληψη, βοηθά στην καρβοξυλίωση της οστεοκαλσίνης. Η οστεοκαλσίνη είναι μια μικρή πρωτεΐνη που συντίθεται από ώριμους οστεοβλάστες και είναι συνδεδεμένη με τον υδροξυαπατίτη. Η οστεοκαλσίνη συντίθεται μετά από έκφραση του αντίστοιχου γονιδίου του οποίου η έκφραση κυρίως συντονίζεται από τους μεταγραφικούς παράγοντες RunX/Cbfa και διεγείρεται από την βιταμίνη D3 (18). Η σύνθεση της πιθανά αναστέλλεται σε σιδηροπενική αναιμία (19, 20). Χαρακτηρίζεται από την παρουσία τριών υπολειμμάτων γ-καρβοξυγλουταμικού οξέος και η βιταμίνη Κ απαιτείται για την προσθήκη μιας δεύτερης ομάδας γ-καρβοξυλικής ομάδας στην πλευρική

αλυσίδα των συγκεκριμένων γλουταμινικών υπολειμμάτων. Η δεύτερη αυτή καρβοξυλίωση φαίνεται να την καθιστά πιο δραστική στην μεταφορά ιόντων ασβεστίου και την τελική επιμετάλλωση των οστών. Ως εκ τούτου, η υποκαρβοξυλιωμένη οστεοκαλσίνη ή το ποσοστό της υποκαρβοξυλιωμένης οστεοκαλσίνης προς την ολική θεωρούνται καλύτεροι δείκτες οστικής παραγωγής έναντι της ολικής οστεοκαλσίνης. Αυτές οι δύο μετρήσεις έχουν σχετιστεί σαν δείκτες με μειωμένη οστική παραγωγή (21) (το αντίστροφο κλάσμα σχετίζεται με αυξημένη οστική παραγωγή), με χαμηλή οστική πυκνότητα (22) και αυξημένο καταγματικό κίνδυνο (23-27). Η ακριβής λειτουργία της, ωστόσο, δεν έχει αποσαφηνιστεί. Η μέτρησή της μπορεί να γίνει σε ορό ή ούρα και υπάρχουν αρκετά διαθέσιμα αντιδραστήρια με ELISA για την μέτρηση, τόσο της ολικής όσο και της υποκαρβοξυλιωμένης. Πρακτικός τρόπος μεταξύ άλλων είναι και ο διαχωρισμός τους με υδροξυαπατίτη (28). Τα επίπεδα της στον όρο ακολουθούν κιρκαδιανό ρυθμό με υψηλές τιμές το πρωί και, συνήθως, δεν επηρεάζονται από τη λήψη τροφής πριν τη μέτρηση (29). Τέλος, πρέπει να σημειωθεί ότι ο έμμεσος υπολογισμός της καρβοξυλιωμένης της μορφής έχει θεωρηθεί ως δείκτης για την εκτίμηση της κατάστασης θρέψης σχετικά με την Βιταμίνη Κ (30).

Ένας άλλος παράγοντας ρύθμισης του μεταβολισμού των οστών είναι η φυσική δραστηριότητα. Πλήθος μελετών έχουν δείξει ότι αποτελεί ερέθισμα για την οστεοσύνθεση (31, 32). Ο κυριότερος μηχανισμός που έχει προταθεί είναι μέσω της αύξησης έκκρισης της σωματομεδίνης 1 (Insulin Like Growth Factor-I: IGF-I).

- ***Η άσκηση,*** λοιπόν, έχει προταθεί ως τρόπος διέγερσης της έκκρισης IGF-I. Ο IGF-I μεταξύ των τοπικών και συστηματικών παραγόντων που ρυθμίζουν την οστική παραγωγή φαίνεται να έχει κάποιο ρόλο στο πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών (33), ενώ έχει προταθεί ότι μπορεί να δρα απευθείας και στους οστεοβλάστες (34). Ο IGF-I, λοιπόν, αποτελεί σημαντικό δείκτη οστικού σχηματισμού και επηρεάζεται άμεσα από τη διατροφή, αλλά και από την φυσική δραστηριότητα, τα οποία αποτελούν και το σήμα για τον οστικό σχηματισμό (33).

Υπάρχει και ένας αριθμός παραγόντων που επιδρούν αρνητικά στον οστικό μεταβολισμό:

- ***Το αλκοόλ*** σε αυξημένες καθημερινές δόσεις μπορεί να διακόπτει την συνεχή ισορροπία μεταξύ οστικής απορρόφησης και οστικής ανακατασκευής, με συνέπεια την εμφάνιση οστικής αλκοολοπάθειας. Αυτή η διαταραχή είναι, κατά κύριο λόγο, αποτέλεσμα της

αναστολής της οστεοβλαστικής λειτουργίας και της εναπόθεσης νέου οστού (35), προβληματικής επιμετάλλωσης του οστεοειδούς και μείωσης του αριθμού και του πολλαπλασιασμού των οστεοβλαστών (36). Επιπρόσθετα, σε μεγάλη κατανάλωση αιθυλικής αλκοόλης, η τοξική δράση που προκαλείται στο ήπαρ μπορεί να είναι ανασταλτική στην σύνθεση Βιταμίνης D. Αξίζει, ωστόσο, να σημειωθεί ότι μικρή κατανάλωση αλκοόλ έχει βρεθεί να είναι ωφέλιμη για την οστική πυκνότητα (37).

- ***Η αυξημένη κατανάλωση καφεΐνης*** έχει βρεθεί να επηρεάζει αρνητικά την οστική πυκνότητα. Η κύρια δράση έγκειται στην αυξημένη αποβολή ασβεστίου από τα ούρα που προκαλεί μεταβολές στο ισοζύγιο ασβεστίου (38). Πλήθος επιδημιολογικών μελετών επιβεβαιώνουν την υπόθεση αυτή, ωστόσο υπάρχει και η άποψη ότι αυτό μπορεί να οφείλετε στο ότι άτομα με υψηλή πρόσληψη καφεΐνης έχουν ελαττωμένη πρόσληψη ασβεστίου, κυρίως επειδή προσλαμβάνουν λιγότερο γάλα, καθώς μελέτες έχουν δείξει ότι δεν επηρεάζει ιδιαίτερα την 24ωρη αποβολή ασβεστίου στα ούρα, όπως έχει αναθεωρηθεί (39).
- ***Το κάπνισμα*** αποτελεί έναν ακόμα παράγοντα που επιδρά αρνητικά στον οστικό μεταβολισμό. Έχει φανεί σαν ανεξάρτητος παράγοντας κινδύνου εμφάνισης χαμηλής οστικής πυκνότητας από πλήθος επιδημιολογικών μελετών, ενώ έχουν προταθεί και αρκετοί μηχανισμοί δράσης, όπως το αυξημένο οξειδωτικό στρες των καπνιστών, η ελαττωμένη απορρόφηση ασβεστίου, ίσως και ο συνδυασμός άλλων συνηθειών ζωής, όπως αυξημένη κατανάλωση καφεΐνης και αλκοόλ που παρουσιάζουν οι καπνιστές (40, 41).

Από τα παραπάνω γίνεται αντιληπτό ότι ο οστικός μεταβολισμός εξαρτάται σε πάρα πολύ μεγάλο βαθμό από την διατροφική πρόσληψη θρεπτικών συστατικών όπως ασβεστίου, Βιταμίνης D, Βιταμίνης K κλπ, αλλά από συνήθειες ζωής όπως φυσική δραστηριότητα, κατανάλωση αλκοόλ και καφέ και καπνίσματος.

1.5 Παράγοντες Κινδύνου

Πρακτικά, όπως έχει αναφερθεί, η οστεοπόρωση και η οστική μάζα είναι έννοιες αντιστρόφως ανάλογες. Οι αιτίες που μπορούν να οδηγήσουν σε χαμηλή οστική πυκνότητα είναι κυρίως τρεις:

- Μη επίτευξη φυσιολογικής κορυφαίας οστικής μάζας. Οι παράγοντες που καθορίζουν την κορυφαία οστική μάζα και επηρεάζουν σε πολύ μεγάλο βαθμό το ρυθμό απώλειας του οστίτη ιστού, μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε μη τροποποιήσιμους και τροποποιήσιμους. Μη τροποποιήσιμοι είναι το φύλο, η ηλικία και φυσικά η κληρονομικότητα. Αντίστοιχα τροποποιήσιμοι είναι η διατροφή, το επίπεδο φυσικής δραστηριότητας, και συνήθειες ζωής, όπως το κάπνισμα και η κατανάλωση αλκοόλ (42).

- Δεύτερη αιτία μπορεί να είναι αυξημένη οστική απορρόφηση. Αυξημένη οστική απορρόφηση μπορεί να προκύψει από: α) έλλειψη οιστρογόνων που είναι ένας σημαντικός παράγοντας που συμβάλλει στην παθογένεια της νόσου, όχι μόνο για τις γυναίκες, αλλά όπως δείχνουν σύγχρονα επιδημιολογικά δεδομένα, και για τους άνδρες (43, 44), β) Η έλλειψη ασβεστίου και βιταμίνης D που οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων παραθορμόνης (δευτεροπαθής υπερπαραθυρεοϊδισμός) στον ορό, γ) η ελαττωμένη απορρόφηση όσο και η δερματική παραγωγή βιταμίνης D, ιδιαίτερα κατά τη τρίτη ηλικία, γ) Ενδοκρινικές παθήσεις (π.χ. πρωτοπαθής υπερπαραθυρεοϊδισμός, υπερθυρεοειδισμός) και τοπικοί παράγοντες, που επηρεάζονται από την ελάττωση των μηχανικών φορτίσεων παίζουν επίσης κριτικό ρόλο.

- Τρίτη αιτία μπορεί να είναι η ελαττωμένη οστική παραγωγή. Μπορεί να προκύψει ως αποτέλεσμα είτε υπερβολικής οστικής απορρόφησης, ώστε να μην υπάρχουν οστικές επιφάνειες, για να φτιαχτεί νέο οστό, είτε διαταραχής της οστεοβλαστικής λειτουργίας, που επέρχεται με τη γήρανση (12).

Από την στιγμή της σύλληψης έως την στιγμή της ενηλικίωσης η οστική πυκνότητα αυξάνεται συνεχώς, για κάποιο χρονικό διάστημα παραμένει σχετικά σταθερή και έπειτα αρχίζει σταδιακά να μειώνεται. Αυτό συμβαίνει από την ηλικία περίπου των 40 ετών για του άνδρες, όπου και αρχίζει μια μικρή σταδιακή ελάττωση, και περίπου την ηλικία των 50 ετών για τις γυναίκες, δηλαδή μετά την εμμηνόπαυση, που αρχίζει μια ελάττωση με ιδιαίτερα αυξημένο ρυθμό (12). Πολλοί παράγοντες φαίνεται να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στη μέγιστη οστική πυκνότητα

που θα επιτευχθεί κατά την διάρκεια της ανάπτυξης, όπως γενετικοί παράγοντες, φύλλο, εθνικότητα, διατροφή, φυσική δραστηριότητα, και έκθεση σε διάφορους παράγοντες κινδύνου (κάπνισμα, αλκοόλ, φάρμακα). Μελέτες σε οικογένειες και σε δίδυμα αδέλφια έχουν εκτιμήσει ότι 60-80% της διακύμανσης, στην μέγιστη οστική πυκνότητα, αποδίδεται σε γενετικούς παράγοντες. Επιπρόσθετα, επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι μία αύξηση της μέγιστης οστικής πυκνότητας κατά 10% μπορεί να οδηγήσει σε 50% μικρότερο καταγματικό κίνδυνο μετά την εμμηνόπαυση (45).

Πολλοί παράγοντες, ωστόσο, παίζουν σημαντικό ρόλο, μετά το τέλος της ανάπτυξης για την διατήρηση της οστικής πυκνότητας. Σε κάποιες περιπτώσεις ίσως και να οδηγούν στην αύξησή της. Ως σημαντικότεροι παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση της οστεοπόρωσης εμφανίζονται οι: Φύλο, προεμμηνοπαυσιακή ανεπάρκεια οιστρογόνων, πρόωρη εμμηνόπαυση, χαμηλό σωματικό βάρος συναρτήσει του ύψους, μεγάλη ηλικία, κάπνισμα, αυξημένη κατανάλωση καφεΐνης, αυξημένη κατανάλωση οινοπνεύματος, δίαιτα χαμηλή σε ασβέστιο, καθιστική ζωή, καυκάσια φυλή, προηγούμενο κάταγμα, κληρονομικότητα, φάρμακα (όπως κορτικοστεροειδή, θυροξίνη, ηπαρίνη, κλπ), διάφορα νοσήματα (ρευματοειδής αρθρίτιδα, υπερθυρεοειδισμός, νεοπλάσματα, ηπατική ανεπάρκεια, χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, ατελής οστεογένεση, σύνδρομο Turner, υπερπρολακτιναιμία) όπως έχουν συνοψιστεί και σχολιαστεί (7, 12).

Εναλλακτικά, θα μπορούσαμε να κατηγοριοποιήσουμε τους παράγοντες κινδύνου σε μη τροποποιήσιμους και τροποποιήσιμους, άσχετα αν αφορούν στην επίτευξη κορυφαίας οστικής μάζας ή τη διατήρηση της στην μετέπειτα ζωή.

- ***Μη τροποποιήσιμοι*** είναι αυτοί οι οποίοι δεν εξαρτώνται από συμπεριφορές του ατόμου, όπως φύλλο, ηλικία, γενετικοί παράγοντες, προεμμηνοπαυσιακή ανεπάρκεια οιστρογόνων, παθήσεις που επηρεάζουν το μεταβολισμό των οστών.

- ***Τροποποιήσιμοι*** είναι αυτοί που αφορούν συμπεριφορές του ατόμου, άρα μπορούν να αλλάξουν με την κατάλληλη συμπεριφοριστική παρέμβαση. Τέτοιοι παράγοντες είναι η ανεπαρκής διατροφική πρόσληψη απαραίτητων θρεπτικών συστατικών για την υγεία των οστών, η υπερβολική πρόσληψη καφεΐνης και αλκοόλ, το κάπνισμα και η καθιστική ζωή. Στην συνέχεια θα αναφερθούν τρόποι αλλαγής συμπεριφοράς και θα γίνει ανασκόπηση βιβλιογραφίας σχετικά με μελέτες εφαρμογής τέτοιων υποδειγμάτων.

1.5.1 Τροποποιήσιμες συμπεριφορές

Πρακτικά αρκετές συμπεριφορές των ατόμων μπορούν να έχουν ωφέλιμη προληπτική δράση απέναντι στη νόσο της οστεοπόρωσης και τις βλαβερές συνέπειές της. Η αυξημένη φυσική δραστηριότητα, η πρόληψη των πτώσεων, η επάρκεια της διατροφής σε συγκεκριμένα θρεπτικά συστατικά, η αποφυγή του καπνίσματος και υπερκατανάλωσης αλκοόλ. Παρακάτω θα αναπτυχθούν οι σημαντικότερες.

Σωματική άσκηση: Η γρήγορη βάδιση, η αεροβική άσκηση και τα άλματα φαίνεται να μειώνουν ή να προλαμβάνουν τη μετεμμηνοπαυσιακή οστική απώλεια, αν και δεν υπάρχει απόλυτη συμφωνία μεταξύ των σχετικών μελετών (46-50). Δύο συστηματικές μετά-αναλύσεις που περιελάμβαναν 18 και 7 τυχαιοποιημένες κλινικές μελέτες κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η αεροβική άσκηση, οι ασκήσεις με βάρη και οι ασκήσεις αντίστασης αυξάνουν την οστική πυκνότητα σε διάφορα ανατομικά σημεία του σκελετού όπως το ισχίο, τη σπονδυλική στήλη και τον καρπό, ενώ φαίνεται να μειώνουν στατιστικά σημαντικά τον κίνδυνο κατάγματος ισχίου (31, 32). Όταν επιδρά δύναμη αντίστασης σε κάποιο σκελετικό τμήμα επηρεάζεται η μικροαρχιτεκτονική του οστού και η σύσταση της θεμέλιας ουσίας με στόχο να γίνει ισχυρότερο το οστό για να μπορέσει να αντεπεξέλθει στις μηχανικές πιέσεις. Ενδεικτικό είναι το γεγονός ότι η συνεχής δύναμη που ασκείται στο σκελετό από την επίδραση και μόνο της δύναμης του σωματικού βάρους, καθορίζει ουσιαστικά την οστική μάζα. Αυτή η υπόθεση μπορεί να στηριχθεί επιπρόσθετα από το ότι τα υπέρβαρα και παχύσαρκα άτομα έχουν πολύ μικρότερο κίνδυνο εμφάνισης οστεοπόρωσης. Είναι ξεκάθαρο, ότι η άσκηση ακόμα και σε ηλικία μεγαλύτερη των 90 ετών, μπορεί να αυξήσει τη μυϊκή δύναμη και μάζα δύο φορές περισσότερο σε σχέση με αδρανή άτομα. Αντιθέτως, η καθιστική ζωή και η ακινησία σε μεγαλύτερες ηλικίες, και όχι μόνο, έχουν καταστρεπτικές συνέπειες στα οστά (51). Όπως έχει φανεί, ακόμα και δύο μέρες κατάκλιση είναι ικανές να οδηγήσουν σε αύξηση δεικτών οστικής απορρόφησης στον ορό (52, 53). Εκτός, όμως, από την πρόληψη, πολλές αναερόβιες ασκήσεις αντίστασης συστήνονται ως επικουρικά μέσα θεραπείας των ασθενών με διαγνωσμένη οστεοπόρωση (54). Τέλος, πολύ σημαντικό αποτέλεσμα εκτός από τη σημαντική επίδραση της σωματικής άσκησης στη μυϊκή και οστική μάζα, στην πρόληψη και θεραπεία της οστεοπόρωσης είναι και η σημαντική συμβολή της στη βελτίωση της ποιότητας ζωής, και ψυχολογικής διάθεσης, ιδιαίτερα των ηλικιωμένων ατόμων (55).

Πρόληψη πτώσεων: Τα περισσότερα οστεοπορωτικά κατάγματα συμβαίνουν μετά από πτώσεις, Είναι λογικό ότι η πρόληψη των πτώσεων μπορεί να βοηθήσει στην πρόληψη ενός

οστεοπορωτικού κατάγματος. Ασκήσεις ισορροπίας, εκπαίδευση και διόρθωση της όρθιας στάσης μπορούν να βοηθήσουν σημαντικά την πρόληψη των πτώσεων, όπως έχει επαναθεωρηθεί (7), ενώ υπάρχουν και έντυπα βιβλία με ασκήσεις βελτίωσης ισορροπίας με στόχο την αποφυγή πτώσεων και επομένως την ελάττωση του καταγματικού κινδύνου (54).

Διατροφή και οστική υγεία: Η διατροφή παίζει αδιαμφισβήτητα καθοριστικό ρόλο στην διαμόρφωση της κορυφαίας οστικής πυκνότητας έως την ενηλικίωση, στη διατήρηση κατά την ενήλικη ζωή και κατά τα πρώτα χρόνια μετά την εμμηνόπαυση. Παρακάτω θα παρατεθούν σε συντομία τα στοιχεία της διατροφής που σύγχρονα βιβλιογραφικά δεδομένα θεωρούν ότι συμβάλλουν στην οστική υγεία.

Ασβέστιο: Το ασβέστιο βρίσκεται σε διάφορους ιστούς στο ανθρώπινο σώμα. Το 99%, όμως, από τα περίπου 1.2kg ασβεστίου βρίσκεται στα οστά και τα δόντια, το υπόλοιπο 1% βρίσκεται στο αίμα και σε άλλα μαλακά μόρια (μύες, κλπ) και εξυπηρετεί λειτουργικούς σκοπούς. Ακριβέστερα το ασβέστιο αποτελεί το 34% των οστών και βρίσκεται σε δύο κυρίως μορφές, την άμορφη, η οποία περιέχει ένυδρο φωσφορικό τριασβέστιο και μονόξινο φωσφορικό ασβέστιο και την κρυσταλλική που αποτελείται από κρυστάλλους υδροξυαπατίτη (12, 15, 56, 57).

Το ασβέστιο απορροφάται από τον εντερικό βλεννογόνο με σημαντική δράση της Βιταμίνης D, ενώ με μια μικρή ποσότητα να αποβάλλεται από τα κόπρανα, μια ακόμα μικρότερη από το δέρμα μέσω του ιδρώτα, ενώ η κυριότερη οδός αποβολής είναι τα ούρα (16). Ο βαθμός απορρόφησης σε βρέφη και παιδιά είναι περίπου 75%, σε ενήλικες περίπου 30%, ενώ στις έγκυες περίπου 50% (58).

Η κύρια πηγή ασβεστίου είναι τα γαλακτοκομικά προϊόντα, συνεισφέροντας περίπου το 70% του προσλαμβανόμενου ασβεστίου, όπως έχει φανεί σε μελέτες σε Γάλλους και Αμερικάνους (59, 60). Η σημασία των γαλακτοκομικών προϊόντων φυσικά δεν εξαντλείται στο ότι περιέχουν ασβέστιο, διότι αποτελούν πολύ σημαντική πηγή πρόσληψης Βιταμίνης D, καλίου, φωσφόρου, μαγνησίου, ψευδαργύρου και υψηλής βιολογικής αξίας πρωτεϊνών. Άλλες πολύ σημαντικές διαιτητικές πηγές ασβεστίου είναι οι σαρδέλες, η σόγια, το σπανάκι, τα φασόλια, το κουνουπίδι, το λάχανο και άλλες (61).

Το ασβέστιο έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως ως συμπλήρωμα σε οστεοπενικούς και οστεοπορωτικούς ασθενείς. Πρόσφατες μετά-αναλύσεις έχουν δείξει ότι συμπληρωματική χορήγηση ασβεστίου σε δόσεις μεγαλύτερες των 1350mg/ημέρα ελαττώνει την οστική απώλεια στον καρπό, στο ισχίο και την σπονδυλική στήλη, τουλάχιστον για κάποια χρόνια και συνεπώς

ελαττώνει τον καταγματικό κίνδυνο (62-64). Στις περισσότερες από τις μελέτες, ωστόσο, γίνεται και ταυτόχρονη χορήγηση Βιταμίνης D. Αξίζει να σημειωθεί ότι σε μια κλινική δοκιμή διάρκειας 5ετών (65), η συμπληρωματική χορήγηση ασβεστίου δεν φάνηκε να έχει ωφέλιμο αποτέλεσμα μετά τα 4 χρόνια, ενώ αντίθετα ταυτόχρονη χορήγηση Βιταμίνης D φάνηκε να συνεχίζει να αποτρέπει την οστική απώλεια. Η σημασία της αυξημένης πρόσληψης ασβεστίου για την διατήρηση της οστικής πυκνότητας είναι δεδομένη, σίγουρα όμως, δεν είναι αρκετή από μόνη της για να αποτρέψει την οστική απώλεια.

Φωσφόρος: Ο φωσφόρος αποτελεί το δεύτερο βασικότερο συστατικό των οστών. Μαζί με το ασβέστιο είναι απαραίτητα συστατικά για τον σωστό σχηματισμό των οστών, ενώ μια ανεπάρκεια φωσφόρου μπορεί να οδηγήσει σε ανεπαρκή επιμετάλλωση των οστών και οστεοβλαστική λειτουργία (66). Γενικά, η δυτικού τύπου διατροφή είναι πολύ πλούσια σε φωσφόρο, κυρίως λόγω των πρόσθετων στα τρόφιμα και των αναψυκτικών (61) και πολύ δύσκολα μπορεί να παρατηρηθεί ανεπάρκεια. Σε μελέτες μικρής διάρκειας έχει φανεί ότι υψηλή πρόσληψη φωσφόρου παράλληλα με χαμηλή πρόσληψη ασβεστίου μπορεί να τροποποιήσει τον μεταβολισμό του ασβεστίου και να αυξήσει την έκκριση παραθορμόνης (67), αλλά αυτό είναι κάτι που έχει παρατηρηθεί και σε χαμηλή πρόσληψη ασβεστίου μόνο. Αντιθέτως ο διπλασιασμός της διαιτητικής πρόσληψης φωσφόρου και η πρόσληψη αναψυκτικών με αυξημένο περιεχόμενο σε φώσφορο φάνηκε να έχει αμελητέα δράση στον μεταβολισμό των οστών (68, 69). Λίγες μελέτες που προσπάθησαν να συσχετίσουν την διαιτητική πρόσληψη φωσφόρου με την οστική πυκνότητα είτε δεν βρήκαν συσχέτιση (70) είτε βρήκαν θετική συσχέτιση (71). Πρέπει να σημειωθεί, όμως, ότι τρόφιμα με υψηλή περιεκτικότητα σε φωσφόρο συνήθως είναι ζωικής προέλευσης (κρέας και γαλακτοκομικά) τα οποία είναι άλλωστε και πλούσιες πηγές ασβεστίου και πρωτεΐνης υψηλής βιολογικής αξίας, με γνωστή ωφέλιμη δράση στην υγεία των οστών. Τέλος, δεν υπάρχουν μελέτες που να σχετίζουν την πρόσληψη φωσφόρου με καταγματικό κίνδυνο.

Μαγνήσιο: Το μαγνήσιο είναι σημαντικό μέταλλο στην ανάπτυξη και σταθερότητα των οστικών κρυστάλλων και βρίσκεται σε πληθώρα τροφίμων με πολύ καλές πηγές να αποτελούν τα δημητριακά ολικής άλεσης, οι ξηροί καρποί, τα όσπρια και τα πράσινα φυλλώδη λαχανικά (61). Η ανεπάρκεια μαγνησίου είναι σπάνια και μπορεί να παρατηρηθεί σε αλκοολικούς, ωστόσο πολλές μελέτες σχετίζουν την διαιτητική πρόσληψη μαγνησίου με την οστική πυκνότητα σε διάφορα ανατομικά σημεία και σε διάφορες ηλικιακές ομάδες (70, 72-75). Σχετικά με την δράση του μαγνησίου στην οστική πυκνότητα έχουν προταθεί διάφοροι μηχανισμοί. Πιο συγκεκριμένα, η ανεπάρκεια μαγνησίου μπορεί να οδηγήσει σε μη φυσιολογική παραγωγή παραθορμόνης και

ελάττωση των επιπέδων Βιταμίνης D στον ορό (76), μείωση του οστικού σχηματισμού, καθώς το μαγνήσιο είναι απαραίτητο για την αναπαραγωγή των οστεοβλαστών (77, 78). Σε πειραματικά μοντέλα επιμύων μπορεί να μεταβάλει την αναλογία OPG/RANKL, έτσι ώστε να αυξηθεί η οστεοκλαστογένεση (79) και μπορεί να οδηγήσει σε ελάττωση του IGF-I άρα και στη μείωση του οστικού σχηματισμού (80). Πρόκειται, λοιπόν, για ένα σημαντικό στοιχείο για την σκελετική υγεία.

Βιταμίνη D: Η δράση της έχει αναπτυχθεί νωρίτερα. Πλούσιες πηγές διαιτητικής πρόσληψης αποτελούν τα εμπλουτισμένα γαλακτοκομικά προϊόντα, τα λιπαρά ψάρια, τα αυγά, οι μαργαρίνες, το βούτυρο και το συκώτι (ανάλογα με τις ποσότητες βιταμίνης D που κατανάλωνε το ζώο) (61). Έχει υποστηριχθεί ότι συμπληρωματική χορήγηση βιταμίνης D δεν είναι απαραίτητη, καθώς η σύνθεση από την υπεριώδη ακτινοβολία μπορεί να καλύψει τις ανάγκες του ανθρώπινου οργανισμού. Ωστόσο, υπάρχουν αρκετές μελέτες που υποστηρίζουν ότι η διατροφική πρόσληψη πρέπει να αυξηθεί (81, 82), ιδιαίτερα σε ευπαθείς ομάδες, όπως οι ηλικιωμένοι, ακόμα και σε χώρες με επαρκή ηλιοφάνεια (83, 84). Υπάρχει πολύ μεγάλο πλήθος μελετών και μετά-αναλύσεων που δείχνουν ότι η συμπληρωματική χορήγηση Βιταμίνης D μπορεί να μειώσει στατιστικά σημαντικά τον κίνδυνο οστεοπορωτικών καταγμάτων σε δοσολογίες από 20μg/ημέρα (81, 82, 85-87), ενώ πρόσφατα δημοσιεύτηκε και μια μετά-ανάλυση 167 μελετών που έδειξε ότι ημερήσια πρόσληψη μεγαλύτερη από 17.5μg/ημέρα, παράλληλα με ασβέστιο (500-1200mg/ημέρα) μπορεί να μειώσει την οστική απώλεια στην σπονδυλική στήλη, στο ισχίο και σε όλο το σώμα σε σχέση με εικονική αγωγή (88). Από τα παραπάνω είναι σαφής ότι η συμπληρωματική χορήγηση Βιταμίνης D έχει σημαντικά οφέλη για την υγεία των οστών και μπορεί να μειώσει τον καταγματικό κίνδυνο. Συνεπώς η ενημέρωση του κοινού προς την αύξηση της πρόσληψης της είναι κάτι που κρίνεται απαραίτητο (17).

Βιταμίνη K: Η Βιταμίνη K συνεχώς τείνει να κινεί το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας σχετικά με τον ρόλο της στον οστικό μεταβολισμό.

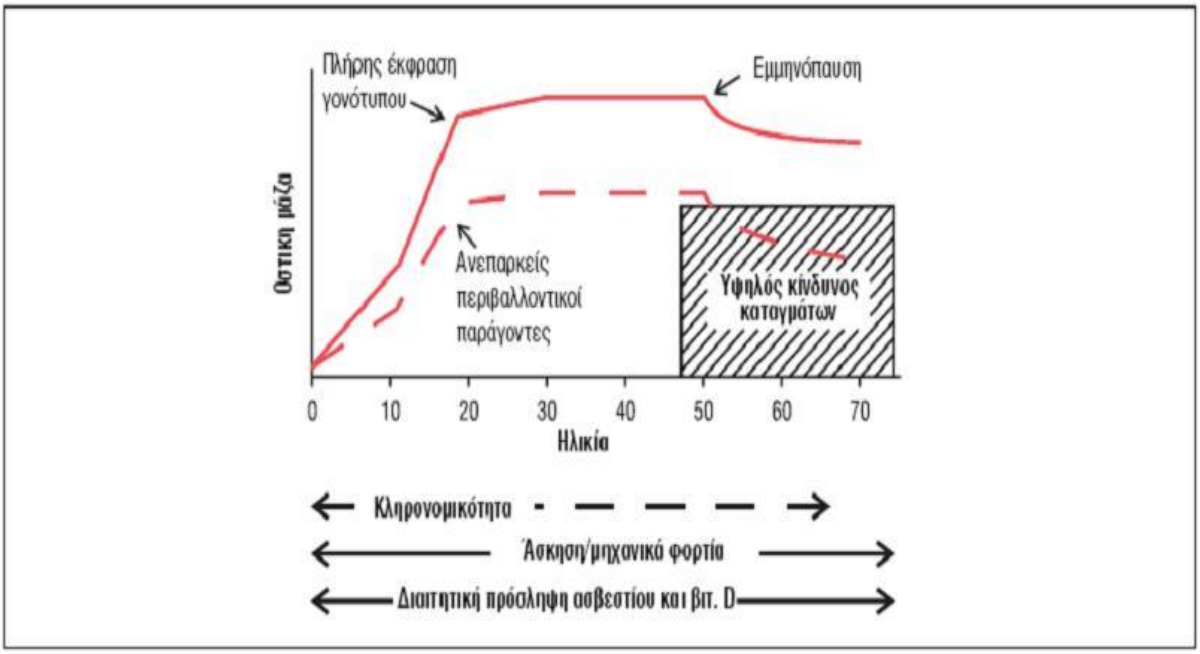
Πλούσιες πηγές διατροφικής πρόσληψης Βιταμίνης K1 (φυλλοκινόνης) είναι τα πράσινα φυλλώδη λαχανικά όπως σπανάκι, φύλλα από παντζάρια κλπ, τα φυτικά λίπη και μαργαρίνες. Η βιταμίνη K2 απαντάται σε δύο κυρίως μορφές την μενακινόνη – 4 και την μενακινόνη – 7. Κυριότερες πηγές μενακινόνης – 4 είναι το συκώτι, τα αυγά και το κρέας ενώ η μενακινόνη – 7 απαντάται κυρίως σε προϊόντα ζύμωσης όπως τυριά και το γιαπωνέζικο νάττο (89).

Αρκετές μεγάλες επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει σχέση μεταξύ διατροφικής πρόσληψης Βιταμίνης K και σκελετικής υγείας (23, 90-92). Πιο συγκεκριμένα, και αυτές οι μελέτες

έδειξαν συσχέτιση μεταξύ χαμηλής πρόσληψης βιταμίνης Κ, που μετρήθηκε με ερωτηματολόγια συχνότητας, αλλά και 7ήμερα ημερολόγια καταγραφής (91), και εμφάνισης καταγμάτων ισχίου και σπονδυλικής στήλης (92) και χαμηλής οστικής πυκνότητας. Επιπρόσθετα, τα επίπεδα φυλλοκινόνης στο αίμα φάνηκαν συσχετίζονται με το ποσοστό υποκαρβοξυλιωμένης οστεοκαλσίνης (93) και με αυξημένη οστική πυκνότητα (94). Ωστόσο, οι επιδημιολογικές μελέτες εξετάζουν την πρόσληψη κυρίως φυλλοκινόνης που βρίσκεται σε πράσινα φυλλώδη λαχανικά που έχουν και πολλά άλλα ωφέλιμα συστατικά, ενώ αυξημένη πρόσληψή τους μπορεί να είναι αποτέλεσμα ενός γενικότερα υγιεινότερου τρόπου ζωής. Συνεπώς, καλά ελεγχόμενες κλινικές παρεμβάσεις είναι απαραίτητες για να ελέγξουν πιθανή σχέση μεταξύ πρόσληψης Βιταμίνης Κ και σκελετικής υγείας. Συγκριτικά με τις διάφορες μορφές βιταμίνης Κ η μενακινόνη – 7 έχει φανεί να απορροφάται πολύ καλύτερα από την μενακινόνη – 4 και να έχει πολύ καλύτερη βιοδιαθεσιμότητα από τη φυλλοκινόνη (89). Επιπρόσθετα χορήγηση σε διαιτητικά εφικτή δόση μενακινόνης – 7 (45-90μg) έχει φανεί να μπορεί να μειώσει τα επίπεδα υποκαρβοξυλιωμένης οστεοκαλσίνης (95, 96) κάτι που επιτεύχθηκε με πολύ μεγαλύτερες δόσεις μενακινόνης – 4 (1500μg) (97).

Σε επίπεδο κλινικών δοκιμών τα αποτελέσματα χορήγησης Βιταμίνης Κ είναι θετικά ως προς την αύξηση οστική πυκνότητας και την ελάττωση του καταγματικού κινδύνου. Αναλυτικότερα μια σειρά από μελέτες (98-109) έδειξαν ότι χορήγηση 10mg έως 45mg Βιταμίνης Κ είχε σαφή οφέλη και η Βιταμίνη Κ2 φάνηκε να έχει ισχυρότερη δράση από την Βιταμίνη Κ1, κάτι που επιβεβαιώθηκε και από μια μετά-ανάλυσή τους (110). Αξίζει να σημειωθεί ότι σε όλες τις μελέτες που έχουν γίνει με στόχο την ελάττωση του καταγματικού κινδύνου ή την αύξηση της οστικής πυκνότητας έχουν χορηγηθεί δόσεις πολύ μεγαλύτερες από την συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη των 90-120μg/ ημέρα και πολύ μεγαλύτερη από την διατροφικά εφικτή, κυρίως επειδή η χορήγηση αφορά μενακινόνη – 4. Πρόσφατα μόνο δημοσιεύτηκε μια μελέτη των Knapen και συν. που έδειξαν ότι χορήγηση 180μg μενακινόνης – 7 για τρία χρόνια μπορεί να βοηθήσει στη μείωση της οστικής απώλειας σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (111).

Εικόνα 1.2 Η οστική μάζα στα στάδια της ζωής και οι παράγοντες που την επηρεάζουν.



Αξίζει να σημειωθεί ότι μετά την αναγνώριση του πλήθους παραγόντων κινδύνου για την εμφάνιση της οστεοπόρωσης ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας προχώρησε στην ανάπτυξη ενός αλγορίθμου που ως στόχο έχει την αναγνώριση των ασθενών με υψηλό καταγματικό κίνδυνο. Ο στόχος του αλγορίθμου αυτού δεν είναι να διαγνώσει την νόσο ούτε να προσδιορίσει θεραπευτική αγωγή, αλλά απλά να εντοπίσει άτομα με στατιστικά υψηλό κίνδυνο να υποστούν κάποιο κάταγμα την επόμενη 10ετία και που χρήζουν φαρμακευτική αντιμετώπιση. Υπάρχει διαθέσιμο στην ιστοσελίδα http://www.shef.ac.uk/FRAX/ και αποτελεί ένα χρήσιμο εργαλείο.

1.6 Ανασκόπηση Βιβλιογραφίας - Αναφορά σε μελέτες συνδυαστικής χορήγησης συμπληρωμάτων/ εμπλουτισμένων προϊόντων παράλληλα με ή χωρίς διατροφική συμβουλευτική ή μόνο διατροφικής συμβουλευτικής

Στην διαγνωσμένη οστεοπόρωση η φαρμακευτική θεραπεία είναι η μόνη λύση και στοχεύει στην πρόληψη της απώλειας οστού και στην αύξηση του οστίτη οστού, ώστε να μειωθούν οι πιθανότητες μελλοντικού κατάγματος. Σε περιπτώσεις δευτεροπαθούς οστεοπόρωσης, η θεραπεία αποσκοπεί στη διόρθωση της υποκείμενης διαταραχής. Οι φαρμακευτικές αγωγές της πρωτοπαθούς οστεοπόρωσης είναι, η θεραπεία υποκατάστασης οιστρογόνων, η θεραπεία με καλσιτονίνη, η χορήγηση διφωσφονικών ενώσεων (π.χ. αλεδρονάτης) που αναστέλλουν την οστεοκλαστική δραστηριότητα του οστίτη ιστού, οι εκλεκτικοί τροποποιητές των οιστρογονικών υποδοχέων που έχουν συναγωνιστική δράση με τα οιστρογόνα (112), ορμονική θεραπεία υποκατάστασης, διάφοροι αναβολικοί παράγοντες (τεριπαρατίδη, παραθορμόνη), θεραπεία με ρανελικό στρόντιο, στεροειδή αναβολικά (νανδρολόνη) και, εφόσον η διατροφή δεν επαρκεί, η χορήγηση μικρών δόσεων ασβεστίου και βιταμίνης D (7, 55).

Ωστόσο, πολύ σημαντικά οφέλη μπορεί να έχει η αλλαγή στον τρόπο ζωής χωρίς φαρμακευτική αγωγή είτε αφορά φυσιολογικά είτε οστεοπενικά άτομα. Η πρόληψη μπορεί να επιτευχθεί με μια σειρά από μη φαρμακευτικές παρεμβάσεις σε επίπεδο τρόπου ζωής. Αυτές οι παρεμβάσεις μπορεί να γίνονται καθ' όλη την διάρκεια της ζωής του ατόμου με στόχο την επίτευξη το δυνατόν υψηλότερης οστικής πυκνότητας, ή με στόχο την διατήρηση της και την ελαχιστοποίηση της απώλειας της. Ο στόχος των παρεμβάσεων αυτών είναι η υιοθέτηση ενός πιο υγιεινού τρόπου ζωής και τροποποίηση συμπεριφορών, έτσι ώστε να προάγουν την υγεία.

Αρκετές τυχαιοποιημένες κλινικές δοκιμές έχουν γίνει για την μελέτη της επίδρασης συμπληρωματικής χορήγησης ασβεστίου, βιταμίνης D και βιταμίνης K (σε μορφή συμπληρωμάτων ή μέσα από εμπλουτισμένα διατροφικά προϊόντα) μεμονωμένα ή και συνδυαστικά στην οστική πυκνότητα μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών. Αρκετές περιλαμβάνουν μαζί και προγράμματα ενίσχυσης φυσικής δραστηριότητας και κάποια προγράμματα διατροφικής συμβουλευτικής. Επιπλέον, κάποιες μελέτες έχουν γίνει μόνο με προγράμματα διατροφικής συμβουλευτικής.

1.6.1 Μελέτες με συμπληρώματα χωρίς συμπεριφοριστική παρέμβαση

Ξεκινώντας με τις μελέτες χορήγησης ασβεστίου και βιταμίνης D σε μορφή συμπληρωμάτων, η μεγαλύτερη μελέτη ήταν αυτή των Jackson, και συν. (113). Σε αυτή την μελέτη χορηγήθηκαν 1000mg Ασβεστίου και 10μg Βιταμίνης D, σε μορφή συμπληρωμάτων, για 9 χρόνια

σε 1230 γυναίκες, ενώ σε 1201 χορηγήθηκε πλασματική αγωγή. Οι γυναίκες αυτές δεν ακολούθησαν κανένα πρόγραμμα συμβουλευτικής για τροποποίηση συνηθειών ζωής άσκησης και διατροφής. Η μελέτη αυτή έδειξε ότι υπήρχε στατιστικά σημαντικό όφελος στην οστική πυκνότητα στο ισχίο στα 3, στα 6 και στα 9 χρόνια, με 0,59%, 0,86% και 1.06% μεγαλύτερη οστική πυκνότητα στην ομάδα που έπαιρνε τα συμπληρώματα έναντι της ομάδας με την πλασματική αγωγή. Καμία στατιστικά σημαντική διαφορά δεν παρατηρήθηκε στην οστική πυκνότητα της σπονδυλικής στήλης ή όλου του σώματος. Δεύτερη μελέτη ήταν αυτή των Meier, και συν. (114), όπου σε 17 γυναίκες δόθηκαν σε συμπληρώματα 500mg ασβεστίου και 12,5μg Βιταμίνης D για ένα χρόνο, ενώ 12 αποτέλεσαν την ομάδα ελέγχου. Στην παρούσα μελέτη δεν υπήρχε κανένα πρόγραμμα συμβουλευτικής για τροποποίηση συνηθειών ζωής άσκησης και διατροφής. Η ομάδα παρέμβασης αύξησε στατιστικά σημαντικά την οστική της πυκνότητα κατά 0.8% έναντι ελάττωσης 0.3% στην ομάδα ελέγχου στην σπονδυλική στήλη, ενώ παρουσίασε στατιστικά σημαντική μεταβολή στο ισχίο με αύξηση 0.1% έναντι μείωσης 1% της ομάδας ελέγχου. Μια τρίτη μελέτη των Chapuy και συν. (115), επίσης χωρίς διατροφική συμβουλευτική, σε 583 γυναίκες έδειξε ότι οι 389 που λάμβαναν καθημερινά 1200mg Ασβεστίου και 20μg Βιταμίνης D για 24 μήνες είχαν στατιστικά σημαντική αύξηση της οστικής πυκνότητας στο ισχίο κατά 0.29% έναντι μείωσης 2.36% στην ομάδα πλασματικής θεραπείας που αποτελούνταν από 194 γυναίκες. Επιπρόσθετα, παρατηρήθηκε αύξηση των επιπέδων Ασβεστίου και Βιταμίνης D ορού και μείωση των επιπέδων παραθορμόνης ορού της ομάδας παρέμβασης έναντι της ομάδας πλασματικής αγωγής. Σε άλλη μια μελέτη των Baeksgaard και συν. (116), στην οποία σε 160 γυναίκες χορηγήθηκαν, 1000mg ασβεστίου και 14μg Βιταμίνης D για 24 μήνες ενώ άλλες 80 γυναίκες αποτελούσαν την ομάδα ελέγχου, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση της οστικής πυκνότητας μόνο στην σπονδυλική στήλη κατά 1.6% έναντι της ομάδας ελέγχου. Σε επίπεδο βιοχημικών δεικτών αύξηση φάνηκε στα επίπεδα Βιταμίνης D ορού και μείωση στα επίπεδα παραθορμόνης. Ούτε σε αυτή την μελέτη υπήρξε διατροφική συμβουλευτική. Οι Dawson-Hughes και συν., σε μια μελέτη τους έδειξαν στατιστικά σημαντική αύξηση στην οστική πυκνότητα στην σπονδυλική στήλη, στο ισχίο και σε όλο το σώμα (117), μετά από χορήγηση 17.5μg Βιταμίνης D και 500mg ασβεστίου σε 148 άντρες και γυναίκες έναντι της ομάδας πλασματικής χορήγησης 170 ατόμων. Τέλος, μια πολύ ενδιαφέρουσα μελέτη σχετικά με την επίδραση της Βιταμίνης D αποκλειστικά στην οστική πυκνότητα έγινε από τον Hunter και συν. (118), σε 79 ζευγάρια μονοζυγωτικούς διδύμους. Η μελέτη αυτή διήρκησε 2 χρόνια κατά τη διάρκεια των οποίων χορηγήθηκαν 20μg Βιταμίνης D και πλασματική αγωγή αντίστοιχα σε κάθε ένα από τα δίδυμα αδέρφια. Δεν έγινε κανενός τύπου διατροφική συμβουλευτική. Τελικά, δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά

μεταξύ των δύο ομάδων σε επίπεδο οστικής πυκνότητας στην σπονδυλική στήλη και στο ισχίο ούτε σε βιοχημικούς δείκτες, εκτός από τα επίπεδα Βιταμίνης D ορού που ήταν σαφώς πιο υψηλά στην ομάδα χορήγησης.

Ακόμη, ένας αριθμός μελετών έχει γίνει με χορήγηση Βιταμίνης Κ, είτε μόνη της είτε συνδυαστικά με ασβέστιο ή και Βιταμίνη D. Η διάρκειά τους κυμαίνεται από 6 έως 36 μήνες. Η πρώτη μελέτη των Braam και συν. (98), έδειξε στατιστική σημαντικά αύξηση της οστικής πυκνότητας στο ισχίο μετά από χορήγηση 1 mg φυλλοκινόνης σε συνδυασμό με ασβέστιο και Βιταμίνη D κατά 1.3% έναντι της ομάδας ελέγχου. Η μελέτη των Ishida και συν. (99), έδειξε ότι χορήγηση 45mg φυλλοκινόνης μειώνει την οστική απώλεια σε διάρκεια 2 ετών έναντι τις ομάδας ελέγχου. Ωστόσο, η ετιδρονάτη, η καλσιτονίνη και η ορμονική υποκατάσταση φάνηκαν να είναι πολύ πιο δραστικές. Αξίζει να σημειωθεί ότι στην συγκεκριμένη μελέτη φάνηκε η φυλλοκινόνη να είναι πιο αποτελεσματική από την Βιταμίνη D, καθώς η πρώτη οδήγησε σε μείωση 1.9% ενώ η δεύτερη σε μείωση 3.9% της οστικής πυκνότητας στον καρπό. Πιο δραστική φάνηκε, επίσης, από την Βιταμίνη D στην μελέτη των Iwamoto και συν. (100), σε 77 γυναίκες μοιρασμένες σε 4 ομάδες (Βιταμίνη Κ2, Βιταμίνη D, ορμονική υποκατάσταση και ομάδα ελέγχου), στο να μειώνει την οστική απώλεια στην σπονδυλική στήλη έναντι της ομάδας ελέγχου, όχι όμως με στατιστικά σημαντικό τρόπο. Σαφέστατα η ορμονική υποκατάσταση και σε αυτήν την μελέτη έδωσε πιο δραστικά αποτελέσματα. Επίσης, έδειξαν ότι 45mg μενακινόνης – 4 έδωσε 1.34% μικρότερη οστική απώλεια στην σπονδυλική στήλη (101). Σε μια άλλη δημοσίευση από αυτή την μελέτη φάνηκε αύξηση της καρβοξυλιωμένης οστεοκαλσίνης στην ομάδα που έπαιρνε μενακινόνης – 4, ενώ σε μια τρίτη δημοσίευση φάνηκε ότι η ομάδα που έπαιρνε μενακινόνης – 4 είχε παρόμοια ελάττωση καταγματικού κινδύνου συγκρίσει της ομάδας ετιδρονάτης (102). Σε μία πιλοτική μελέτη των Nishiguchi και συν. (104) φάνηκε αύξηση στην οστική πυκνότητα της σπονδυλικής στήλης κατά 0.3% και ελάττωση στην ομάδα ελέγχου κατά 3.5%. Παράλληλα, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση στα επίπεδα καρβοξυλιωμένης οστεοκαλσίνης. Παρά του ότι ήταν μια μελέτη με μικρό δείγμα, 30 γυναίκες, είχε διάρκεια δύο χρόνια, ενώ η δόση Βιταμίνης Κ που χορηγήθηκε ήταν 45mg ημερησίως. Τέλος, ενδιαφέρουσα μελέτη ήταν αυτή των Shiraki και συν. (108) όπου 45mg μενακινόνης – 4 για δύο χρόνια έδειξε ότι ελαττώνει στατιστικά σημαντικά την οστική απώλεια στην σπονδυλική στήλη σε 120 οστεοπορωτικούς ασθενείς που έλαβαν θεραπεία, έναντι 121 που ήταν στην ομάδα ελέγχου. Παρατηρούμε σε όλες τις μελέτες με συμπληρωματική χορήγηση Βιταμίνης Κ η δοσολογία ήταν σε φαρμακευτικές δόσεις, κατά 100 έως 450 φορές μεγαλύτερη της συνιστώμενης ημερήσιας διαιτητικής πρόσληψης. Εξαίρεση αποτελούν 2 μελέτες που δημοσιεύτηκαν πρόσφατα των Genius και συν. (119) και των Knapen και συν. (111). Στην

πρώτη χορηγήθηκε ένα μίγμα θρεπτικών συστατικών όπως δεκαεξανοϊκό οξύ (250mg/ημέρα), 50μg/ημέρα βιταμίνης D3, 100μg μενακινόνης – 7, 680mg κιτρικό στρόντιο, 25mg μαγνησίου με παράλληλη αύξηση διαιτητικής πρόσληψης ασβεστίου και προτροπή για φυσική δραστηριότητα για 12 μήνες σε 77 εθελοντές. Η μελέτη αυτή έδειξε αύξηση της οστικής μάζας σε στο ισχίο και στη σπονδυλική στήλη. Σοβαρό μειονέκτημα της εν λόγω μελέτης είναι ότι δεν υπήρχε ομάδα ελέγχου. Η δεύτερη χορήγησε 180μg/ ημέρα μενακινόνης – 7 σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες για 3 χρόνια και έδειξε ότι η χορήγηση της από μόνη της μπορεί να ελαττώσει το ρυθμό οστικής απώλειας στη σπονδυλική στήλη και στο ισχίο έναντι της ομάδας ελέγχου. Αξίζει να σημειωθεί ότι η χορηγούμενη δοσολογία Βιταμίνης Κ είναι πολύ μεγαλύτερη όταν είναι μενακινόνη – 4 από ότι όταν είναι μενακινόνη – 7 καθώς η δεύτερη έχει φανεί ότι παρουσιάζει πολύ υψηλότερη απορρόφηση και μεγαλύτερη βιοδιαθεσιμότητα (89).

Παρατηρούμε, λοιπόν, ότι στις μελέτες με συμπληρωματική χορήγηση σκευασμάτων δεν έχει γίνει καμία παράλληλα με κάποιο πρόγραμμα διατροφικής συμβουλευτικής. Ο κύριος στόχος τους ήταν να αξιολογηθεί η απλή συμπληρωματική χορήγηση Ασβεστίου, Βιταμίνης D, ή Βιταμίνης Κ ή συνδυασμού αυτών.

1.6.2 Μελέτες με εμπλουτισμένα γαλακτοκομικά προϊόντα χωρίς συμπεριφοριστική παρέμβαση

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η κατηγορία μελετών που η συμπληρωματική χορήγηση έχει γίνει μέσα από εμπλουτισμό γαλακτοκομικών προϊόντων. Τα γαλακτοκομικά προϊόντα είναι φυσική πηγή ασβεστίου, ενώ παράλληλα περιέχουν μεγάλη ποσότητα υψηλής βιολογικής αξίας πρωτεΐνες, μαγνήσιο και φώσφορο.

Η πρώτη μελέτη ήταν των Prince και συν. (120) το 1995. Σε αυτή τη μελέτη συμμετείχαν 168 γυναίκες που μοιράστηκαν σε 4 ομάδες. Η πρώτη ομάδα πήρε ταμπλέτες ασβεστίου 1gr/ ημέρα, η δεύτερη ομάδα ταμπλέτες ασβεστίου, ενώ παρακολούθησε και ένα πρόγραμμα αύξησης φυσικής δραστηριότητας, η τρίτη ομάδα γάλα σε σκόνη εμπλουτισμένο με 1gr ασβεστίου ανά μερίδα, ενώ η τέταρτη ομάδα ήταν ομάδα ελέγχου. Στην συγκεκριμένη μελέτη αύξηση φάνηκε στη οστική πυκνότητα του ισχίου και στις τρεις ομάδες παρέμβασης, ενώ η ομάδα που είχε και φυσική δραστηριότητα με βάρη αύξησε περισσότερο την οστική πυκνότητα στον λαιμό του μηριαίου οστού, σημείο ιδιαίτερα ευαίσθητο στα οστεοπορωτικά κατάγματα. Ωστόσο, καμία στατιστικά σημαντική μεταβολή δεν παρατηρήθηκε στην σπονδυλική στήλη.

Μία δεύτερη πολύ ενδιαφέρουσα κλινική δοκιμή από τους Cleghorn και συν. (121), στην οποία συμμετείχαν 115 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (λιγότερο από πέντε χρόνια στην εμμηνόπαυση) και χωρίστηκαν σε δύο ομάδες. Η πρώτη ομάδα έπαιρνε εμπλουτισμένο γάλα με συνολική ημερήσια πρόσληψη 1250mg ασβεστίου, ενώ η δεύτερη ομάδα ακολουθούσε συνήθη διατροφή. Το δεύτερο χρόνο οι ομάδες αντιστράφηκαν έτσι ώστε κάθε γυναίκα να αποτελεί έλεγχο για τον εαυτό της. Στο χρονικό διάστημα πρόσληψης του εμπλουτισμένου γαλακτοκομικού φάνηκε ελαττωμένη απώλεια οστικής μάζας στην σπονδυλική στήλη κατά 1,76%, ενώ δεν φάνηκε στατιστικά σημαντική διαφορά σε κάποιο άλλο ανατομικό σημείο. Τέλος, φάνηκε ελάττωση των επιπέδων πυριδινολίνης και δεοξυπυριδινολίνης κατά την διάρκεια της χορήγησης του εμπλουτισμένου γάλακτος.

Επόμενη μελέτη ήταν αυτή των Lau και συν. (122) που δοκίμασαν να δώσουν εμπλουτισμένο γάλα με 800mg ασβεστίου και 6 μg Βιταμίνη D την ημέρα σε 100 ασιάτισσες, ενώ άλλες 100 αποτελούσαν την ομάδα ελέγχου. Μια ιδιαιτερότητα της συγκεκριμένης μελέτης είναι ότι η πληθυσμιακή αυτή ομάδα έχει πολύ χαμηλή πρόσληψη ασβεστίου (<500mg/ημέρα), ίσως για αυτό το λόγο η συμπληρωματική χορήγηση από το εμπλουτισμένο γαλακτοκομικό να ήταν τόσο καταλυτική και να εμφανίστηκε μετά από δύο χρόνια στατιστικά σημαντική ελάττωση της οστικής απώλειας στο ισχίο, στην σπονδυλική στήλη και σε όλο το σώμα. Καμία διατροφική συμβουλευτική δεν έγινε, ωστόσο, με αποτέλεσμα στο τέλος της μελέτης οι γυναίκες της ομάδας παρέμβασης να έχουν αυξήσει στατιστικά σημαντικά το βάρος τους έναντι της ομάδας ελέγχου.

Μία ακόμα μελέτη σε ασιάτισσες των Chee και συν. (123), με ίδιο δείγμα και διάρκεια με την προηγούμενη, αλλά με χορήγηση 1200mg Ασβεστίου και 10μg Βιταμίνης D ημερησίως στο προϊόν, έδειξε ότι η ομάδα των γαλακτοκομικών ελάττωσε τη οστική απώλεια στην σπονδυλική στήλη, στο ισχίο, στο λαιμό του μηριαίου οστού και σε όλο το σώμα με στατιστικά σημαντικό τρόπο έναντι της ομάδας ελέγχου. Εδώ, επίσης, δεν υπήρχε διατροφική συμβουλευτική, έγινε έλεγχος συμμόρφωσης, ενώ η εθελόντριες δεν αύξησαν το βάρος στατιστικά σημαντικά.

Πιο πρόσφατη μελέτη ήταν αυτή των Kruger και συν. (124) που έγινε σε 63 μετεμμηνοπαυσιακές Κινέζες άνω των 55 ετών στις οποίες χορηγήθηκε γάλα εμπλουτισμένο με ασβέστιο και βιταμίνη D για 12 εβδομάδες και φάνηκε να επιβραδύνει των οστικό καταβολισμό όπως εκτιμήθηκε από βιοχημικούς δείκτες (PINP και CTX). Δυστυχώς οι ερευνητές δεν παραθέτουν αποτελέσματα οστικής πυκνότητας.

Επόμενη μελέτη ήταν αυτή των Bonjour και συν. (125) το 2012 κατά την οποία χορηγήθηκαν σε 71 γυναίκες 50-65 ετών για 6 εβδομάδες 200γρ μαλακό τυρί ανά ημέρα εμπλουτισμένο με 2,5μg βιταμίνης D και 400mg ασβεστίου. Αυτό οδήγησε σε ελάττωση του παράγοντα TRAP 5b στον ορό και αύξηση του IGF-1 στο τέλος της παρέμβασης. Τα ευρήματα αυτά κατά τους συγγραφείς συνάδουν με ελάττωση της οστικής απώλειας στις γυναίκες αυτές. Δυστυχώς, εξαιτίας και της μικρής διάρκειας της μελέτης δεν παρουσιάστηκαν αποτελέσματα μεταβολής στην οστική μάζα.

Τέλος πρόσφατα δημοσιεύθηκε μια μελέτη των Gui και συν. (126) κατά την οποία χορηγήθηκαν σε 98 μη οστεοπορωτικές γυναίκες 250mg ασβεστίου διαμέσου γάλακτος για 18 μήνες κάτι που επέφερε στατιστικά σημαντικά μικρότερη οστική απώλεια στο ισχίο και στον αυχένα του μηριαίου οστού.

Από τα παραπάνω παρατηρούμε ότι δεν έχει υπάρξει μελέτη με συνδυαστική χορήγηση ασβεστίου, βιταμίνης D και βιταμίνης K διαμέσου γαλακτοκομικών προϊόντων.

1.6.3 Μελέτες μόνο με συμπεριφοριστική παρέμβαση

Αρκετές μελέτες έχουν γίνει για την αναγνώριση της βαρύτητας των παραγόντων μη συμμόρφωσης στις οδηγίες για το ασβέστιο και την άσκηση και για την αντίληψη του κοινού σχετικά με την οστεοπόρωση. Οι περισσότερες από τις μελέτες δείχνουν ότι το κοινό δεν είναι αρκετά ενημερωμένο και δεν γνωρίζει πολλά για την πάθηση. Συνεπακόλουθο είναι ότι, όσο λιγότερο ευπαθής είναι μια ομάδα, τόσο λιγότερες γνώσεις έχει. Για παράδειγμα οι άντρες έχει φανεί να γνωρίζουν πολύ λιγότερα σε σχέση με τις γυναίκες (127), όπως οι ηλικιωμένες γυναίκες έναντι των νεότερων καθώς επίσης οι καυκάσιες εν συγκρίσει με τις άλλες φυλές (128). Εντυπωσιακό είναι, ωστόσο, ότι το μορφωτικό επίπεδο δεν φάνηκε να παίζει κάποιο ρόλο (128).

Αρκετά σημαντικό ρόλο φαίνεται να διαδραματίζει η διαδικασία της εξέτασης για την οστεοπόρωση. Υπάρχει μια μελέτη από την οποία έχουν δημοσιευτεί μερικές εργασίες που έχει δείξει ευαισθητοποίηση του κοινού μετά την εξέταση για οστεοπόρωση (129, 130). Πιο συγκεκριμένα φάνηκε ότι οι γυναίκες που εξετάστηκαν για οστεοπόρωση με απορροφησιομετρία διπλής ενέργειας είχαν μεγαλύτερο σκορ αντίληψης της προδιάθεσης για την πάθηση, αύξησαν την πρόσληψη ασβεστίου και την χρήση φαρμακευτικής αγωγής, όπου χρειαζόταν. Είναι χαρακτηριστικό ότι απλά και μόνο η επαφή με την εξέταση είναι αρκετή για να ευαισθητοποιήσει τις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Πολύ ενδιαφέρον είναι το μοντέλο αγωγής υγείας που

προτείνεται από αυτή την μελέτη (129), στο οποίο φαίνεται η σημασία που δίνεται στη αυτο-αποτελεσματικότητα όπως έχει υιοθετηθεί από την Κοινωνική Γνωσιακή Θεωρία. Πρέπει να αναφερθεί ότι σε δυο πρόσφατες συγχρονικές μελέτες η αυξημένη αυτο-αποτελεσματικότητα φάνηκε να είναι ο κυριότερος προγνωστικός παράγοντας υιοθέτησης προληπτικών συμπεριφορών απέναντι στην οστεοπόρωση (131, 132).

Όσον αφορά μελέτες παρέμβασης που χρησιμοποίησαν συμπεριφοριστικά μοντέλα, μόνο για την ευαισθητοποίηση του κοινού σχετικά με την εν λόγω πάθηση, η βιβλιογραφία δεν έχει να μας δώσει πλούσια δεδομένα. Η πρώτη μελέτη έγινε το 2000 από τους Sedlak, και συν. (133), και αξιολογήθηκαν τρία προγράμματα αγωγής υγείας. Ένα σύντομο, μιας συνεδρίας 45 λεπτών, ένα μέτριας διάρκειας μιας συνεδρίας 3 ωρών και ένα πιο εντατικό 3 συνεδριών σε 3 εβδομάδες. Δυστυχώς, δεν μπορούν να συγκριθούν μεταξύ τους διότι έγιναν σε διαφορετικές πληθυσμιακές ομάδες. Το πρώτο έγινε σε νοσηλεύτριες ηλικίας άνω των 35 ετών, το δεύτερο σε ένα ανομοιογενές ηλικιακά δείγμα, ενώ το τελευταίο σε νεαρές φοιτήτριες. Αυτό που μπορεί να εξαχθεί, όμως, είναι ότι και οι τρεις ομάδες παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές αλλαγές στο γνωσιολογικό τους υπόβαθρο σχετικά με την νόσο με πιο μεγάλη αύξηση των γνώσεων από τη μεγαλύτερη ηλικιακά ομάδα, ενώ παρουσιάστηκε αύξηση στην πρόσληψη ασβεστίου και την φυσική άσκηση και στις τρεις ομάδες όχι, όμως, στατιστικά σημαντική. Στη δεύτερη μελέτη από τους Tussing, και συν. (134), το 2005 εφαρμόστηκε ένα πρόγραμμα για την ενίσχυση της αυτο-αποατελεσματικότητας σε 42 γυναίκες χρησιμοποιώντας εργαλεία από το Υπόδειγμα Πεποίθησης για την Υγεία και από το Υπόδειγμα Δικαιολογημένης Συμπεριφοράς. Το πρόγραμμα διήρκησε 8 εβδομάδες με 8 συνολικά συνεδρίες. Μετά την παρέμβαση οι γυναίκες είχαν αυξήσει την πρόσληψη ασβεστίου από 644mg ημερησίως σε 821mg, πάλι λιγότερο, ωστόσο, από τα 1200mg που προτείνονται, είχαν αυξήσει την αντίληψη κινδύνου για εμφάνιση της νόσου και την αυτο-αποτελεσματικότητά τους στην ανάληψη δράσης. Η εν λόγω μελέτη δηλώνει ότι αλλαγές στην συμπεριφορά είναι εφικτές μέσα από προγράμματα αγωγής υγείας. Μία τρίτη μελέτη το 2006 έδειξε ότι μετά από μία 45λεπτη ενημέρωση αναφορικά με την οστεοπόρωση σε κινέζες ηλικίας 18 έως 30 ετών και δύο ενημερωτικές τηλεφωνικές επικοινωνίες στον επόμενο μήνα υπήρξε, στο τέλος του μήνα, αύξηση στη φυσική δραστηριότητα, αύξηση της έκθεσης στον ήλιο και αύξηση της κατανάλωσης γαλακτοκομικών και σόγιας για την ομάδα παρέμβασης και την ομάδα ελέγχου. Η μία και μοναδική συνεδρία δεν στηρίχθηκε σε κάποιο συγκεκριμένο μοντέλο διατροφικής αγωγής είχε ωστόσο κάποια στοιχεία του υποδείγματος πεποίθησης για την υγεία. Στην παρούσα μελέτη η ένταση της παρέμβασης παρά του ότι ήταν μικρή είχε αποτέλεσμα στην αλλαγή συμπεριφορών

ωστόσο ο χρόνος επανεξέτασης (1 μήνας) είναι μικρός καθώς δεν υπήρξε και επανέλεγχος αργότερα ώστε να ελεγχθεί η μακρόχρονη προσκόλληση στις συστάσεις.

Παρά το ότι έχουν γίνει πολύ λίγες μελέτες για την χρήση προγραμμάτων αγωγής υγείας για την πρόληψη της οστεοπόρωσης, φαίνεται ότι το κοινό είναι εφικτό να ευαισθητοποιηθεί, ενώ η χρήση μοντέλων αγωγής υγείας φαίνεται να αποτελεί ένα χρήσιμο εργαλείο προς αυτή την κατεύθυνση. Επιπρόσθετα δεν υπάρχει αξιολόγηση της επίδρασης τέτοιων προγραμμάτων μεγάλο χρονικό διάστημα μετά το τέλος της παρέμβασης έτσι ώστε να ελεγχθεί η μακρόχρονη προσκόλληση των εθελοντών στις συστάσεις.

1.6.4 Μελέτες με συνδυασμό συμπληρωμάτων/ εμπλουτισμένων προϊόντων και διατροφικής συμβουλευτικής.

Τέλος, στο σημείο αυτό θα γίνει αναφορά στις κλινικές δοκιμές με παράλληλη χρήση συμπληρωμάτων ή εμπλουτισμένων προϊόντων και διατροφικής συμβουλευτικής. Σε αυτή την περίπτωση μόνο 3 κλινικές δοκιμές έχουν γίνει.

Η πρώτη κλινική δοκιμή έγινε από τους Storm και συν. (135). Σε αυτή την μελέτη 60 μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες χωρίστηκαν σε 3 ομάδες. Η πρώτη ομάδα αποτελούσε ομάδα πλασματικής χορήγησης, η δεύτερη ομάδα έλαβε συμπληρώματα ασβεστίου 1000mg ημερησίως και η τρίτη ομάδα λάμβανε 4 μερίδες γάλακτος εμπορίου ημερησίως για να έχει την ίδια διατροφική πρόσληψη ασβεστίου. Επιπρόσθετα, όλες οι ομάδες παρακολουθούσαν συνεδρίες διατροφικής συμβουλευτικής μια φορά το τρίμηνο στα 2 χρόνια που διήρκησε η μελέτη. Στατιστικά σημαντική αύξηση στην οστική πυκνότητα παρουσίασε μόνο η ομάδα που έπαιρνε ταμπλέτες ασβεστίου. Ωστόσο, αξίζει να σχολιαστεί ότι στην συγκεκριμένη μελέτη δεν έγινε έλεγχος ή διόρθωση για την συμμόρφωση των εθελοντριών, ενώ οι ίδιοι οι συγγραφείς αναφέρουν ότι προς το τέλος τις μελέτης οι εθελόντριες της ομάδας του γάλακτος δήλωσαν ότι δεν έπιναν όλες τις μερίδες. Αυτό είναι κάτι πολύ φυσιολογικό, καθώς τέσσερις μερίδες είναι μάλλον πολύ για να προσαρμοστεί στο καθημερινό διαιτολόγιο, ενώ πολλές γυναίκες μεγαλύτερης ηλικίας είναι λογικό ότι μπορεί να έχουν δυσανοχή στην λακτόζη, κάτι που καθιστά αδύνατη την πρόσληψη τόσο μεγάλης ποσότητας γάλακτος.

Το 2007 δημοσιεύθηκε η τελευταία μελέτη με εμπλουτισμένα γαλακτοκομικά των Μανιός και συν. (136), όπου υπήρχαν δυο ομάδες παρέμβασης και μια ομάδα ελέγχου. Στην πρώτη ομάδα παρέμβασης χορηγήθηκε συμπλήρωμα ασβεστίου 600mg, ενώ στην δεύτερη χορηγήθηκαν 2

μερίδες εμπλουτισμένων γαλακτοκομικών προϊόντων ανά ημέρα (γάλα και γιαούρτι) με 1200mg ασβεστίου, και 7,5μg Βιταμίνης D. Σε αυτήν τη μελέτη υπήρχε διατροφική συμβουλευτική, μέσα από ενημερωτικές συνεδρίες ανά 2 εβδομάδες σχετικά με θέματα γύρω από την οστεοπόρωση βασισμένη στο Υπόδειγμα Πεποίθησης για την Υγεία κάτι που εξασφάλισε πολύ υψηλά επίπεδα συμμόρφωσης. Για αυτό το λόγο παρουσιάστηκαν ωφέλιμες μεταβολές στο γενικότερο διαιτητικό προφίλ των εθελοντριών, ενώ παράλληλα δεν παρουσιάστηκε μεταβολή στο σωματικό βάρος. Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν αύξηση της οστικής πυκνότητας στην σπονδυλική στήλη κατά 4.7%, 0.8% και ελάττωση -4% για την ομάδα γαλακτοκομικών, την ομάδα συμπληρωμάτων ασβεστίου και την ομάδα ελέγχου αντίστοιχα. Επιπρόσθετα, φάνηκε αύξηση της ολικής οστικής πυκνότητας κατά 1.5% για την ομάδα γαλακτοκομικών, αύξησης κατά 0.6% για την ομάδα συμπληρώματος ασβεστίου και ελάττωση για την ομάδα ελέγχου κατά 0.7%.

Τέλος, όπως προαναφέρθηκε το 2012 δημοσιεύθηκε η μελέτη COMB των Genuis και συν. (119) από τον Καναδά που χορηγήθηκε ένα μίγμα θρεπτικών συστατικών όπως δεκαεξανοϊκό οξύ (250mg/ημέρα), 50μg/ημέρα βιταμίνης D3, 100μg μενακινόνης – 7, 680mg κιτρικό στρόντιο, 25mg μαγνησίου με παράλληλη αύξηση διαιτητικής πρόσληψης ασβεστίου και προτροπή για φυσική δραστηριότητα για 12 μήνες σε 77 εθελοντές. Η μελέτη αυτή έδειξε αύξηση της οστικής μάζας σε στο ισχίο και στη σπονδυλική στήλη. Σοβαρό μειονέκτημα της εν λόγω μελέτης είναι ότι δεν υπήρχε ομάδα ελέγχου και ότι δεν αναφέρεται ο ακριβής τρόπος κινητοποίησης ούτε το αποτέλεσμα αναφορικά με την αύξηση πρόσληψης ασβεστίου και αύξησης φυσικής δραστηριότητας.

Συνοψίζοντας από το σύνολο των μελετών, παρατηρούμε ότι από την χορήγηση εμπλουτισμένων γαλακτοκομικών προϊόντων:

- Υπάρχουν οφέλη ισοδύναμα των φαρμακευτικών σκευασμάτων σε μη φαρμακευτικές δοσολογίες.
- Είναι πιθανό να υπάρχουν προβλήματα συμμόρφωσης, που όμως λύνονται, αν υπάρχει διατροφική συμβουλευτική.
- Είναι πιθανό να υπάρχει αύξηση βάρους, λόγω της πρόσθετης θερμιδικής πρόσληψης από το γάλα, κίνδυνος που εξαλείφεται αν υπάρχει διατροφική συμβουλευτική.
- Υπάρχει βελτίωση διατροφικών συνηθειών, όταν η χορήγηση συνδυάζεται με διατροφική συμβουλευτική.

- Οι εθελοντές φαίνεται να αντιλαμβάνονται καλύτερα θέματα υγείας, προσαρμόζοντας την διατροφή τους προς νέα μοτίβα υγιεινής διατροφής, διότι αυτό τους ωθεί σε τροποποίηση και άλλων συμπεριφορών γύρω από την υγεία.

Φαίνεται εποικοδομητικότερη, λοιπόν, μια ολιστική παρέμβαση με στόχο την τροποποίηση γενικότερων συμπεριφορών σε θέματα υγείας.

Τέλος, παρατηρούμε ότι, μέχρι στιγμής δεν έχει δοκιμαστεί χορήγηση βιταμίνης Κ μέσα σε εμπλουτισμένο γαλακτοκομικό προϊόν, ενώ οι λίγες κλινικές δοκιμές που έχουν γίνει έχουν γίνει με φαρμακευτική δοσολογία πολύ μεγαλύτερη της πιθανής διατροφικής πρόσληψης. Οι λίγες κλινικές δοκιμές που έγιναν με χορήγηση μενακινόνης – 7 έδειξαν αποτελέσματα σε δοσολογία κοντά στην διαιτητική σύσταση. Επιπρόσθετα, δεν υπάρχουν κλινικές δοκιμές που να ελέγχουν πιθανή διαφορετική δράση μεταξύ φυλλοκινόνης και μενακινόνης - 7 σε ανθρώπους.

1.7 Σκοπός

Είναι ο σχεδιασμός, η εφαρμογή και ο έλεγχος της αποτελεσματικότητας της συνδυασμένης 12μηνης παρέμβασης σε θέματα διατροφής και τρόπου ζωής με την παράλληλη χρήση γαλακτοκομικών προϊόντων, εμπλουτισμένων με Βιταμίνη D, ασβέστιο και Βιταμίνη K.

Επιμέρους σκοποί είναι:

1. Η διερεύνηση κατά πόσο η συνδυασμένη χρήση φυλλοκινόνης ή μενακινόνης – 7 έχει επιπρόσθετα οφέλη στην οστική πυκνότητα σε σύγκριση μόνο με το Ασβέστιο και την Βιταμίνη D στους 12 μήνες της παρέμβασης και 24 μήνες μετά το τέλος αυτής. Οι ποσότητες που χορηγήθηκαν δεν είναι φαρμακευτικές, αλλά σύμφωνα με τις συστάσεις για τη συνιστώμενη ημερήσια πρόσληψη ενηλίκων.
2. Ο έλεγχος εγκυρότητας για ήδη υπάρχουσες ανθρωπομετρικές εξισώσεις εκτίμησης σύστασης σώματος και για δύο νέες εξισώσεις που δημιουργήθηκαν και εκτιμούν το συνολικό σωματικό λίπος και το ποσοστό κοιλιακού λίπους από απλά ανθρωπομετρικά δεδομένα.

2. Μεθοδολογία

2.1 Κριτήρια εισαγωγής στην μελέτη

Στην μελέτη αυτή συμμετείχαν γυναίκες

- Ηλικίας 55-70 ετών
- Τουλάχιστον 5 χρόνια μετά την εμμηνόπαυση
- Με οστική πυκνότητα πάνω από -2,5 T-score
- Με απουσία νόσου που να επηρεάζει τον οστικό μεταβολισμό (παθήσεις ήπατος, νεφρών, σακχαρώδης διαβήτης, σοβαρή καρδιακή νόσο, υπέρ-υπό θυρεοειδισμό, αυτοάνοσα νοσήματα, κλπ)
- Που δεν ελάμβαναν φαρμακευτική αγωγή σχετικά με την οστεοπόρωση ή άλλη που να επηρεάζει τον οστικό μεταβολισμό (π.χ. κορτικοστεροειδών, βαρφαρίνες)
- Που δεν έπαιρναν συμπληρώματα διατροφής ασβεστίου, Βιταμίνης D, ή Βιταμίνης K.
- Που κάπνιζαν λιγότερο από 5 τσιγάρα την ημέρα
- Και είχαν επίπεδα ορού κρεατινίνης, ασβεστίου, φωσφόρου, ηπατικών ενζύμων, αλβουμίνης και ταχύτητα καθίζησης ερυθρών αιμοσφαιρίων εντός φυσιολογικών ορίων.
- Επιθυμούσαν να συμμετέχουν στην μελέτη και υπέγραψαν το έντυπο συγκατάθεσης.

Πληθυσμός μελέτης

Πιο αναλυτικά ο πληθυσμός της μελέτης προέκυψε από 2 φάσεις αξιολόγησης των εθελοντριών που δήλωσαν ενδιαφέρον.

Κατά τη διάρκεια της πρώτης φάσης μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ηλικίας 55-70 ετών κλήθηκαν να συμμετάσχουν στην αρχική φάση της μελέτης μέσω της διανομής ενημερωτικών φυλλαδίων και τοποθέτησης αφισών σε δημοτικά κτήρια (π.χ. δημαρχείο, δημοτικά ιατρεία, ΚΑΠΗ κλπ) των δήμων εντός της ευρύτερης περιοχής των Αθηνών και συγκεκριμένα των δήμων της Καλλιθέας, Νέας Σμύρνης, Ταύρου και Δήμου Αθηναίων. Μέσω αυτής της αρχικής φάσης και με τη

συνεργασία των δημοτικών αρχών στους αντίστοιχους δήμους, εξετάστηκαν 720 γυναίκες. Οι εξετάσεις της αρχικής αυτής φάσης περιελάμβαναν ένα σύντομο ερωτηματολόγιο, το οποίο στόχευε στη συλλογή πληροφοριών σχετικά με το ιατρικό ιστορικό, τα δημογραφικά στοιχεία, το μορφωτικό επίπεδο, τις διαιτητικές συνήθειες, τη φυσική δραστηριότητα, την έκθεση στον ήλιο και το κάπνισμα των γυναικών αυτών. Επιπλέον, έγινε εκτίμηση της οστικής κατάστασης όλων των εθελοντριών, μέσω της μεθόδου της οστικής υπερηχομετρίας με μετρήσεις στη πτέρνα και των δύο ποδιών, με τη χρήση του οστικού υπερηχομετρητή τύπου SAHARA (Hologic Inc.: Waltham MA, 1997). Από την διεξαγωγή της αρχικής αυτής φάσης, οι γυναίκες που βρέθηκαν να έχουν οστική πυκνότητα μικρότερη κατά 2,5 τυπικές αποκλίσεις από τη μέση οστική μάζα πληθυσμού νεαρών ενηλίκων (T- score < 2,5) ή έκαναν χρήση φαρμακευτικών ουσιών (π.χ. θειαζιδικά διουρητικά, γλυκοκορτικοστεροειδή κτλ) και συμπληρωμάτων διατροφής (π.χ. ασβεστίου, μαγνησίου, φωσφόρου και Βιταμίνης D) που επηρεάζουν τον οστικό μεταβολισμό ή είχαν διαγνωστεί με οποιοδήποτε είδος χρόνιας ασθένειας που σχετίζεται με οστικό καταβολισμό (π.χ. σακχαρώδης διαβήτης, νεφρολιθίαση, καρδιακή νόσος, καρκίνος, υπέρ ή υποθυρεοειδισμός, υπερπαραθυρεοειδισμός, νεφρική ή ηπατική νόσος, νόσος του Paget, ερυθηματώδης λύκος, οστεοαρθρίτιδα ή άλλο αυτοάνοσο νόσημα) ή καπνίζουν πάνω από 5 τσιγάρα ημερησίως ή είχε διακοπεί η έμμηνος ρύση τους για λιγότερο από 5 χρόνια ή δεν ήταν διαθέσιμες να συμμετέχουν στην μελέτη, αποκλείστηκαν από τη δεύτερη φάση της μελέτης.

Μετά από την αρχική φάση της μελέτης προέκυψαν 219 γυναίκες (ηλικίας 55-70 ετών), οι οποίες πληρούσαν τα κριτήρια επιλογής στη μελέτη και οι οποίες κλήθηκαν να συμμετάσχουν στη δεύτερη φάση αυτής. Κατά τη διάρκεια της δεύτερης φάσης σε όλες τις εθελόντριες έγινε εκτίμηση οστικής πυκνότητας στην σπονδυλική στήλη, στο ισχίο και σε όλο το σώμα και σύστασης σώματος με τη χρήση της μεθόδου της απορροφησιομετρίας διπλής ενέργειας ακτινών Χ (DXA; Συσκευή Lunar DPXMD, Μάντισον, ΗΠΑ), καθώς και αιματολογικές, βιοχημικές αναλύσεις ορού και ούρων, οι οποίες περιλαμβάνουν Γενική Αίματος, Ταχύτητα Καθίζησης Ερυθρών Αιμοσφαιρίων και επίπεδα ορού αίματος σε Ασβέστιο, Φώσφορο, Τρανσαμινάσες (SGOT, SGPT, γ-GT), Κρεατινίνη, HDL, Ολική Χοληστερόλη, Γλυκόζη, Αλβουμίνη και ασβέστιο ούρων, φωσφόρο ούρων, και κρεατινίνη ούρων. Επιπρόσθετα, ελήφθησαν ανθρωπομετρικά δεδομένα, όπως ύψος, βάρος, δερματικές πτυχές δικεφάλου, τρικεφάλου, υποωμοπλατιαία, υπερλαγόνια, περιφέρειες μέσης ομφαλού, μέγιστη, ελάχιστη, μέσου απόστασης κατώτερων πλευρών και υπερλαγονίου, ισχίων, βραχίονα και γαστροκνημίου, προσθιοπίσθια κοιλιακή διάμετρος, βιοηλεκτρική αγωγιμότητα ολικού σώματος, και εκτίμηση σπλαχνικού λίπους με βιοηλεκτρική αγωγιμότητα. Οι εθελόντριες, οι οποίες βρέθηκαν να πάσχουν από οστεοπόρωση, σύμφωνα με τα ευρήματα που προέκυψαν

από τα αποτελέσματα της μέτρησης οστικής πυκνότητας μέσω του DXA στην σπονδυλική στήλη, ή είχαν παθολογικές τιμές σε οποιοδήποτε από τους παραπάνω κλινικούς δείκτες, αποκλείστηκαν από τη συνέχεια της μελέτης. Από τη δεύτερη αυτή φάση της μελέτης προέκυψαν 173 γυναίκες που πληρούσαν όλα τα κριτήρια.

Όλες οι εθελόντριες που συμμετείχαν στην μελέτη υπέγραψαν γραπτό έντυπο συγκατάθεσης συμμετοχής στην μελέτη που θα τους εξηγούσε την διαδικασία. Το παρόν πρωτόκολλο έχει πάρει έγκριση από την επιτροπή βιοηθικής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου ενώ ακολουθεί τον κώδικα ηθικής της Παγκόσμιας Ιατρική Ένωσης (διακήρυξη του Ελσίνκι). Όλοι οι εθελοντές ήταν ασφαλισμένοι για οτιδήποτε μπορούσε να συμβεί κατά την διάρκεια της παρέμβασης.

Τυχαιοποίηση

Οι 173 εθελόντριες που συμμετείχαν στην κλινική δοκιμή τυχαιοποιήθηκαν σε 3 ομάδες παρέμβασης 38, 38 και 39 ατόμων αντίστοιχα και μια ομάδα ελέγχου 58 ατόμων. Αυτές οι τέσσερις ομάδες παρουσίαζαν ομοιογένεια και δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά στο δείκτη μάζας σώματος, την ηλικία, το μορφωτικό επίπεδο, στην οστική πυκνότητα της σπονδυλικής στήλης, του ισχίου και όλου του σώματος, στις εξετάσεις αίματος που αναφέρθηκαν προηγουμένως και στη διατροφική πρόσληψη ασβεστίου.

2.2 Παρέμβαση

Ομάδες παρέμβασης

Οι τρεις ομάδες παρέμβασης συμμετείχαν στο πρόγραμμα διατροφικής συμβουλευτικής που πραγματοποιήθηκε στο χώρο του πανεπιστημίου, ενώ λάμβαναν καθημερινά 2 μερίδες εμπλουτισμένων γαλακτοκομικών προϊόντων, δηλαδή 250ml γάλα και 200γρ γιαούρτι.

Διαδικασία παρέμβασης

Οι ενημερωτικές-συμβουλευτικές συνεδρίες που παρακολούθησαν οι τρεις ομάδες παρέμβασης πραγματοποιήθηκαν στις εγκαταστάσεις του πανεπιστημίου. Όλες οι εθελόντριες έρχονταν στο πανεπιστήμιο μια φορά κάθε 15 ημέρες για να παρακολουθήσουν τις συνεδρίες αυτές και να παραλάβουν το γάλα και το γιαούρτι στο τέλος αυτών. Το γενικότερο πλαίσιο στηρίχθηκε στο Υπόδειγμα Πεποίθησης για την Υγεία και στην Κοινωνική Γνωσιακή Θεωρία.

Το *Υπόδειγμα Πεποίθησης για την Υγεία (Health Belief Model)* αναπτύχθηκε από αρκετούς κοινωνικούς ψυχολόγους την δεκαετία του 1950, που προσπαθούσαν να εξηγήσουν γιατί τα άτομα αποτύγχαναν να συμμετέχουν και να συμμορφώνονται σε προληπτικές τακτικές σχετικά με παθήσεις, όπως η φυματίωση, στοματική υγιεινή κλπ (137). Το υπόδειγμα αυτό προκύπτει από τις θεωρίες του Lewin (138) που υπέθεσε ότι η συμπεριφορά του ατόμου εξαρτάται από την αξία που θέτει σε ένα ενδεχόμενο αποτέλεσμα και στην εκτίμηση που μια πράξη μπορεί να έχει σχετικά με αυτό το αποτέλεσμα. Προσαρμόζοντας αυτό στην συμπεριφορά σχετικά με θέματα υγείας, οι πράξεις ενός ατόμου εξαρτώνται από του ακόλουθους παράγοντες:

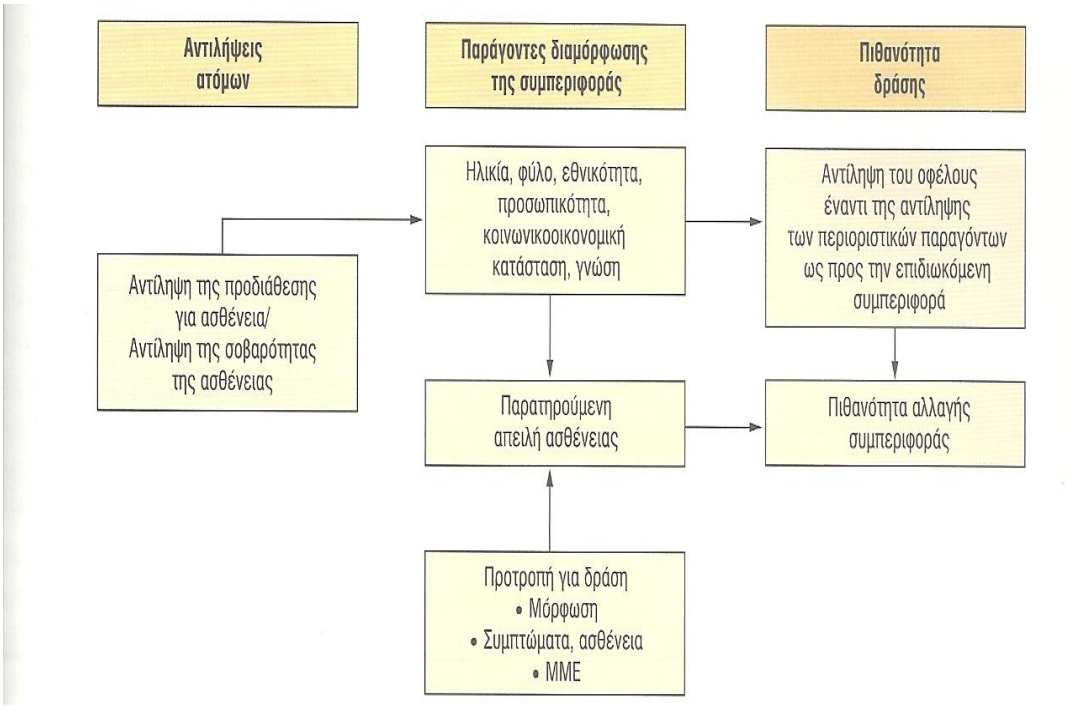
- Αντίληψη της προδιάθεσης: εκφράζει την πεποίθηση του ατόμου για τις πιθανότητες να εμφανίσει μια νόσο.
- Αντίληψη της σοβαρότητας: εκφράζει την αντίληψη του ατόμου για την σοβαρότητα μιας πάθησης και των συνεπειών της στην ζωή του.
- Αντίληψη του οφέλους: εκφράζει την πεποίθηση του ατόμου ότι η μια συμπεριφορά είναι αποτελεσματική ως προς την μείωση του κινδύνου.
- Αντίληψη των περιοριστικών παραγόντων: εκφράζει την αναγνώριση από το άτομο για το ψυχολογικό ή άλλο στρες αυτής της συμπεριφοράς.

- Προτροπή για δράση: εκφράζει στρατηγικές για την κινητοποίηση του ατόμου. Η ετοιμότητα να αναληφθεί δράση εξαρτάται σε πολύ μεγάλο βαθμό από την αναγνώριση συμπτωμάτων ή εξωγενή ερεθίσματα, όπως κοινωνικές επιρροές, ΜΜΕ κλπ.

- Αυτο-αποτελεσματικότητα: αφορά την σιγουριά που νιώθει το άτομο για την υλοποίηση συγκεκριμένων συμπεριφορών (139-142).

Οι οποίοι και αποτελούν τα βασικά συστατικά του Υποδείγματος Πεποίθησης για την υγεία. Συνοπτικά οι παράγοντες συνοψίζονται στην Εικόνα 2.1.

Εικόνα 2.1 Παράγοντες Υποδείγματος πεποίθησης για την υγεία



Από Μανιός Γ. Διατροφική Αγωγή, 2007

Η *Κοινωνική Γνωσιακή Θεωρία (Social Cognitive Theory)* βασίζεται στην ιδέα ότι οι άνθρωποι μαθαίνουν παρακολουθώντας κοινωνικές αλληλεπιδράσεις τρίτων, εμπειρίες και από εξωτερικά ερεθίσματα όπως ΜΜΕ. Το υπόδειγμα αυτό παρέχει δομές για την κατανόηση, την πρόβλεψη και την αλλαγή συμπεριφορών. Τα στοιχεία που συντελούν το υπόδειγμα αυτό είναι:

- Αμοιβαίος καθορισμός συμπεριφοράς: η συμπεριφορά ενός ατόμου εξαρτάται σε πολύ μεγάλο βαθμό από το περιβάλλον του και τις εξωτερικές επιδράσεις.

- Περιβάλλον και καταστάσεις: αφορά την αντικειμενική αντίληψη του περιβάλλοντος χώρου και όλων των εξωτερικών παραγόντων.

- Ικανότητα συμπεριφοράς: αφορά την ικανότητα του ατόμου να εκτελεί συμπεριφορές που έχει μάθει. Έχει λοιπόν δυο σκέλη, την εκμάθηση της συμπεριφοράς και την ικανότητα για εκτέλεση.

- Προσδοκίες – προβλέψεις: αφορά την ικανότητα των ατόμων να δημιουργούν προσδοκίες και να κάνουν προβλέψεις γύρω από γεγονότα, όπως τα παρατηρούν να συμβαίνουν στο περιβάλλον. Αυτό πρακτικά βοηθά στο να προσαρμόζονται στο τι μπορεί να συμβεί, αλλά και να τους δημιουργείτε η διάθεση να το αλλάξουν.

- Κίνητρα. Μπορεί να είναι θετικά ή αρνητικά και καθορίζουν την συμπεριφορά ανάλογα με το πόσο θέλουν να αλλάξουν το αποτέλεσμα.

- Αυτορρύθμιση της συμπεριφοράς: αφορά την απόκτηση από τα άτομα την ικανότητα να θέτουν ιδίους στόχους προσωπικούς και εφικτούς ως προς την αλλαγή της συμπεριφοράς.

- Ενίσχυση: αφορά την επιβράβευση ως προς την επίτευξη στόχων και αποτελεσμάτων από τον αρωγό αγωγής υγείας.

- Αυτο-αποτελεσματικότητα. Είναι η σιγουριά που αισθάνεται ένα άτομο για την εκτέλεση μιας δραστηριότητας και είναι η πιο σημαντική από της παραμέτρους που χρειάζονται για την αλλαγή μιας συμπεριφοράς.

- Ρύθμιση συναισθηματικής διέγερσης. Η υπερβολική συναισθηματική διέγερση από ερεθίσματα όπως φόβος και στρες περιορίζουν την ικανότητα μάθησης και επίδοσης. Σημαντικό, λοιπόν, είναι να ρυθμίζεται η συναισθηματική διέγερση από τους εκπαιδευτές σε χαμηλότερα επίπεδα τόσο, ώστε να είναι λειτουργική η παρέμβαση.

Τα σημαντικότερα χαρακτηριστικά που έχει εισάγει η Κοινωνική Γνωσιακή Θεωρία είναι αυτά της αυτορρύθμισης, στοχοθεσίας και αυτοαξιολόγησης. Όπως θα αναφερθεί παρακάτω, οι μελέτες στο αντικείμενο φαίνεται να είναι οι πιο σημαντικοί παράγοντες στην διαδικασία αλλαγής συμπεριφορών από το άτομο, άρα και το κλειδί στην επιτυχία των προγραμμάτων αυτών.

Αυτά τα δύο συμπεριφοριστικά υποδείγματα έχουν χρησιμοποιηθεί εκτεταμένα για την προαγωγή υγείας στο κοινό, την αλλαγή συμπεριφορών και κινητοποίηση του κοινού προς την υιοθέτηση υγιεινότερου τρόπου ζωής. Ωστόσο είναι πολύ λίγες οι μελέτες που τα έχουν δοκιμάσει σχετικά με

διατροφική συμβουλευτική, ωστόσο από τα υπάρχοντα δεδομένα φαίνεται ότι η χρήση τους είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική (143).

Οι συνεδρίες πραγματοποιήθηκαν σε μικρές ομάδες των 6-10 εθελοντριών και περιελάμβαναν προβολή παρουσιάσεων με ενημερωτικό υλικό σχετικά με διάφορα ζητήματα διατροφής και υγείας. Η σύνθεση αυτών των ομάδων ήταν τυχαία από εθελόντριες και των τριών ομάδων παρέμβασης. Ο σκοπός ήταν να ευαισθητοποιήσει τις εθελόντριες σχετικά με θέματα υγείας, πρωτίστως γύρω από την οστεοπόρωση, αλλά και να τις παροτρύνει να αλλάξουν συμπεριφορές προς έναν πιο υγιεινό τρόπο ζωής, όπως αύξηση της φυσικής τους δραστηριότητας. Πιο συγκεκριμένα, η πρώτη συνεδρία ήταν ενημερωτική γύρω από την παρέμβαση και τους στόχους της, καθώς και ο τρόπος που θα ενσωμάτωναν τα γαλακτοκομικά προϊόντα στην διατροφή τους, χωρίς να επηρεάσουν το ενεργειακό τους ισοζύγιο. Οι δύο επόμενες συνεδρίες αφορούσαν την παθοφυσιολογία της οστεοπόρωσης και τους παράγοντες κινδύνου. Ακολούθησαν δύο ενημερωτικές συνεδρίες σχετικά με την μεσογειακή διατροφή και άλλες δύο για την αξία της φυσικής δραστηριότητας. Στην συνέχεια, καλύφθηκαν διάφορα θέματα διατροφής και υγείας, όπως, διατροφή και νεοπλασίες και διατροφή και καρδιαγγειακά νοσήματα. Επίσης, πραγματοποιήθηκαν επαναληπτικές συνεδρίες σε θέματα διατροφής και οστεοπόρωσης. Για την διατήρηση του ενδιαφέροντος των εθελοντριών στην πορεία του προγράμματος παροτρύνθηκε η ενεργός συμμετοχή τους και η συζήτηση θεμάτων διατροφής και υγείας που τους απασχολούσαν. Σε κάθε συνεδρία παρεχόταν ενημερωτικό υλικό σχετικά με το θέμα της συνεδρίας. Καθ’ όλη την διάρκεια του προγράμματος γινόταν προσπάθεια να αυξάνουν την φυσική τους δραστηριότητα, να καταγράφουν τις διατροφικές τους συνήθειες και να αυτό-αξιολογούνται καταγράφοντας σε έντυπα που τους χορηγήθηκαν τις ομάδες τροφίμων που κατανάλωναν και την φυσική τους δραστηριότητα. Επιπρόσθετα, σε συνεργασία με τον ερευνητή έθεταν στόχους για βελτίωση αυτών των συνηθειών.

Πιο συγκεκριμένα, σε κάθε αντικείμενο από αυτά που προαναφέρθηκαν η παρουσιάσεις είχαν την κάτωθι δομή, βασισμένη στο Υπόδειγμα Πεποίθησης για την υγεία και την Κοινωνική Γνωσιακή Θεωρία:

1. Αντίληψη προδιάθεσης. Προσδιορισμός ομάδων υψηλού κινδύνου, επιπέδων κινδύνου και εξατομίκευση κινδύνου.

2. Αντίληψη σοβαρότητας. Διασαφήνιση της σοβαρότητας της πάθησης και οι αρνητικές της συνέπειες.

3. Αντίληψη του οφέλους. Καθορισμός επιθυμητών συμπεριφορών και διευκρίνιση των θετικών αποτελεσμάτων από την εφαρμογή τους.
4. Αντίληψη περιοριστικών παραγόντων. Αναγνώριση περιοριστικών παραγόντων και μείωσή τους.
5. Προτροπή για δράση. Προσπάθεια ενεργοποίησης - κινητοποίησης των εθελοντριών.
6. Στοχοθεσία. Τεχνική σταδιακής οριοθέτησης στόχων. Μικροί και εφικτοί στόχοι.
7. Αυτο-αποτελεσματικότητα.
8. Ενίσχυση. Επιβράβευση και καθοδήγηση των εθελοντών.
9. Μείωση συναισθηματικής φόρτισης.

Το θεωρητικό πλαίσιο των συνεδριών περιγράφεται αναλυτικά στον πίνακα που ακολουθεί.

Πίνακας 2.1 Το θεωρητικό πλαίσιο των συνεδρίων της παρούσας μελέτης.

Συνεδρία	Περιεχόμενο	Θεωρητικό πλαίσιο
1	Γνωριμία Αποτελέσματα εξετάσεων Ενημέρωση σχετικά με το πρόγραμμα Ενημέρωση σχετικά με τα προϊόντα	• Αντίληψη Προδιάθεσης • Αντίληψη Σοβαρότητας • Αντίληψη Οφέλους • Αυτό-αποτελεσματικότητα
2, 3, 12, 17	Τι είναι η Οστεοπόρωση – Παράγοντες κινδύνου	• Αντίληψη Προδιάθεσης • Αντίληψη Σοβαρότητας • Αντίληψη Περιοριστικών Παραγόντων • Αντίληψη Οφέλους • Αυτό-αποτελεσματικότητα
4, 8, 10, 13, 18	Συστάσεις για ισορροπημένη διατροφή Μεσογειακή διατροφή Ομάδες τροφίμων Επιβράβευση-κίνητρα-επιλεκτική ενίσχυση	• Αντίληψη οφέλους • Ικανότητα συμπεριφοράς • Αυτορρύθμιση συμπεριφοράς • Ενίσχυση • Προτροπή για δράση • Αυτό-αποτελεσματικότητα
5, 9, 11, 14, 16, 19	Φυσική Δραστηριότητα	• Αντίληψη οφέλους • Αντίληψη Περιοριστικών Παραγόντων • Ικανότητα συμπεριφοράς • Αυτορρύθμιση συμπεριφοράς • Ενίσχυση • Προτροπή για δράση • Αυτό-αποτελεσματικότητα
6	Ασβέστιο και Βιταμίνη D	• Αντίληψη οφέλους • Αντίληψη περιοριστικών παραγόντων • Ικανότητα συμπεριφοράς • Αυτορρύθμιση συμπεριφοράς • Αυτό-αποτελεσματικότητα
7, 15, 20	Άλλα οφέλη Διατροφής και Άσκησης • Ευεξία • Καρδιαγγειακό σύστημα • Σύσταση σώματος • Νεοπλασίες	• Αντίληψη οφέλους • Αντίληψη περιοριστικών παραγόντων • Ικανότητα συμπεριφοράς • Αυτορρύθμιση συμπεριφοράς • Ενίσχυση • Προτροπή για δράση • Αυτό-αποτελεσματικότητα

Επιπρόσθετα των συνεδριών, οι τρεις αυτές ομάδες λάμβαναν καθημερινά 2 μερίδες εμπλουτισμένων γαλακτοκομικών προϊόντων, 250ml γάλα και 200γρ γιαούρτι. Τα γαλακτοκομικά προϊόντα της κάθε ομάδας είχαν διαφορετική σύσταση, όπως περιγράφεται ακολούθως:

- Ομάδα 1. Οι δύο μερίδες γαλακτοκομικών περιείχαν 800mg Ασβεστίου και 10μg Βιταμίνης D.
- Ομάδα 2. Οι δύο μερίδες γαλακτοκομικών περιείχαν 800mg Ασβεστίου, 10μg Βιταμίνης D και 100μg Βιταμίνης K1,
- Ομάδα 3. Οι δύο μερίδες γαλακτοκομικών περιείχαν 800mg Ασβεστίου, 10μg Βιταμίνης D και 100μg Βιταμίνης K2.
- Ομάδα 4. Αποτελούσε ομάδα ελέγχου και δεν έλαβε κανένα προϊόν. Οι εθελόντριες της Ομάδας Ελέγχου δεν παρακολούθησαν τις ενημερωτικές-συμβουλευτικές συνεδρίες.

Ωστόσο, όλες οι εθελόντριες παρέλαβαν γραπτά τα αποτελέσματα των ιατρικών εξετάσεων τους σε μικρό χρονικό διάστημα από την πραγματοποίησή τους από ιατρό, μαζί με σύντομο ενημερωτικό υλικό για την διατροφή τους και σύντομες εξατομικευμένες συμβουλές.

Η μελέτη ήταν διπλά τυφλή για τις ομάδες παρέμβασης. Οι εθελόντριες δεν γνώριζαν την ομάδα τους και ούτε ο ερευνητής που έκανε τη διανομή των προϊόντων. Ο διαχωρισμός των προϊόντων γινόταν με κωδικό που θα αναγραφόταν στην συσκευασία με άγνωστη αντιστοιχία στον ερευνητή. Η χορήγηση των προϊόντων έγινε δωρεάν.

2.3 Αξιολόγηση της παρέμβασης

Αξιολόγηση διαδικασίας - Συμμόρφωση

Η αξιολόγηση της διαδικασίας έγινε με την αξιολόγηση της συμμόρφωσης και του ενδιαφέροντος των εθελοντών με τους εξής τρόπους:

- Καταγραφή της συμμετοχής στις συνεδρίες.
- Καταγραφή προσωπικών στόχων, τόσο διατροφικών όσο και φυσικής δραστηριότητας σε εβδομαδιαίο ημερολόγιο που δόθηκε στις εθελόντριες σε μορφή εντύπων.
- Καταγραφή της καταναλισκόμενης ποσότητας προϊόντων σε παρόμοια έντυπα.
- Και την αξιολόγηση του ερευνητή για την τήρηση του προγράμματος με καταγραφή σε ημερολόγιο της πορείας και του χρονοδιαγράμματος της μελέτης.

Η καταγραφή των παραπάνω δεδομένων έδειξε ότι η συμμόρφωση των εθελοντριών στο πρόγραμμα της μελέτης έφτασε το 95%. Οι εθελόντριες με συμμόρφωση μικρότερη από 75% (δηλαδή πρόσληψη μικρότερη του 75% αυτής που χορηγήθηκε) αποκλείστηκαν από την μελέτη.

Αξιολόγηση Επιρροής

Η αξιολόγηση της επιρροής της παρέμβασης έγινε σε δύο επίπεδα διαιτητικής πρόσληψης και φυσικής δραστηριότητας.

Διαιτητική πρόσληψη: Χρησιμοποιήθηκε η τεχνική της ανάκλησης 24ώρου για να συλλεχθούν πληροφορίες διαιτητικής πρόσληψης για τρεις συνολικά ημέρες, δύο καθημερινές και μία Σαββατοκύριακου, κατά προτίμηση Κυριακή από κατάλληλα εκπαιδευμένους διαιτολόγους για να ελαχιστοποιηθεί το σφάλμα που οφείλεται στη παρουσία του συνεντευκτή. Κατά της διάρκεια της συνέντευξης ζητήθηκε από τις εθελόντριες της μελέτης να ανακαλέσουν τον τύπο και την ποσότητα των τροφίμων και ροφημάτων που κατανάλωσαν τη προηγούμενη ημέρα με χρονολογική διαδοχή, δηλαδή από τη στιγμή που ξύπνησαν το πρωί έως την ίδια χρονική στιγμή την επόμενη ημέρα. Για να βελτιωθεί η ακρίβεια κατά τη περιγραφή των καταναλισκόμενων τροφίμων, αλλά και κατά την εκτίμηση της προσλαμβανόμενης ποσότητας χρησιμοποιήθηκαν προπλάσματα τροφίμων (Dairy Food Council, ΗΠΑ), καθώς και μεζούρες οικιακής χρήσης (κούπες, κουταλάκια του γλυκού και κουτάλια της σούπας κτλ). Η ανάλυση των στοιχείων που συλλέχθηκαν

από τις ανακλήσεις 24ώρου έγινε με τη χρήση του λογισμικού διατροφικής ανάλυσης Nutritionist V (First Databank, San Bruno, CA), το οποίο έχει εμπλουτιστεί εκτενώς για να συμπεριλάβει Πίνακες Σύστασης σε μάκρο- και μικροθρεπτικά συστατικά για ελληνικά τρόφιμα και συνταγές (144, 145), αλλά και χημικές αναλύσεις επεξεργασμένων τροφίμων του εμπορίου, τα οποία καταναλώνονται ευρέως στην Ελλάδα. Η ποιότητα της διατροφής αξιολογήθηκε με τη χρήση του δείκτη HEI-2005 (146, 147) όπως αυτός εξάχθηκε από τα δεδομένα των ανακλήσεων 24ώρου. Ο συγκεκριμένος δείκτης έχει φανεί ότι είναι κατάλληλος για να αξιολογεί την ποιότητα διατροφής σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ενώ παράλληλα έχει φανεί ικανός να αξιολογεί μεταβολές μετά από παρεμβάσεις διατροφικής αγωγής (148, 149).

Φυσική δραστηριότητα: Η φυσική δραστηριότητα αξιολογήθηκε με την καταγραφή βημάτων για εφτά συνεχόμενες ημέρες κατά την αρχή της παρέμβασης, στους 12 μήνες και 36 μήνες με χρήση πεδόμετρων. Χρησιμοποιήθηκε το πεδόμετρο Yamax, Digi- Walker, SW 200 καθώς έχει φανεί να αποδίδει καλύτερα, σε επιστημονικές μελέτες, από άλλα αντίστοιχα (150). Οι συμμετέχοντες αγκίστρωσαν το πεδόμετρο στη μέση τους σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή (Yamax Corporation, Tokyo, Japan). Τους έγινε σύσταση να το φορούν όλη μέρα κάνοντας τις συνηθισμένες τους δραστηριότητες και να το αφαιρούν το βράδυ πριν ξαπλώσουν. Η χρήση των πεδόμετρων έγινε, όπως έχει περιγραφεί και δειχτεί ότι είναι αξιόπιστη για ηλικιωμένους από τους Strycker και συν. (151). Οι εθελόντριες των τριών ομάδων παρέμβασης κράτησαν τα πεδόμετρα τους για τους 12 μήνες της παρέμβασης και τα φορούσαν για να καταγράφουν τα βήματά σε έντυπα που τους χορηγήθηκαν από τον ερευνητή με στόχο την παρότρυνσή τους να αυξήσουν την φυσική τους δραστηριότητα και να καθορίζουν στόχους προς αυτή την κατεύθυνση.

Αξιολόγηση αποτελέσματος

Ανθρωπομετρήσεις – Σύσταση σώματος: Τις χρονικές στιγμές των δυο αρχικών φάσεων, στους 6 μήνες της παρέμβασης, στους 12 και 36 μήνες έγιναν οι κάτωθι μετρήσεις. Το σωματικό βάρος των γυναικών μετρήθηκε με μία ψηφιακή ζυγαριά (Seca Alpha, model 770; Seca, Hamburg, Germany) με ακρίβεια ± 100γρ. Οι εθελόντριες ζυγίζονταν χωρίς να φορούν υποδήματα και με ελαφρύ ρουχισμό. Το ύψος τους μετρήθηκε σε όρθια στάση, χωρίς να φορούν υποδήματα και κρατώντας τους ώμους σε χαλαρή θέση, με τα χέρια να κρέμονται ελευθέρα από τους ώμους, με την χρήση ενός αναστημόμετρου του εμπορίου (Leicester Height Measure; Invicta Plastics Ltd, Oadby, Leics, UK) και με ακρίβεια ± 0,1 cm. Από τις παραπάνω ανθρωπομετρήσεις υπολογίστηκε ο Δείκτης Μάζας Σώματος (ΔΜΣ) των εξεταζομένων διαιρώντας το βάρος (kg) με το τετράγωνο του

ύψους τους (m^2). Επιπρόσθετα, μετρήθηκε η περιφέρεια μέσης στο μέσο της απόστασης από την κατώτερη πλευρά και την υπερλαγόνια ακρολοφία και η μέγιστη περιφέρεια ισχίων με ακρίβεια ± 0,1 cm με ανελαστική πλαστική ταινία, η προσθοπίσθια κοιλιακή διάμετρος με ακρίβεια ± 0,1 cm, σε όρθια και ύπτια θέση (Lafayette και Holtain αντίστοιχα). Μετρήθηκαν τέσσερις δερματικές πτυχές, δικεφάλου, τρικεφάλου, υπερλαγόνια και υποωμοπλατιαία, με δερματοπτυχόμετρο Lange στο πλησιέστερο 0,5mm. Η σύσταση σώματος αξιολογήθηκε από τα δεδομένα των εξετάσεων απορροφησιομετρίας διπλής ενέργειας ολικού σώματος (Lunar DPX-MD, Madison, WI, έκδοση λογισμικού 4.6, με συντελεστή διακύμανσης 2% και 1,1% λιπώδη μάζα σώματος και άλιπη μάζα σώματος αντίστοιχα).

Βιοχημικές αναλύσεις: Στην δεύτερη φάση ελέγχου στην αρχή της παρέμβασης και στο τέλος αυτής (12 μήνες) έγινε αιμοληψία μετά από μία 12ωρη ολονύχτια νηστεία και νωρίς το πρωί (8:00-09:00 π.μ). Ελήφθησαν δείγματα φλεβικού αίματος από τις γυναίκες, για να γίνουν οι απαιτούμενες βιοχημικές αναλύσεις. Εκπαιδευμένο προσωπικό (νοσηλευτής) παρουσία γιατρού πραγματοποίησε φλεβοκεντήσεις για τη συλλογή συνολικά 35 ml αίματος. Το αίμα για την παραλαβή ορού τοποθετήθηκε σε σωληνάρια χωρίς αντιπηκτικό και διατηρήθηκε σε θερμοκρασία δωματίου για περίπου δύο ώρες, έως ότου πήξει. Για το διαχωρισμό του ορού από τα έμμορφα στοιχεία του αίματος ακολούθησε φυγοκέντρηση των δειγμάτων στις 3.000 στροφές/ λεπτό για 15 λεπτά της ώρας. Ένα μέρος ορού (~2 ml) χρησιμοποιήθηκε απευθείας για βιοχημικές αναλύσεις, ενώ ο εναπομένων ορός διαμοιράστηκε σε πλαστικά σωληνάρια (Eppendorf), σε ποσότητα ~0.5 ml στο καθένα και αποθηκεύτηκε σε θερμοκρασία -80°C. Το αίμα για την παραλαβή πλάσματος αποθηκεύτηκε σε σωληνάρια με αντιπηκτικό μέσο ηπαρίνη και σε σωληνάρια με αντιπηκτικό κιτρικό οξύ κατόπιν φυγοκεντρήθηκε στις 3.000 στροφές/ λεπτό για 15 λεπτά της ώρας. Το πλάσμα που εξήχθηκε διαμοιράστηκε σε πλαστικά σωληνάρια (Eppendorf), σε ποσότητα ~0.5 ml στο καθένα και αποθηκεύτηκε σε θερμοκρασία -80°C. Επιπρόσθετα, δεύτερα πρωινά ούρα συλλέχθηκαν από τις εθελόντριες, μικρή ποσότητα ούρων αναλύθηκε αμέσως για Φωσφόρο ούρων, Ασβέστιο ούρων και Κρεατινίνη ούρων. Η παρασκευή και αποθήκευση των δειγμάτων ορού έγινε σε χώρους του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου. Τα δείγματα ορού και πλάσματος και των δύο φάσεων αναλύθηκαν στο τέλος της μελέτης με το ίδιο αντιδραστήριο για τα δείγματα κάθε εθελοντή έτσι ώστε να αποφευχθεί το σφάλμα διαφορετικών αντιδραστηρίων (inter assay error).

Κατά τις βιοχημικές αναλύσεις προσδιορίστηκαν άμεσα στον ορό γενικοί μη οστικοί βιοχημικοί δείκτες και πιο συγκεκριμένα αλβουμίνη, ασβέστιο, φωσφόρος, κρεατινίνη, γ γλουταμινική τρανσφεράση, αμινοτρασφεράση της αλανίνης, ασπαρτική αμινοτρασφεράση, ολική

χοληστερόλη, υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες και γλυκόζη ορού (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany, Mega automated analyser, Merck, Darmstadt, Germany or Vitros, Johnson & Johnson Diagnostic, Rochester, NY, USA). Επιπρόσθετα προσδιορίστηκαν Τριγλυκερίδια (ενζυματικά) και Βιταμίνη Κ ορού.

Σχετικά με τον οστικό μεταβολισμό προσδιορίστηκαν, PINP (RIA, Orion Diagnostica, Espoo, Finland; Intra-assay CV 8.4%), ολική οστεοκαλσίνη και υποκαρβοξυλιωμένη οστεοκαλσίνη μετά την αποδέσμευση της καρβοξυλιωμένης από υδροξυαπατίτη (IRMA, Medgenix-H-Ost, Fleurus, Belgium; intra-assay CV 3.1%), OPG και RANKL με ανοσοενζυμικό αντιδραστήριο (ELISA; Biomedica AG, Wien, Austria; Intra-assay CV λιγότερο από 10%), IGF-I (Chemiluminescence Immunoassay), Καλσιδιόλη (ανταγωνιστικό πρωτεϊνοδεσμευτικό αντιδραστήριο ((152); intra-assay CV 10.0%), άθικτη παραθορμόνη (IRMA, Nichols Institute; intra- and inter-assay CV είναι 3.5% και 6.0%, αντίστοιχα) και MGP (enzyme immuno assay, Biomedica AG, Wien, Austria). Στα ούρα μετρήθηκαν από το άμεσο δείγμα ασβέστιο, φωσφόρος και κρεατινίνη ούρων (Mega, Merck or Vitros, Johnson & Johnson) και από τα αποθηκευμένα δείγματα μετρήθηκαν Πυριδινολίνη και Δεοξυπυριδινολίνη (υγρή χρωματογραφία υψηλής ανάλυσης (153) CV <12%). Η εκτίμηση των αποτελεσμάτων για την πυριδινολίνη, δεοξυπυριδινολίνη, ασβέστιο και φωσφόρο ούρων έγινε επί των διορθωμένων τιμών για την ταυτόχρονη απέκκριση κρεατινίνης. Κατά τον δεύτερο επανέλεγχο 2 έτη μετά το τέλος της παρέμβασης (36 μήνες) πραγματοποιήθηκε αιμοληψία και προσδιορίστηκαν τα εξής: Γενική αίματος, καλσιδιόλη, άθικτη παραθορμόνη, υψηλής πυκνότητας λιποπρωτεΐνες, ολική χοληστερόλη, τριγλυκερίδια, πρωτεΐνες ορού και γλυκόζη ορού. Οι διαδικασίες αιμοληψίας και τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν ίδιες με τους δύο προηγούμενους ελέγχους.

***Οστική* πυκνότητα**: Η οστική πυκνότητα των μεταλλικών στοιχείων της οσφυϊκής μοίρας της σπονδυλικής στήλης ($2^{ος}$ – $4^{ος}$ Οσφυϊκός Σπόνδυλος: O2-O4), του ισχίου και τμημάτων αυτού (ολικού ισχίου, αυχένα μηριαίου οστού, τροχαντήρα, έσω τροχαντήρα και τριγώνου του Wards) και η σύσταση του ολικού σώματος (οστικής πυκνότητας ολικού σώματος, τμημάτων αυτού και λιπώδης και άλιπης μάζα σώματος) μετρήθηκαν πριν την έναρξη της μελέτης στο τέλος των 12 μηνών της παρέμβασης και στους 36 μήνες (2 έτη μετά το τέλος της παρέμβασης) με τη μέθοδο της απορροφησιομετρίας διπλής ενέργειας ακτινών Χ (Dual Body Absorptiometry: DXA; Συσκευή Lunar DPXMD, Μάντισον, ΗΠΑ) και με τη χρήση αντίστοιχου λογισμικού επεξεργασίας των δεδομένων (Τύπος 4,6). Πριν από τη διεξαγωγή των μετρήσεων και σχεδόν σε καθημερινή βάση γινόταν βαθμονόμηση της συσκευής με τη χρήση κατάλληλου βαθμονομητή (Phantom), που χορηγείται από τον κατασκευαστή για τον έλεγχο της αξιοπιστίας και της επαναληψιμότητας του

μηχανήματος. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στους χώρους του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου και αφού όλες οι εθελόντριες της μελέτης είχαν ενημερωθεί κατάλληλα από την προηγούμενη ημέρα, ώστε να μη φορούσαν, για τη μέτρηση, κανένα μεταλλικό αντικείμενο πάνω τους, όπως κοσμήματα, γυαλιά, ρούχα με μεταλλικά κουμπιά και φερμουάρ (π.χ. τζιν παντελόνι), τα οποία μπορεί να επηρέαζαν τα αποτελέσματα των μετρήσεων. Σε αντίθετη περίπτωση, υπήρχε ειδικός χώρος όπου οι γυναίκες μπορούσαν να αφαιρέσουν τέτοιου είδους αντικείμενα ή ρούχα, ακριβώς πριν από τη μέτρηση και τους χορηγούνταν κατάλληλος ελαφρύς ρουχισμός.

2.4 Δημιουργία εργαλείων αξιολόγησης σύστασης σώματος.

Από την παρούσα μελέτη και δεδομένου ότι η μέτρηση της οστικής πυκνότητας πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της απορροφησιομετρίας διπλής ενέργειας που αποτελεί και εξαιρετικά αξιόπιστη μέθοδο μέτρησης σύστασης σώματος αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητα εξισώσεων από τη βιβλιογραφία και δημιουργήθηκαν 2 νέες ανθρωπομετρικές εξισώσεις εκτίμησης ολικού σωματικού λίπους και ποσοστού κοιλιακού λίπους αντίστοιχα. Η διαδικασία λήψης των ανθρωπομετρικών δεδομένων έχει περιγραφεί προηγουμένως. Ως μέθοδος αναφοράς χρησιμοποιήθηκε η απορροφησιομετρία διπλής ενέργειας.

2.4.1 Αξιολόγηση εξισώσεων βιβλιογραφίας.

Από τον πληθυσμό της παρούσας μελέτης (n=219, δεύτερη φάση ελέγχου) και από δεδομένα της Postmenopausal Health Study (n=58), δηλαδή σε 277 εθελόντριες, έγινε αξιολόγηση ανθρωπομετρικών εξισώσεων από τη βιβλιογραφία εκτίμησης σύστασης σώματος. Η επιλογή των εξισώσεων από τη βιβλιογραφία έγινε με κριτήρια χαμηλού κόστους (δηλαδή να μην είναι απαραίτητος ακριβός εξοπλισμός), να μην χρειάζεται μέτρηση δερματικών πτυχών άλλων εκτός του δικεφάλου και τρικέφαλου (καθώς αυτό ελαχιστοποιεί την φυσική έκθεση των ευαίσθητων σε τέτοια θέματα εθελοντριών κυρίως λόγο ηλικίας) και τέλος να είναι γρήγορες και μη παρεμβατικές.

Οι εξισώσεις που επιλέχθηκαν ήταν:

1. ΛΜΣ=1.9337*ΔΜΣ-26.422 (SEE ±4.84kg) από Marterelli, και συν. (154) που μετατράπηκε σε ΠΛ από την εξίσωση %ΣΛ= (ΛΜΣ/ Βάρος)*100
2. ΠΣ=0.0226*Φύλο-0.0022*ΔΜΣ+1.0605 (SEE±4.8%ΣΛ) από Visser, και συν. (♀:0, ♂:1) και μετατράπηκε σε %ΛΣ με την χρήση των εξισώσεων Siri(155) και Brozek(156).
3. ΠΣ=0.0186*Φύλο-0.030*log(ΔΠδικεφάλου+ΔΠτρικεφάλου)+1.0481 (SEE±5.6%ΣΛ) από Visser, και συν. (157) (♀:0, ♂:1) και μετατράπηκε σε %ΛΣ με την χρήση των εξισώσεων Siri(155) και Brozek(156).
4. %ΣΛ=0.232*ΠΜ+0.657*ΔΠτρικεφάλου+0.215*Ηλικία-5.5 (SEE±4%BF) από Lean, και συν. (158)
5. %ΣΛ=0.730*ΔΜΣ+0.548*ΔΠτρικεφάλου+0.270*Ηλικία-5.9 (SEE±3.9%BF) από Lean, και συν. (156, 158)

Όπου: ΛΜΣ: Λιπώδης Μάζα Σώματος (kg), ΔΜΣ: Δείκτης μάζας σώματος (kg/m^2), ΠΣ: Πυκνότητα σώματος (g/cm^3), ΔΠ: δερματική πτυχή (mm), %ΣΛ: Ποσοστό σωματικού λίπους, SEE: Τυπική απόκλιση της εκτίμησης

2.4.2 Δημιουργία και αξιολόγηση εγκυρότητας εξισώσεων εκτίμησης σύστασης σώματος

Στην παρούσα διατριβή επιπρόσθετα δημιουργήθηκαν 2 νέες εξισώσεις εκτίμησης σύστασης σώματος.

Εξίσωση ανθρωπομετρίας εκτίμησης ολικού σωματικού λίπους

Από τον πληθυσμό της παρούσας μελέτης (n=219, δεύτερη φάση ελέγχου) και από δεδομένα της Postmenopausal Health Study (n=57), δηλαδή σε 276 εθελόντριες δημιουργήθηκε μια εξίσωση εκτίμησης λιπώδους μάζας σώματος από απλά ανθρωπομετρικά δεδομένα και αξιολογήθηκε η εγκυρότητα της. Οι 276 εθελόντριες χωρίστηκαν σε 2 υποπληθυσμούς που δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά σε κανένα χαρακτηριστικό όπως ΔΜΣ, λιπώδη μάζα σώματος, ηλικία, βάρος, ύψος και φυσική δραστηριότητα. Ο πρώτος υποπληθυσμός αποτελούνταν από 185 εθελόντριες και χρησιμοποιήθηκε για να δομηθεί το μοντέλο και ο δεύτερος υποπληθυσμός αποτελούνταν από 91 εθελόντριες και χρησιμοποιήθηκε για να αξιολογηθεί η εγκυρότητα και αξιοπιστία του μοντέλου σε σχέση με άλλες ανθρωπομετρικές εξισώσεις της βιβλιογραφίας που μπορούσαν να εφαρμοστούν στο συγκεκριμένο πληθυσμό και φαίνονται αναλυτικά στον πίνακα 3.12.

Εξίσωση ανθρωπομετρίας εκτίμησης κοιλιακού λίπους

Από τον πληθυσμό της παρούσας μελέτης, κατά τη δεύτερη επαναξιολόγηση των 36 μηνών, σε 91 εθελόντριες, πραγματοποιήθηκε επιπρόσθετα εκτίμηση του ποσοστού κοιλιακού λίπους με απορροφησιομετρία διπλής ενέργειας, που θεωρήθηκε και μέθοδος αναφοράς, και βιοηλεκτρική αγωγιμότητα. Για τον προσδιορισμό του ποσοστού κοιλιακού λίπους από την απορροφησιομετρία διπλής ενέργειας προσδιορίστηκε χειροκίνητα στη λήψη του μηχανήματος για κάθε μια εθελόντρια ένας τομέας από την αρχή του 2^{ου} οσφυϊκού σπονδύλου έως το τέλος του 4^{ου} οσφυϊκού σπονδύλου. Η συγκεκριμένη τομή έχει φανεί να έχει υψηλότερο συντελεστή συσχέτισης με το ποσοστό κοιλιακού λίπους (159). Οι 91 εθελόντριες χωρίστηκαν σε 2 υποπληθυσμούς που δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά σε κανένα χαρακτηριστικό όπως ΔΜΣ, λιπώδη μάζα σώματος, ποσοστό κοιλιακού λίπους, ηλικία, βάρος, ύψος και φυσική δραστηριότητα, περιφέρεια μέσης και περιφέρεια γλουτών. Ο πρώτος υποπληθυσμός

αποτελούνταν από 60 εθελόντριες και χρησιμοποιήθηκε για να δομηθεί το μοντέλο και ο δεύτερος υποπληθυσμός αποτελούνταν από 31 εθελόντριες και χρησιμοποιήθηκε για να αξιολογηθεί η εγκυρότητα και αξιοπιστία του μοντέλου. Επιπρόσθετα έγινε αξιολόγηση εγκυρότητας και αξιοπιστίας του εξοπλισμού βιοηλεκτρικής αγωγιμότητας ανάλυσης κοιλιακού λίπους (Tanita, ViScan) στην ικανότητά του να εκτιμά την περιφέρεια μέσης και το ποσοστό κοιλιακού λίπους στο σύνολο του πληθυσμού.

2.5 Στατιστική Ανάλυση

Το μέγεθος δείγματος που θεωρείται απαραίτητο για την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων εκτιμήθηκε ως 25 άτομα ανά ομάδα και βασισμένο σε μια προηγούμενη μελέτη (160) που έδειξε ότι 22 έως 27 άτομα ανά ομάδα σε μια μελέτη χορήγησης Ασβεστίου Βιταμίνης D και Βιταμίνης K1 είναι αρκετά για να εντοπίσουν μεταβολές σε βιοχημικούς δείκτες όπως επίπεδα βιταμίνης D και υποκαρβοξυλιωμένης οστεοκαλσίνης στον ορό. Το πλήθος των εθελοντών που ολοκλήρωσαν την μελέτη έδωσε παρατηρούμενη στατιστική ισχύ πάνω από 90% για τα κυριότερα ευρήματα της μελέτης.

Το Kolmogorov – Smirnov τεστ χρησιμοποιήθηκε για να ελέγξει την κανονικότητα των κατανομών όλων των μεταβλητών που θα προκύψουν. Οι διαφορές στα βασικά χαρακτηριστικά μεταξύ των ομάδων εκτιμήθηκαν με ανάλυση διακυμάνσεων (ANOVA). Για την εκτίμηση της στατιστικής σημαντικότητας μεταξύ της διαφοράς των αρχικών και τελικών μετρήσεων χρησιμοποιήθηκε One-way ANOVA ή ανάλυση συνδιακυμάνσεων (ANCOVA) στις περιπτώσεις που χρειάστηκε διόρθωση για συγχυτικούς παράγοντες α και για την ποσοστιαία μεταβολή. Ο έλεγχος Bonferonni Post Hoc χρησιμοποιήθηκε για τον εντοπισμό διαφορών μεταξύ των ομάδων. Για τον έλεγχο μεταβολής εντός των ομάδων (αποτέλεσμα χρόνου) και για τον έλεγχο αποτελέσματος χρόνου-ομάδας (treatment x time effect) χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος ανάλυσης διακυμάνσεων επαναλαμβανόμενων μετρήσεων (RMANOVA). Η πιθανότητα λάθους τύπου I εξαιτίας των πολλαπλών ελέγχων post hoc διορθώθηκε, χρησιμοποιώντας τον κανόνα του Bonferroni. Στις περιπτώσεις που οι μεταβλητές δεν ακολουθούσαν κανονικές κατανομές χρησιμοποιήθηκαν τα αντίστοιχα μη παραμετρικά τεστ. Στην περίπτωση μη κανονικών κατανομών στις RMANOVA χρησιμοποιήθηκε το Friedman test για επαναλαμβανόμενες μετρήσεις. Η στατιστική ανάλυση έγινε με το πακέτο στατιστικής επεξεργασίας SPSS 19 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας έχει οριστεί σε $P \leq 0{\cdot}05$.

Αναφορικά με τη δημιουργία της εξίσωσης εκτίμησης σύστασης σώματος, εισήχθησαν στην παλινδρόμηση ως ανεξάρτητες μεταβλητές η περιφέρεια μέσης, η περιφέρεια ισχίων, οι δερματικές πτυχές δικεφάλου, τρικεφάλου, υπερλαγονίου και υποωμοπλατιαία, ο δείκτης μάζας σώματος και η ηλικία. Για την δημιουργία της εξίσωσης κοιλιακού λίπους εισήχθησαν στην παλινδρόμηση ως ανεξάρτητες μεταβλητές η περιφέρεια μέσης, η περιφέρεια ισχίων, η δερματική πτυχή υπερλαγονίου, το ύψος, το βάρος, ο δείκτης μάζας σώματος, η προσθιοπίσθια κοιλιακή διάμετρος και η ηλικία. Η μέθοδος Backward stepwise regression χρησιμοποιήθηκε για να σχηματιστούν οι τελικές εξισώσεις ($p=0,05$ για την εισαγωγή μιας μεταβλητής και $p=0,10$ για την αποβολή μιας μεταβλητής). Η τεχνική των Bland – Altman και Intraclass correlation coefficient χρησιμοποιήθηκαν στις ομάδες αξιολόγησης για να γίνει αξιολόγηση εγκυρότητας και αξιοπιστίας της κατά περίπτωση μεθόδου, έναντι της απορροφησιομετρίας διπλής ενέργειας. Δεν βρέθηκαν να υπάρχουν σε καμία περίπτωση στατιστικά σημαντικές διαφορές στις ομάδες δημιουργίας και αξιολόγησης. Η στατιστική ανάλυση έγινε με το πακέτο στατιστικής επεξεργασίας SPSS 19 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας έχει οριστεί σε $P \leq 0,05$.

Πίνακας 2.2 Διαγραμματική απεικόνιση δραστηριοτήτων μελέτης

Δραστηριότητα	**1η φάση ελέγχου**	**Δεύτερη φάση ελέγχου-αρχικές μετρήσεις**	**6 μήνες**	**12 μήνες – Τέλος παρέμβασης**	**36 μήνες - επανέλεγχος**
Γενικές					
Επίσκεψη στο πανεπιστήμιο	X	Κάθε 14 ημέρες	Κάθε 14 ημέρες	X	X
Ιατρικό ιστορικό	X			X	X
Έντυπο Συγκατάθεσης		X			X
Τυχαιοποίηση		X			
Διανομή προϊόντων		Κάθε 14 ημέρες	Κάθε 14 ημέρες		
Έλεγχος συμμόρφωσης		Κάθε 14 ημέρες	Κάθε 14 ημέρες		
Δίαιτα					
Ca FFQ	X	X	X	X	X
Διαιτητικές ανακλήσεις		X	X	X	X
Ανθρωπομετρία					
Ύψος	X	X	X	X	X
Βάρος	X	X	X	X	X
Δερματικές πτυχές – Βιοηλεκτρική αγωγιμότητα		X		X	X
Βιοηλεκτρική αγωγιμότητα κοιλιακού λίπους					X
Οστικές μετρήσεις	**X**	**X**		**X**	**X**
Οστική υπερηχομετρία	X			X	X
DXA		X		X	X
Αιμοληψία		**X**		**X**	**X**
Γενική αίματος, Τρανσαμινάσες, λιπιδαιμικό προφίλ, γλυκόζη, ΤΚΕ.		X		X	X
Ολική οστεοκαλσίνη		X		X	
Υποκαρβοξυλιωμένη οστεοκαλσίνη		X		X	
P1NP		X		X	
OPG		X		X	
Τριγλυκερίδια		X		X	X
Βιταμίνη Κ		X		X	
Matrix Gla protein		X		X	
Άθικτη Παραθορμόνη		X		X	X
Καλσιδιόλη		X		X	
RANKL		X		X	
IGF-1		X			
Ινσουλίνη		X		X	X
Εξετάσεις ούρων		**X**		**X**	
PYR & DPYR		X		X	
Κρεατινίνη		X		X	
Ασβέστιο και Φωσφόρος		X		X	

3. Αποτελέσματα

3.1 Περιγραφή δείγματος

Οι εθελόντριες με συμμόρφωση μικρότερη από 75% σε οποιοδήποτε από τα χορηγούμενα θρεπτικά συστατικά (14 εθελόντριες), καθώς επίσης και οι εθελόντριες που αποχώρησαν οικειοθελώς (12 εθελόντριες) ή ανέπτυξαν κάποια νόσο (16 εθελόντριες) ή πήραν φαρμακευτική αγωγή που επηρεάζει των οστικό μεταβολισμό (4 εθελόντριες), ή πήραν συστηματικά κάποιο εμπλουτισμένο προϊόν ή πολυβιταμίνη (8 εθελόντριες) απορρίφθηκαν από τη στατιστική ανάλυση. Στο τέλος των 12 μηνών αξιολογήθηκαν 115 γυναίκες. Αναλυτικότερα 39 γυναίκες στην ομάδα ελέγχου (ΟΕ), 26 γυναίκες στην ομάδα που έλαβε ασβέστιο και βιταμίνη D (ΟΑBD), 26 γυναίκες στην ομάδα που έλαβε ασβέστιο, βιταμίνη D και φυλλοκινόνη (ΟΑBDK1)και 24 γυναίκες στην ομάδα που έλαβε ασβέστιο, βιταμίνη D και μενακινόνη-7 (ΟΑBDK2). Η μέση ηλικία των συμμετεχόντων ήταν 62 (ΤΑ=5,8) χρόνια, η μέση ηλικία από την τελευταία έμμηνο ρύση ήταν 11,9 (ΤΑ=6,9) χρόνια, και ο μέσος όρος ετών εκπαίδευσης ήταν 10,4 (ΤΑ=4) χρόνια. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων σε καμία από τις τιμές των αρχικών μετρήσεων που αναφέρονται παραπάνω, στην διατροφική πρόσληψη μίκρο- και μακροθρεπτικών όπως επίσης και σε κανένα βιοχημικό δείκτη από όλους όσους μετρήθηκαν (Πίνακες 3.1, 3.2, 3.4 – 3.7) . Στους δείκτες οστικής πυκνότητας προέκυψε στατιστικά σημαντική διαφορά στις τιμές της οστικής μάζας στους Ο2-Ο4 με την ομάδα ΟΑDK1 να έχει στατιστικά υψηλότερη οστική πυκνότητα έναντι της ομάδας ΟΑD. Σε όλες τις στατιστικές αναλύσεις που ακολουθούν και μελετούν μεταβολές σε δείκτες οστικής πυκνότητας και οστικού μεταβολισμού έχει γίνει διόρθωση για αυτό.

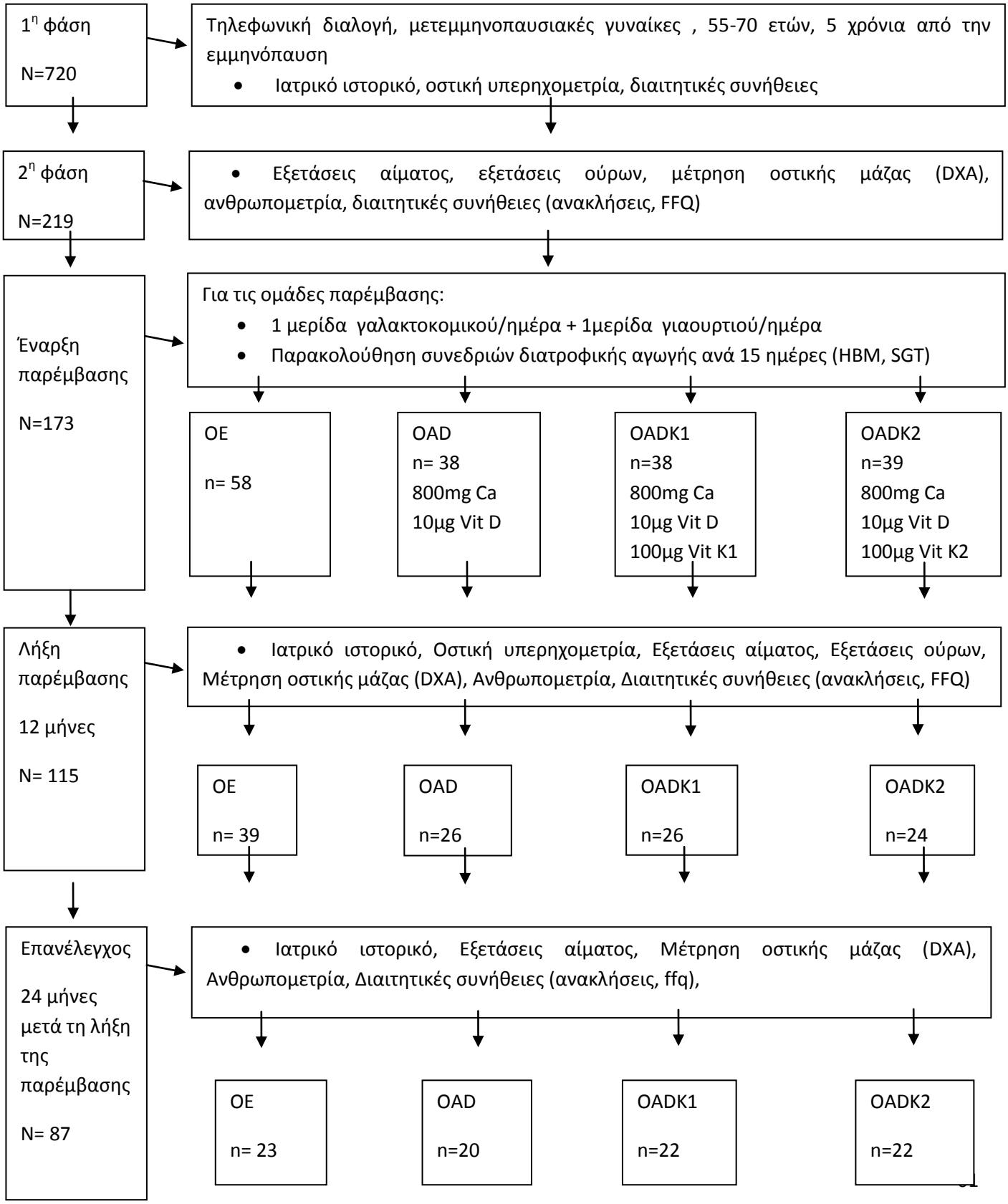
Πίνακας 3.1 Διαφορές μεταξύ των ομάδων σε αρχικά χαρακτηριστικά.

	OAD (n=26)		OADK1 (n=26)		OADK2 (n=24)		OE (n=39)		p value
	Μέση Τιμή	ΤΑ	Μέση Τιμή	ΤΑ	Μέση Τιμή	ΤΑ	Μέση Τιμή	ΤΑ	
Ηλικία (έτη)	62.5	(6.5)	60.9	(5.3)	62.0	(6.4)	62.4	(5.3)	0.728
Έτη εμμηνόπαυσης	11.4	(6.6)	10.4	(6.0)	12.9	(8.8)	12.8	(6.4)	0.585
Χρόνια εκπαίδευσης	11.0	(4.4)	10.8	(4.1)	10.4	(4.0)	9.7	(3.9)	0.464
BMI (kg/m^2)	29.4	(4.4)	30.1	(5.2)	29.4	(3.8)	29.9	(4.2)	0.921
% Σωματικού λίπους	43.3	(6.4)	43.0	(4.9)	43.6	(5.2)	43.5	(5.7)	0.982
Φυσική δραστηριότητα (βήματα/ημέρα)	7004	(4325)	6977	(3242)	5796	(2769)	6356	(2655)	0.500

ΟΕ: Ομάδα Ελέγχου, ΟΑD: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη ασβεστίου και βιταμίνης D, ΟΑDK1: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη ασβεστίου, βιταμίνης D και Κ1, ΟΑDK2: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη ασβεστίου, βιταμίνης D και Κ2.

Στη συνέχεια θα παρουσιαστούν οι μεταβολές κατά τη διάρκεια της παρέμβασης και έπειτα τα αποτελέσματα του 2ου επανελέγχου 24μήνες μετά το τέλος της.

Διάγραμμα ροής της μελέτης



*3.2 Μεταβολές στους 12 μήνες της παρέμβασης**

Αναφορικά με την διαιτητική πρόσληψη δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων στην πρόσληψη ενέργειας και μακροθρεπτικών συστατικών από την αρχή της παρέμβασης έως το τέλος της. Ωστόσο, οι εθελόντριες και στις τρεις ομάδες παρέμβασης βρέθηκαν να έχουν αυξήσει την πρόσληψη ασβεστίου, βιταμίνης D, φωσφόρου και μαγνησίου από τις αρχικές τιμές κάτι που οδήγησε σε στατιστικά σημαντικά μεταβολή συγκριτικά με την ΟΕ ($p<0.001$). Όμοια η συμπληρωματική χορήγηση φυλλοκινόνης στην ομάδα OADK1 οδήγησε σε στατιστικά σημαντική αύξηση της πρόσληψης φυλλοκινόνης και εξαιτίας της πρόσληψης μενακινόνης στην OADK2 και οι δυο ομάδες είχαν στατιστικά σημαντικά συνολική πρόσληψη βιταμίνης Κ από τις άλλες 2 ομάδες. Δεν υπήρχε στατιστικά σημαντική μεταβολή στην διατροφική πρόσληψη φυλλοκινόνης στην OADK2. (Πίνακας 3.2)

Αναφορικά με την φυσική δραστηριότητα όπως αυτή αποτυπώθηκε από τη χρήση των πεδόμετρων παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση στις τρεις ομάδες παρέμβασης από τις αρχικές τιμές, η οποία οδήγησε σε στατιστικά σημαντικά υψηλότερη φυσική δραστηριότητα έναντι της ομάδας ελέγχου ($p<0,001$). (Πίνακας 3.3)

Επιπρόσθετα, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές στο δείκτη μάζας σώματος ούτε στο ποσοστό λιπώδους μάζας σώματος των εθελοντριών σε καμία από τις ομάδες παρέμβασης. (Πίνακας 3.3)

* Τα αποτελέσματα της ενότητας 3.2 έχουν δημοσιευτεί στα εξής άρθρα:

1. Moschonis G, **Kanellakis S**, Papaioannou N, Schaafsma A, Manios Y.Possible site-specific effect of an intervention combining nutrition and lifestyle counselling with consumption of fortified dairy products on bone mass: the Postmenopausal Health Study II. *J Bone Miner Metab.* 2011 Jul;29(4):501-6. doi: 10.1007/s00774-010-0256-2.
2. **Kanellakis S**, Moschonis G, Tenta R, Schaafsma A, van den Heuvel EG, Papaioannou N, Lyritis G, Manios Y. Changes in parameters of bone metabolism in postmenopausal women following a 12-month intervention period using dairy products enriched with calcium, vitamin D, and phylloquinone (vitamin K(1)) or menaquinone-7 (vitamin K (2)): the Postmenopausal Health Study II. *Calcif Tissue Int*. 2012 Apr;90(4):251-62. doi: 10.1007/s00223-012-9571-z.

Πίνακας 3.2 Αλλαγές στους διατροφικούς δείκτες κατά τη διάρκεια της παρέμβασης (N=115).

	Αρχικές Μετρήσεις		**Επανέλεγχος 12 Μηνών**		***P-value***[b]
	Μέση Τιμή	Τυπική Απόκλιση	Μέση Τιμή	Τυπική Απόκλιση	
Ενέργεια (KJ/ ημέρα)					0.111
OE (n=39)	6393,2	(853,5)	6660,9	(2912,1)	
OAD (n=26)	6656,7	(1159,0)	7008,2	(2008,3)	
OADK1 (n=26)	6623,3	(954,0)	6543,8	(2041,8)	
OADK2 (n=24)	6401,5	(1016,7)	6079,4	(979,1)	
P value[a]	0.626		0.529		
Πρωτεΐνη (g/ ημέρα)					0.371
OE (n=39)	61.2	(14.1)	61.2	(35.6)	
OAD (n=26)	61.8	(14.5)	72.8	(22.5)	
OADK1 (n=26)	61.8	(18.1)	72.6	(29.6)	
OADK2 (n=24)	62.7	(13.5)	61.7	(12.0)	
P value[a]	0.984		0.201		
Υδατάνθρακες(g/ ημέρα)					0.192
OE (n=39)	172.5	(33.9)	175.0	(85.9)	
OAD (n=26)	177.1	(39.2)	195.9	(66.2)	
OADK1 (n=26)	169.5	(35.8)	165.2	(58.2)	
OADK2 (n=24)	167.1	(36.9)	163.6	(39.5)	
P value[a]	0.783		0.303		
Λίπος (g/ ημέρα)					0.061
OE (n=39)	69.7	(15.9)	76.0	(32.7)	
OAD (n=26)	75.0	(20.4)	71.2	(22.2)	
OADK1 (n=26)	75.9	(12.4)	71.0	(24.0)	
OADK2 (n=24)	70.9	(13.2)	64.6	(16.3)	
P value[a]	0.359		0.405		
Ασβέστιο (mg/ ημέρα)					0.015
OE (n=39)	789.6	(213.5)	781.3	(475.5)	
OAD (n=26)	860.8	(230.7)	1188.5‡	(363.4)	
OADK1 (n=26)	831.7	(362.6)	1077.2‡	(356.5)	
OADK2 (n=24)	849.7	(250.9)	1068.5‡	(313.5)	
P value[a]	0.711		0.001		
ΒιταμίνηD (μg/ ημέρα)					0.001
OE (n=39)	0.890	(0.660)	0.954	(1.243)	
OAD (n=26)	1.021	(0.815)	9.773‡	(4.722)	
OADK1 (n=26)	1.015	(1.139)	9.414‡	(4.886)	
OADK2 (n=24)	1.027	(0.748)	10.179‡	(4.390)	
P value[a]	0.889		0.001		
Φυλλοκινόνη (μg/ ημέρα)					0.001
OE (n=39)	80.2	(43.0)	145.3	(184.8)	
OAD (n=26)	112.3	(68.1)	140.3	(159.0)	
OADK1 (n=26)	119.1	119.8)	255.7‡,*	(252.8)	
OADK2 (n=24)	121.2	(175.8)	111.2**	(108.4)	
P value[a]	0.358		0.001		
Φώσφορος(mg/ ημέρα)					0.001
OE (n=39)	1165.9	(283.8)	1182.3	(622.9)	
OAD (n=26)	1231.7	(339.2)	1624.0‡	(495.3)	
OADK1 (n=26)	1184.6	(347.1)	1511.3‡	(456.2)	
OADK2 (n=24)	1258.1	(383.9)	1484.0‡	(341.5)	
P value[a]	0.704		0.001		
Μαγνήσιο (mg/ ημέρα)					0.001
OE (n=39)	237.0	(45.7)	247.7	(142.1)	
OAD (n=26)	267.7	(86.5)	410.5‡	(103.0)	
OADK1 (n=26)	261.5	(76.9)	393.6‡	(104.3)	
OADK2 (n=24)	277.4	(85.3)	363.1‡	(66.3)	
P value[a]	0.144		0.001		

OE: Ομάδα Ελέγχου, OAD: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη ασβεστίου και βιταμίνης D, OADK1: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη ασβεστίου, βιταμίνης D και K1, OADK2: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη ασβεστίου, βιταμίνης D και K2.

‡ $P<0.05$ σε σύγκριση με την OE.

* $P<0.05$ σε σύγκριση με την OAD.

** Η OADK2 στους 12 μήνες παρακολούθησης είχε μια επιπρόσθετη πρόσληψη 97 ±7.8 μg μενακινόνης 7.

a Επίπεδο σημαντικότητας για τις διαφορές των μέσων τιμών μεταξύ των ομάδων σε κάθε χρονική στιγμή μέτρησης.

b Επίπεδο σημαντικότητας για τις διαφορές των μέσων τιμών μεταξύ των ομάδων. (Επίδραση θεραπεία x χρόνος)

Πίνακας 3.3 Μεταβολές στη Φυσική Δραστηριότητα, στο Δείκτη Μάζας Σώματος και στη Σύσταση Σώματος (N=115).

	Αρχικές μετρήσεις		**Επανέλεγχος 12 μηνών**		***P-value***[b]
	Μέση Τιμή	Τυπική Απόκλιση	Μέση Τιμή	Τυπική Απόκλιση	
Βήματα (Αριθμός /Ημέρα)					
OE (n=39)	6356	(2655)	6832	(2364)	0.003
OAD (n=26)	7004	(4325)	9967‡	(3953)	
OADK1 (n=26)	6977	(3242)	9393‡	(2688)	
OADK2 (n=24)	5796	(2769)	8534‡	(1979)	
P value[a]	0.500		0.001		
ΔΜΣ(kg/cm²)					
OE (n=39)	29.94	(4.20)	29.82	(4.42)	0.753
OAD (n=26)	29.40	(4.44)	29.58	(4.64)	
OADK1 (n=26)	30.06	(5.18)	30.24	(4.98)	
OADK2 (n=24)	29.43	(3.78)	29.68	(4.20)	
P value[a]	0.921		0.957		
Συνολική Λιπώδης Μάζα					
(% του Σωματικού Βάρους)					
OE (n=39)	43.46	(5.66)	43.07	(5.91)	0.299
OAD (n=26)	43.31	(6.41)	41.64	(5.97)	
OADK1 (n=26)	42.98	(4.90)	42.35	(4.48)	
OADK2 (n=24)	43.58	(5.20)	42.66	(4.24)	
P value[a]	0.982		0.760		

OE: Ομάδα Ελέγχου, OAD: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη ασβεστίου και βιταμίνης D, OADK1: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη ασβεστίου, βιταμίνης D και K1, OADK2: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη ασβεστίου, βιταμίνης D και K2.
‡ $P<0.05$ σε σύγκριση με την OE.
a Επίπεδο σημαντικότητας για τις διαφορές των μέσων τιμών μεταξύ των ομάδων σε κάθε χρονική στιγμή μέτρησης.
b Επίπεδο σημαντικότητας για τις διαφορές των μέσων τιμών μεταξύ των ομάδων. (Επίδραση θεραπεία x χρόνος).

Σύμφωνα με τα δεδομένα που παρουσιάζονται στον πίνακα 3.4, αναφορικά με τις μεταβολές σε ορμονικούς δείκτες και δείκτες οστεοκλαστικής διαφοροποίησης στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα αλληλεπίδρασης θεραπείας – χρόνου παρατηρήθηκαν για την καλσιδιόλη ορού και τον IGF-I ($p<0,001$ και $p=0,028$ αντίστοιχα). Αναλυτικότερα, τα επίπεδα του IGF-I αυξήθηκαν σημαντικά για την OADK2 και η καλσιδιόλη αυξήθηκε σημαντικά για όλες τις ομάδες παρέμβασης που κατέληξε σε στατιστικά σημαντικότερες τιμές καλσιδιόλης και IGF-I για τις αντίστοιχες ομάδες στον επανέλεγχο 12 μηνών έναντι της ομάδας ελέγχου. Καμία άλλη στατιστικά σημαντική μεταβολή αλληλεπίδρασης θεραπείας – χρόνου δεν παρατηρήθηκε. Ωστόσο, τα επίπεδα οστεοπροτεγερόνης βρέθηκαν να αυξάνονται στατιστικά σημαντικά για τις ομάδες OAD και OE σε σχέση με τις αρχικές τους τιμές (Πίνακας 3.4).

Οι μεταβολές σε δείκτες οστικού μεταβολισμού παρουσιάζονται στον πίνακα 3.5. Αναφορικά με δείκτες οστικού σχηματισμού παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση θεραπείας - χρόνου στο ποσοστό υποκαρβοξυλιωμένης οστεοκαλσίνης. Αναλυτικότερα, οι ομάδες που λάμβαναν φυλλοκινόνη και μενακινόνη-7 (OADK1 και OADK2) μείωσαν στατιστικά σημαντικά τα επίπεδα υποκαρβοξυλιωμένης οστεοκαλσίνης στον ορό και παρουσίασαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στους 12 μήνες συγκριτικά με τις ομάδες OE και OAD ($p<0,001$). Ακόμη, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική ελάττωση για το PINP για τις ομάδες OAD και OADK1. Αναφορικά με τους δείκτες οστικής απορρόφησης, η πυριδινολίνη ούρων μειώθηκε στατιστικά σημαντικά για την OADK2, ενώ η δεοξυπυριδινολίνη ούρων μειώθηκε στατιστικά σημαντικά για τις ομάδες OADK1 και OADK2 κάτι που οδήγησε σε στατιστικά διαφορετικές τιμές στον επανέλεγχο 12 μηνών ($p=0,047$) (Πίνακας 3.5).

Πίνακας 3.4 Μεταβολές σε ορμονικούς δείκτες και δείκτες οστεοκλαστικής δραστηριότητας (N=115).

	Αρχικές Μετρήσεις		**Επανέλεγχος 12 μηνών**		**Μεταβολές στους 12 μήνες**		***P-value***[b]
	Μέση Τιμή	Τυπική Απόκλιση	Μέση Τιμή	Τυπική Απόκλιση	Αλλαγή της Μέσης Τιμής	95% Διάστημα Εμπιστοσύνης	
25(OH) ΒιταμίνηD ορού (ng/ml)							0.001
OE(n=39)	23.3	(7.7)	22.6	(13.4)	-0.7	(-2.6 έως 1.2)	
OAD(n=26)	22.8	(5.9)	24.4‡	(5.2)	1.6	(-0.7 έως 4.0)	
OADK1(n=26)	23.2	(4.8)	25.7‡	(5.0)	2.5	(0.1 έως 4.8)	
OADK2(n=24)	21.5	(5.5)	25.1‡	(5.0)	3.6	(1.2 έως 6.0)	
P value[a]	0.835		0.010				
PTH ορού (pg/ml)							0.482
OE(n=39)	44.6	(15.9)	44.7	(14.5)	0.08	(-3.5 έως 3.6)	
OAD(n=26)	43.6	(13.1)	42.0	(13.6)	-1.6	(-5.9 έως 2.8)	
OADK1(n=26)	47.3	(12.8)	44.2	(11.1)	-3.1	(-7.4 έως 1.3)	
OADK2(n=24)	47.5	(18.2)	44.7	(17.4)	-2.8	(-7.3 έως 1.8)	
P value[a]	0.565		0.525				
IGF-I ορού (ng/ml)							0.028
OE(n=39)	116.3	(43.0)	109.8	(44.5)	-6.5	(-14.6 έως 1.6)	
OAD(n=26)	124.3	(37.1)	130.1	(41.1)	5.8	(-4.1 έως 15.7)	
OADK1(n=26)	128.8	(39.6)	134.7	(55.5)	5.9	(-4.1 έως 15.8)	
OADK2(n=24)	130.7	(62.5)	142.6‡	(60.8)	11.9	(1.6 έως 22.3)	
P value[a]	0.627		0.036				
RANKL ορού (pg/ml)							0.234
OE(n=39)	0.088	(0.18)	0.087	(0.19)	-0.001	(-0.026 έως 0.023)	
OAD(n=26)	0.093	(0.15)	0.118	(0.28)	0.025	(-0.005 έως 0.055)	
OADK1(n=26)	0.064	(0.11)	0.042	(0.06)	-0.022	(-0.052 έως 0.008)	
OADK2(n=24)	0.046	(0.04)	0.056	(0.06)	0.010	(-0.022 έως 0.041)	
P value[a]	0.333		0.114				
OPG ορού (pg/ml)							0.883
OE(n=39)	5.03	(1.99)	5.41	(2.36)	0.38	(0.10 έως 0.66)	
OAD(n=26)	4.82	(1.36)	5.22	(1.55)	0.40	(0.06 έως 0.74)	
OADK1(n=26)	4.57	(1.05)	4.77	(1.10)	0.20	(-0.13 έως 0.54)	
OADK2(n=24)	5.29	(1.80)	5.51	(2.13)	0.23	(-0.12 έως 0.58)	
P value[a]	0.697		0.431				
Αναλογία OPG προς RANKL							0.595
OE(n=39)	190.3	(171.5)	182.0	(146.6)	-8.3	(-56.7 έως 40.3)	
OAD(n=26)	152.0	(190.1)	160.3	(169.5)	8.3	(-50.4 έως 66.9)	
OADK1(n=26)	155.4	(126.7)	202.7	(122.2	47.3	(-10.7 έως 105.3)	
OADK2(n=24)	194.6	(146.8)	200.5	(152.9)	5.9	(-55.1 έως 66.9)	
P value[a]	0.424		0.510				

OE: Ομάδα Ελέγχου, OAD: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη ασβεστίου και βιταμίνης D, OADK1: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη ασβεστίου, βιταμίνης D και K1, OADK2: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη ασβεστίου, βιταμίνης D και K2Σε όλες τις αναλύσεις έγιναν προσαρμογές για τα επίπεδα φυσικής δραστηριότητας.

‡ $P<0.05$ σε σύγκριση με την OE.

a Επίπεδο σημαντικότητας για τις διαφορές των μέσων τιμών μεταξύ των ομάδων σε κάθε χρονική στιγμή μέτρησης.

b Επίπεδο σημαντικότητας για τις διαφορές των μέσων τιμών μεταξύ των ομάδων. (Επίδραση θεραπεία x χρόνος)

Πίνακας 3.5 Μεταβολές δεικτών οστικού μεταβολισμού (N=115).

	Αρχικές Μετρήσεις		**Επανέλεγχος 12 μηνών**		**Μεταβολή 12 μηνών**		***P-value***[b]
	Μέση Τιμή	Τυπική Απόκλιση	Μέση Τιμή	Τυπική Απόκλιση	Μεταβολή της Μέσης Τιμής	95% Διάστημα Εμπιστοσύνης	
Δείκτες οστικού σχηματισμού							
P1NP ορού(ng/ml)							0.501
OE(n=39)	46.0	(17.0)	45.3	(15.8)	-0.7	(-4.6 έως 3.1)	
OAD(n=26)	45.4	(19.0)	40.6	(18.3)	-4.8	(-9.6 έως -0.06)	
OADK1(n=26)	44.1	(15.6)	37.1	(13.7)	-7.0	(-11.7 έως -2.2)	
OADK2 (n=24)	48.4	(15.2)	44.6	(15.7)	-3.7	(-8.7 έως 1.2)	
P value[a]	0.899		0.502				
% ucOC ορού							0.001
OE(n=39)	65.1	(93.1)	93.8	(167.7)	28.7	(2.9 έως 54.5)	
OAD(n=26)	64.5	(84.6)	77.3	(20.8)	12.8	(-18.8 έως 44.3)	
OADK1(n=26)	40.8	(44.4)	27.5‡,*	(35.4)	-13.3	(-44.8 έως 18.3	
OADK2 (n=24)	47.0	(56.1)	23.4‡,*	(36.5)	-23.6	(-56.4 έως 9.2)	
P value[a]	0.73		0.001				
Δείκτες οστικής απορρόφησης							
Πυριδινολίνη ούρων(pmol/ μmolCr)*							0.968
OE(n=39)	59.2	(14.9)	55.5	(15.6)	-4.2	(-9.4 έως 0.9)	
OAD(n=26)	57.6	(14.8)	52.3	(14.0)	-5.3	(-11.6 έως 0.9)	
OADK1(n=26)	58.7	(16.2)	54.8	(15.5)	-3.4	(-10.1 έως 2.3)	
OADK2 (n=24)	63.9	(21.2)	54.3	(11.4)	-9.6	(-16.1 έως -3.1)	
P value[a]	0.881		0.801				
Δεοξυπυριδινολίνη ούρων (pmol/ μmolCr)*							0.557
OE(n=39)	14.0	(4.4)	12.6	(5.4)	-1.4	(-3.0 έως 0.1)	
OAD(n=26)	12.6	(4.1)	11.1	(2.8)	-1.5	(-3.4 έως 0.5)	
OADK1(n=26)	12.7	(4.7)	9.9‡,*	(3.4)	-2.8	(-4.7 έως -0.8)	
OADK2 (n=24)	12.5	(3.9)	9.8‡,*	(2.7)	-2.8	(-4.8 έως -0.8)	
P value[a]	0.368		0.047				

OE: Ομάδα Ελέγχου, OAD: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη ασβεστίου και βιταμίνης D, OADK1: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη ασβεστίου, βιταμίνης D και K1, OADK2: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη ασβεστίου, βιταμίνης D και K2.

Όλα τα P values διορθώθηκαν για τα επίπεδα φυσικής δραστηριότητας. Στην περίπτωση της οστικής πυκνότητας οσφυϊκής μοίρας έγινε διόρθωση για τις αρχικές τιμές.

‡ $P<0.05$ σε σύγκριση με την OE.

* $P<0.05$ σε σύγκριση με την OAD.

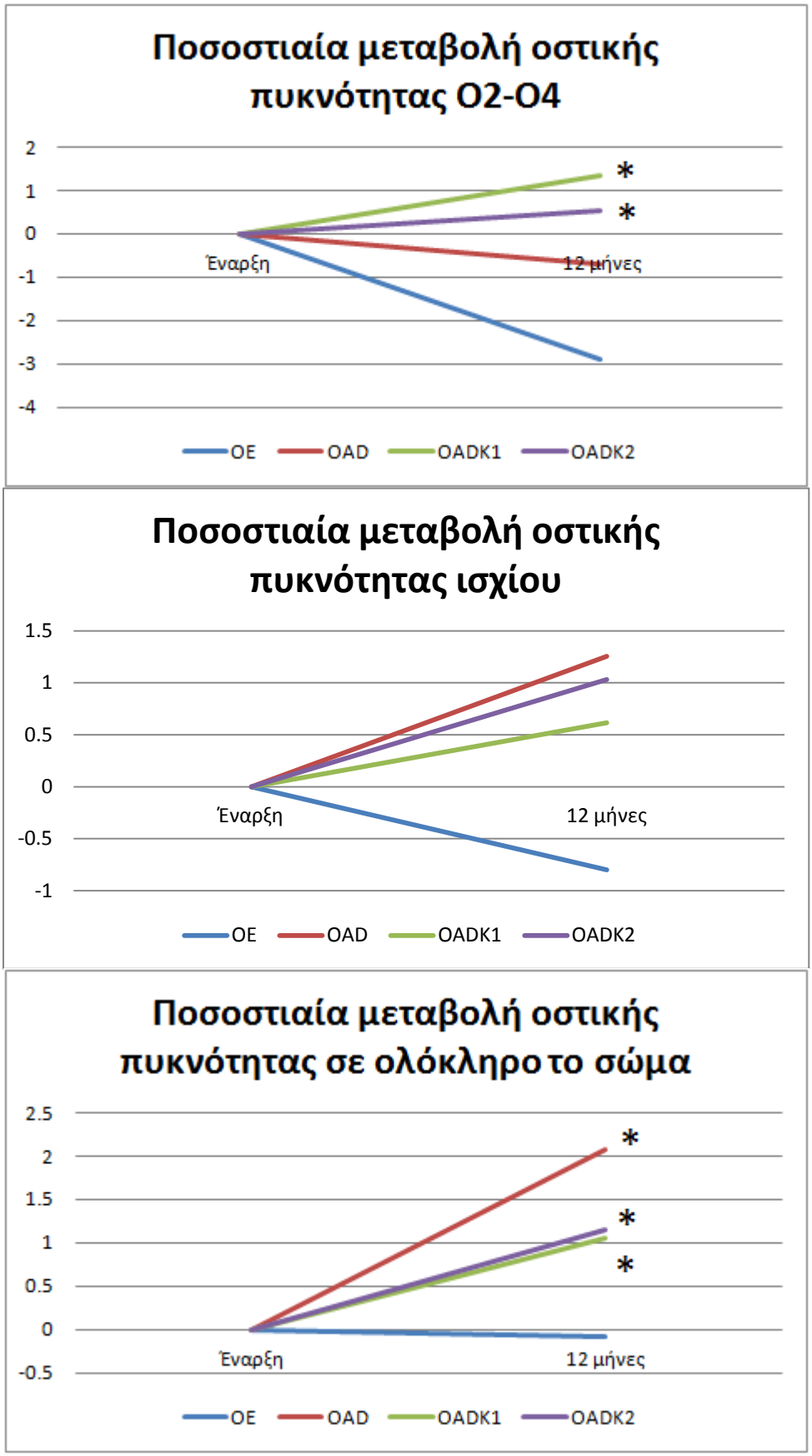
α Επίπεδο σημαντικότητας για τις διαφορές των μέσων τιμών μεταξύ των ομάδων σε κάθε χρονική στιγμή μέτρησης.

b Επίπεδο σημαντικότητας για τις διαφορές των μέσων τιμών μεταξύ των ομάδων. (Επίδραση θεραπεία x χρόνος).

Αναφορικά με την οστική πυκνότητα, όπως μετρήθηκε με απορροφησιομετρία διπλής ενέργειας, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση στην οστική μάζα της οσφυϊκής μοίρας της σπονδυλικής στήλης (O2-O4) για τις OADK1 και OADK2 που οδήγησε σε στατιστικά σημαντικά υψηλότερη οστική πυκνότητα στους 12 μήνες έναντι της ΟΕ και στατιστικά σημαντική αλληλεπίδραση θεραπείας – χρόνου ($p<0,001$). Για την ΟΕ παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μείωση. Παρόμοια παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μεταβολή στην οστική πυκνότητα ολικού σώματος για όλες τις ομάδες παρέμβασης έναντι της ΟΕ ($p<0,001$). Επίσης, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική αύξηση στην οστική μάζα στα χέρια σε σχέση με τις αρχικές τιμές για όλες τις ομάδες παρέμβασης και αύξηση στην οστική μάζα του αυχένα του μηριαίου οστού για την OAD (Πίνακας 3.6). Δεν παρατηρήθηκε καμία άλλη στατιστικά σημαντική μεταβολή στην οστική πυκνότητα σε κανένα άλλο ανατομικό σημείο.

Από τις μετρήσεις της οστικής υπερηχομετρίας δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές μεταξύ των ομάδων κατά την διάρκεια της παρέμβασης. Ωστόσο, οι ομάδες OAD και OADK1 αύξησαν την αντίστασή τους στη διέλευση του ήχου (Πίνακας 3.7).

Διάγραμμα 3.1



*p<0.05 συγκριτικά με τη ΟΕ, (N=115).

ΟΕ: Ομάδα Ελέγχου, ΟΑD: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη ασβεστίου και βιταμίνης D, ΟΑDΚ1: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη ασβεστίου, βιταμίνης D και Κ1, ΟΑDΚ2: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη ασβεστίου, βιταμίνης D και Κ2

Πίνακας 3.6 Μεταβολές στην οστική πυκνότητα σε διάφορα ανατομικά σημεία όπως μετρήθηκε με απορροφησιομετρία διπλής ενέργειας (N=115).

	Έναρξη		**12 μήνες**		**%Μεταβολή 12 μηνών**		*p-value*[b]
	Μέση Τιμή	Τυπική Απόκλιση	Μέση Τιμή	Τυπική Απόκλιση	Μέση Τιμή	Τυπική Απόκλιση	
O2-O4 (g/cm²)							0.001
OE (n=39)	1.134	(0.176)	1.101†	(0.167)	-0,032	(4.924)	
OAD (n=26)	1.120	(0.158)	1.113	(0.160)	-0.604	(4.187)	
OADK1 (n=26)	1.256	(0.192)	1.273‡	(0.195)	1.405‡	(4.144)	
OADK2 (n=24)	1.165	(0.169)	1.172‡	(0.158)	0.712‡	(4.387)	
P value[a]	0.028		0.001		0.001		
Συνολικό ισχίο (g/cm²)							0.336
OE (n=39)	0.941	(0.142)	0.933	(0.148)	-0.800	(5.479)	
OAD (n=26)	0.969	(0.118)	0.981	(0.121)	1.256	(2.002)	
OADK1 (n=26)	0.963	(0.177)	0.967	(0.172)	0.616	(3.212)	
OADK2 (n=24)	0.955	(0.120)	0.964	(0.116)	1.031	(3.438)	
P value[a]	0.903		0.444		0.332		
Αυχένας μηριαίου (g/cm²)							0.132
OE (n=39)	0.846	(0.116)	0.847	(0.125)	0.194	(4.375)	
OAD (n=26)	0.857	(0.096)	0.878†	(0.098)	2.641	(3.820)	
OADK1 (n=26)	0.868	(0.162)	0.870	(0.153)	0.465	(4.415)	
OADK2 (n=24)	0.851	(0.097)	0.857	(0.097)	0.803	(3.562)	
P value[a]	0.982		0.827		0.158		
Τρίγωνο Wards (g/cm²)							0.181
OE (n=39)	0.741	(0.133)	0.725	(0.145)	-2.185	(6.733)	
OAD (n=26)	0.753	(0.119)	0.770	(0.125)	2.490	(6.815)	
OADK1 (n=26)	0.756	(0.184)	0.754	(0.177)	0.172	(6.196)	
OADK2 (n=24)	0.745	(0.110)	0.736	(0.103)	-0.817	(6.499)	
P value[a]	0.99		0.515		0.192		
Τροχαντήρας (g/cm²)							0.405
OE (n=39)	0.750	(0.128)	0.763	(0.129)	1.730	(3.822)	
OAD (n=26)	0.768	(0.116)	0.784	(0.122)	2.178	(3.826)	
OADK1 (n=26)	0.785	(0.148)	0.795	(0.153)	1.349	(3.826)	
OADK2 (n=24)	0.778	(0.104)	0.786	(0.097)	1.366	(5.668)	
P value[a]	0.769		0.953		0.444		
Έσω τροχαντήρας (g/cm²)							0.925
OE (n=39)	1.132	(0.180)	1.131	(0.179)	-0.046	(2.888)	
OAD (n=26)	1.178	(0.150)	1.191	(0.157)	1.034	(2.045)	
OADK1 (n=26)	1.144	(0.226)	1.150	(0.217)	1.623	(2.888)	
OADK2 (n=24)	1.142	(0.162)	1.153	(0.158)	1.045	(3.473)	
P value[a]	0.761		0.341		0.459		
Συνολική σπονδυλική στήλη (g/cm²)							0.301
OE (n=39)	1.160	(0.150)	1.127	(0.138)	-2.429	(8.254)	
OAD (n=26)	1.165	(0.125)	1.150	(0.136)	-1.169	(7.191)	
OADK1 (n=26)	1.188	(0.177)	1.208	(0.181)	2.108	(11.143)	
OADK2 (n=24)	1.175	(0.198)	1.154	(0.147)	-0.599	(11.256)	
P value[a]	0.892		0.217		0.279		
Χέρια							0.068
OE (n=39)	0.819	(0.079)	0.841	(0.094)	2.720	(5.856)	
OAD (n=26)	0.835	(0.072)	0.885†	(0.113)	5.781	(6.737)	
OADK1 (n=26)	0.848	(0.100)	0.874†	(0.118)	3.104	(6.826)	
OADK2 (n=24)	0.830	(0.067)	0.857†	(0.090)	3.257	(6.460)	
P value[a]	0.817		0.210		0.092		
Συνολικό σώμα (g/cm²)							0.001
OE (n=39)	1.095	(0.079)	1.094	(0.079)	-0.028	(1.658)	
OAD (n=26)	1.112	(0.077)	1.135†‡	(0.083)	2.0895‡	(1.905)	
OADK1 (n=26)	1.117	(0.101)	1.129†‡	(0.099)	1.1914‡	(1.801)	
OADK2 (n=24)	1.105	(0.078)	1.117†‡	(0.077)	1.187‡	(1.597)	
P value[a]	0.892		0.001		0.001		

OE: Ομάδα Ελέγχου, OAD: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη Ασβεστίου και βιταμίνης D, OADK1: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη Ασβεστίου, βιταμίνης D και K1, OADK2: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη Ασβεστίου, βιταμίνης D και K2

Όλα τα P values έχουν διορθωθεί για τις διαφορές των επιπέδων φυσικής δραστηριότητας. Στην περίπτωση της οστικής πυκνότητας οσφυϊκής μοίρας έγινε επίσης διόρθωση για τις αρχικές μετρήσεις. Όλες οι τιμές p έχουν διορθωθεί για μεταβολή σε φυσική δραστηριότητα και ΔΜΣ.

†Στατιστικά σημαντικό σε σχέση με τις αρχικές τιμές.

‡ Στατιστικά σημαντικό σε σχέση με την OE.

α Επίπεδο σημαντικότητας για τις διαφορές των μέσων τιμών μεταξύ των ομάδων σε κάθε χρονική στιγμή μέτρησης.

b Επίπεδο σημαντικότητας για τις διαφορές των μέσων τιμών μεταξύ των ομάδων. (Επίδραση θεραπεία x χρόνος).

Πίνακας 3.7 Μεταβολές σε δείκτες οστικής υπερηχομετρίας στην πτέρνα (N=115).

	Έναρξη Μέση τιμή (ΤΑ)	**12 μήνες** Μέση τιμή (ΤΑ)	**Μεταβολή 12 μηνών** Μέση μεταβολή (95% ΔΕ)	p- value[b]
Ταχύτητα ήχου (m/s)				0.842
ΟΕ (n=39)	1532.8 (21.1)	1530.9 (19.4)	-2.3 (-5.7 έως 1.2)	
ΟΑD (n=26)	1534.9 (24.0)	1532.5 (20.8)	-2.1 (-6.4 έως 2.2)	
ΟΑDΚ1 (n=26)	1533.3 (22.2)	1533.4 (22.0)	0.1 (-4.1 έως 4.4)	
ΟΑDΚ2 (n=24)	1529.6 (23.3)	1528.1 (23.6)	-1.3 (-5.7 έως 3.2)	
P value[a]	0.895	0.845		
εΟΠ (g/cm²)				0.762
ΟΕ (n=39)	0.472 (0.083)	0.461 (0.083)	-0.011 (-0.026 έως 0.004)	
ΟΑD (n=26)	0.476 (0.091)	0.459 (0.081)	-0.016 (-0.035 έως 0.002)	
ΟΑDΚ1 (n=26)	0.477 (0.116)	0.468 (0.110)	-0.008 (-0.026 έως 0.010)	
ΟΑDΚ2 (n=24)	0.468 (0.115)	0.465 (0.097)	-0.003 (-0.021 έως 0.016)	
P value[a]	0.990	0.988		
BUA (dB/MHz)				0.642
ΟΕ (n=39)	71.2 (13.2)	69.0 (13.7)	-2.2 (-4.5 έως 0.2)	
ΟΑD (n=26)	70.8 (12.1)	66.9 (11.1)	-3.9 (-6.8 έως -1.0)	
ΟΑDΚ1 (n=26)	74.0 (14.3)	69.7 (13.9)	-4.3 (-7.1 έως -1.4)	
ΟΑDΚ2 (n=24)	69.4 (16.9)	66.6 (15.3)	-2.8 (-5.8 έως 0.2)	
P value[a]	0.734	0.831		
QUI/Stiffness (%)				0.701
ΟΕ (n=39)	86.8 (13.1)	85.0 (13.1)	-1.8 (-4.6 έως 0.9)	
ΟΑD (n=26)	87.3 (14.4)	84.7 (12.8)	-2.5 (-5.9 έως 0.8)	
ΟΑDΚ1 (n=26)	87.5 (18.3)	84.3 (18.4)	-3.2 (-6.5 έως 0.2)	
ΟΑDΚ2 (n=24)	86.1 (18.2)	85.6 (15.3)	-0.4 (-3.9 έως 3.1)	
P value[a]	0.990	0.986		

ΟΕ: Ομάδα Ελέγχου, ΟΑD: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη Ασβεστίου και βιταμίνης D, ΟΑDΚ1: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη Ασβεστίου, βιταμίνης D και Κ1, ΟΑDΚ2: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη Ασβεστίου, βιταμίνης D και Κ2

εΟΠ: εκτιμώμενη Οστική Πυκνότητα

BUA: Bone Broadband ultrasound attenuation (εξασθένιση του ήχου κατά της διέλευσής του από το οστό)

QUI: Quantitative ultrasound index (ποσοτικός δείκτης υπερήχου)

Όλα τα P values έχουν διορθωθεί για τη μεταβολή στη φυσική δραστηριότητα.

a Επίπεδο σημαντικότητας για τις διαφορές των μέσων τιμών μεταξύ των ομάδων σε κάθε χρονική στιγμή μέτρησης.

b Επίπεδο σημαντικότητας για τις διαφορές των μέσων τιμών μεταξύ των ομάδων. (Επίδραση θεραπεία x χρόνος).

*3.3 Μεταβολές στους 36 μήνες – δύο έτη μετά το τέλος της παρέμβασης**

Στον επανέλεγχο 2 έτη μετά το τέλος της παρέμβασης προσήλθαν 87 γυναίκες (OE n=23, OAD n=20, OADK1 n=22, OADK2 n=22). Οι ομάδες δε διέφεραν στατιστικά σημαντικά σε κανένα από τα αρχικά χαρακτηριστικά όπως φαίνεται στους πίνακες 3.8 έως 3.12.

Πίνακας 3.8 Διαφορές μεταξύ ομάδων στα αρχικά χαρακτηριστικά για τις αναλύσεις στους 36 μήνες

	OAD		OADK1		OADK2		OE		p value
	Μέση Τιμή	Τυπική Απόκλιση	Μέση Τιμή	Τυπική Απόκλιση	Μέση Τιμή	Τυπική Απόκλιση	Μέση Τιμή	Τυπική Απόκλιση	
Ηλικία (έτη)	62.8	(6.2)	60.1	(5.2)	62.2	(6.5)	62.3	(5.9)	0.472
Έτη εμμηνόπαυσης	11.3	(6.4)	9.8	(5.4)	12.5	(8.3)	11.9	(5.6)	0.538
Χρόνια εκπαίδευσης	10.7	(4.5)	11.3	(3.7)	10.4	(4.1)	9.2	(3.1)	0.372
BMI (kg/m^2)	29.3	(4.2)	29.0	(4.3)	29.5	(3.8)	29.6	(3.5)	0.960
% Σωματικού λίπους	43.4	(6.7)	42.3	(4.5)	43.7	(5.4)	43.1	(4.7)	0.858
Φυσική δραστηριότητα (βήματα/ημέρα)	7397	(3777)	7356	(3163)	5639	(2844)	6059	(2082)	0.147

OE: Ομάδα Ελέγχου, OAD: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη Ασβεστίου και βιταμίνης D, OADK1: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη Ασβεστίου, βιταμίνης D και K1, OADK2: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη Ασβεστίου, βιταμίνης D και K2

Σε βάθος 2 ετών μετά το τέλος της παρέμβασης δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές μεταβολές στο δείκτη μάζας σώματος και στο ποσοστό σωματικού λίπους. Αναφορικά με την φυσική δραστηριότητα οι εθελόντριες στις τρεις ομάδες παρέμβασης επέστρεψαν στις αρχικές τους συνήθειες, χωρίς να διαφέρουν πλέον στατιστικά σημαντικά από την ομάδα ελέγχου (Πίνακας 3.9).

Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στην πρόσληψη μάκρο και μίκρο-θρεπτικών συστατικών μεταξύ των ομάδων στα 2 έτη μετά το τέλος της παρέμβασης. Επιπρόσθετα, οι εθελόντριες στις ομάδες παρέμβασης φάνηκε ότι επέστρεψαν στις αρχικές διαιτητικές τους συνήθειες χωρίς να διαφέρουν στατιστικά σημαντικά από την ομάδα ελέγχου (Πίνακας 3.10).

Για την αξιολόγηση των διαιτητικών τους συνηθειών έγινε επιπρόσθετα μια ανάλυση ποιότητας διατροφής με τη χρήση του δείκτη HEI-2005. Στην συγκεκριμένη ανάλυση, επειδή εξετάστηκε η μεταβολή στην ποιότητα διατροφής κατά τη διάρκεια της παρέμβασης και 2 έτη μετά το τέλος της, ως αποτέλεσμα του προγράμματος διατροφική συμβουλευτικής που ήταν κοινό για τις 3 ομάδες παρέμβασης, και επειδή δεν βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων παρέμβασης, οι τρεις ομάδες αυτές θεωρήθηκαν μία. Κατά την διάρκεια της παρέμβασης, λοιπόν, φάνηκε ότι οι εθελόντριες των ομάδων παρέμβασης αύξησαν την κατανάλωση φρούτων (συνολική κατανάλωση και ολόκληρων), λαχανικών, γαλακτοκομικών, κάτι που οδήγησε σε στατιστικά σημαντική αύξηση της συνολικής βαθμολογίας HEI – 2005. Στο τέλος της παρέμβασης, οι εθελόντριες που παρακολούθησαν την παρέμβαση βρέθηκαν να έχουν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη βαθμολογία συνολικά στο δείκτη (p<0,001), αλλά και σε επιμέρους συστατικά του

* Μέρος των δεδομένων της ενότητας 3.3 έχουν παρουσιαστεί ως προφορική ανακοίνωνση:
Σ. Κανελλάκης, Γ. Μοσχώνης, Ε. Μπουντουβή, Χ.Π. Λαμπρινού, Μ. Ανδριώτη, Χ. Φιλίππου και Ι. Μανιός. Συμπληρωματική χορήγηση φυλλοκινόνης ή μενακινόνης-7 μέσω εμπλουτισμένων γαλακτοκομικών προϊόντων για 12 μήνες μειώνει την απώλεια οστικής μάζας 2 χρόνια μετά την παρέμβαση. The postmenopausal health study II, 2η διημερίδα ΠΜΣ του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου. Μάρτιος 2013

όπως συνολική κατανάλωση φρούτων (p=0,002) και κατανάλωση ολόκληρων φρούτων (p=0,006), κατανάλωση συνολικών λαχανικών (p=0,007) και κατανάλωση γαλακτοκομικών (p<0,001) (Πίνακας 3.11). Αντίστοιχα, 2 έτη μετά το τέλος της παρέμβασης, οι εθελόντριες της παρέμβασης δε βρέθηκε να διαφέρουν στατιστικά σημαντικά από την ομάδα ελέγχου παρά μόνο στην κατανάλωση δημητριακών ολικής άλεσης και στην λήψη «κενών θερμίδων» από αλκοόλ, στερεά λιπαρά και προστιθέμενα σάκχαρα (p=0,009 και p=0,044 αντίστοιχα). Ωστόσο οι εθελόντριες της παρέμβασης βρέθηκε να διατηρούν υψηλότερη βαθμολογία από τις αρχικές τους στα επιμέρους συστατικά του δείκτη, συνολικά και ολόκληρα φρούτα, γαλακτοκομικά και νάτριο (Πίνακας 3.11). Όλα τα παραπάνω οδήγησαν στους 36 μήνες σε στατιστικά χαμηλότερη συνολική βαθμολογία από τους 12 μήνες, όμως, στατιστικά σημαντικά υψηλότερη από την αρχική και συγκριτικά με τη ομάδα ελέγχου (p=0,009) με συντελεστή σημαντικότητας του αποτελέσματος σε βάθος χρόνου p<0,001 (Πίνακας 3.11).

Πίνακας 3.9 Μεταβολές σε Δείκτη Μάζας Σώματος, Σύσταση Σώματος και Φυσική Δραστηριότητα στους 12 και 36 μήνες (N=87).

	Έναρξη		**12 μήνες**		**36 μήνες**		**p**[b]
	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση	
ΔΜΣ							0.272
ΟΕ (n=23)	29.6	(3.5)	29.6	(3.8)	29.0	(4.9)	
ΟΑD (n=20)	29.3	(4.2)	29.6	(4.3)	30.3	(4.3)	
ΟΑDΚ1 (n=22)	29.0	(4.3)	29.5	(4.7)	29.8	(3.3)	
ΟΑDΚ2 (n=22)	29.5	(3.8)	29.8	(4.3)	30.3	(5.1)	
P value[a]	0.960		0.998		0.933		
Ποσοστό λίπους							0.132
ΟΕ (n=23)	43.1	(4.7)	43.3	(4.9)	44.2	(3.9)	
ΟΑD (n=20)	43.4	(6.7)	41.9	(5.6)	42.9	(6.1)	
ΟΑDΚ1 (n=22)	42.3	(4.5)	42.1	(4.5)	43.5	(4.2)	
ΟΑDΚ2 (n=22)	43.7	(5.4)	42.8	(4.4)	44.1	(4.1)	
P value[a]	0.858		0.780		0.830		
Φυσική δραστηριότητα							0.001
ΟΕ (n=23)	6059	(2082)	7122	(2357)	7525	(2877)	
ΟΑD (n=20)	7397	(3777)	13973†‡	(7051)	8645	(2586)	
ΟΑDΚ1 (n=22)	7356	(3163)	12087†‡	(6428)	7864	(3977)	
ΟΑDΚ2 (n=22)	5639	(2844)	16577†‡	(8975)	5905	(3003)	
P value[a]	0.147		0.001		0.097		

ΟΕ: Ομάδα Ελέγχου, ΟΑD: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη Ασβεστίου και βιταμίνης D, ΟΑDΚ1: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη Ασβεστίου, βιταμίνης D και Κ1, ΟΑDΚ2: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη Ασβεστίου, βιταμίνης D και Κ2
†Στατιστικά σημαντικό σε σχέση με τις αρχικές τιμές.
‡ Στατιστικά σημαντικό σε σχέση με την ΟΕ.
α Επίπεδο σημαντικότητας για τις διαφορές των μέσων τιμών μεταξύ των ομάδων σε κάθε χρονική στιγμή μέτρησης.
b Επίπεδο σημαντικότητας για τις διαφορές των μέσων τιμών μεταξύ των ομάδων. (Επίδραση θεραπεία x χρόνος).

Πίνακας 3.10 Μεταβολές διατροφικής πρόσληψης στους 12 και 36 μήνες (N=87).

	Έναρξη		12 μήνες		36 μήνες		p- value[b]
	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση	
Ενέργεια (kcal)							0.285
OE (n=23)	1549.4	(227.8)	1730.7	(815.4)	1443.7	(411.9)	
OAD (n=20)	1560.1	(223.3)	1677.3	(471.0)	1464.4	(399.9)	
OADK1 (n=22)	1611.7	(226.1)	1590.0	(524.7)	1452.5	(371.6)	
OADK2 (n=22)	1547.0	(245.9)	1446.7	(243.4)	1394.1	(328.4)	
P value[a]	0.775		0.362		0.935		
Πρωτεΐνη (%της ενεργειακής πρόσληψης)							0.100
OE (n=23)	15.72	(3.81)	15.29	(3.10)	16.53	(3.85)	
OAD (n=20)	15.63	(3.31)	18.39†‡	(2.72)	17.80	(5.05)	
OADK1 (n=22)	15.76	(3.64)	17.97†‡	(4.67)	16.55	(4.53)	
OADK2 (n=22)	16.11	(3.03)	16.96†	(2.75)	15.45	(3.38)	
P value[a]	0.972		0.031		0.385		
Υδατάνθρακες (% ενεργειακής πρόσληψης)							0.282
OE (n=23)	44.41	(6.73)	42.29	(7.31)	41.74	(9.15)	
OAD (n=20)	44.97	(6.04)	46.12	(5.97)	43.03	(7.44)	
OADK1 (n=22)	42.37	(7.05)	42.56	(6.50)	44.77	(9.04)	
OADK2 (n=22)	44.29	(5.29)	45.07	(7.21)	46.00	(8.42)	
P value[a]	0.566		0.211		0.418		
Συνολικό λίπος (% ενεργειακής πρόσληψης)							0.065
OE (n=23)	42.38	(8.88)	45.06	(6.83)	40.56	(8.09)	
OAD (n=20)	41.85	(8.09)	38.18†‡	(6.25)	40.83†	(7.87)	
OADK1 (n=22)	43.19	(5.55)	41.12†‡	(5.93)	38.74	(7.27)	
OADK2 (n=22)	41.62	(5.67)	38.81†‡	(7.19)	40.45	(6.99)	
P value[a]	0.890		0.007		0.801		
Ασβέστιο (mg)							0.279
OE (n=23)	773.5	(267.1)	875.6	(622.9)	577.5†	(300.8)	
OAD (n=20)	898.7	(237.2)	1260.9†‡	(375.0)	775.3	(454.9)	
OADK1 (n=22)	851.1	(383.0)	1089.0†‡	(380.1)	734.5	(354.6)	
OADK2 (n=22)	849.7	(258.4)	1010.9†‡	(255.2)	649.1†	(306.0)	
P value[a]	0.625		0.047		0.342		
Βιταμίνη D (μg)							0.001
OE (n=23)	0.869	(0.761)	0.963	(1.218)	0.464	(0.460)	
OAD (n=20)	0.995	(0.775)	10.964†‡	(4.284)	1.214	(1.665)	
OADK1 (n=22)	1.097	(1.212)	8.707†‡	(4.855)	1.102	(1.148)	
OADK2 (n=22)	1.085	(0.754)	9.535†‡	(3.308)	1.466	(1.434)	
P value[a]	0.846		0.001		0.103		
Βιταμίνη K (μg)							0.249
OE (n=23)	81.67	(39.70)	170.01	(227.80)	47.19†	(38.43)	
OAD (n=20)	113.04	(60.63)	98.44	(119.13)	62.09	(44.32)	
OADK1 (n=22)	115.35	(127.39)	244.90†‡	(265.47)	96.43	(109.44)	
OADK2 (n=22)	128.12	(182.31)	206.20†‡	(114.62)	60.84	(64.61)	
P value[a]	0.259		0.001		0.088		

ΟΕ: Ομάδα Ελέγχου, ΟΑD: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη Ασβεστίου και βιταμίνης D, ΟΑDK1: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη Ασβεστίου, βιταμίνης D και K1, ΟΑDK2: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη Ασβεστίου, βιταμίνης D και K2

Όλα τα P values έχουν διορθωθεί για τις διαφορές των επιπέδων φυσικής δραστηριότητας. Στην περίπτωση της οστικής πυκνότητας οσφυϊκής μοίρας έγινε επίσης διόρθωση για τις αρχικές μετρήσεις. Όλες οι τιμές p έχουν διορθωθεί για μεταβολή σε φυσική δραστηριότητα και ΔΜΣ.

†Στατιστικά σημαντικό σε σχέση με τις αρχικές τιμές.

‡ Στατιστικά σημαντικό σε σχέση με την ΟΕ.

α Επίπεδο σημαντικότητας για τις διαφορές των μέσων τιμών μεταξύ των ομάδων σε κάθε χρονική στιγμή μέτρησης.

b Επίπεδο σημαντικότητας για τις διαφορές των μέσων τιμών μεταξύ των ομάδων. (Επίδραση θεραπεία x χρόνος).

Πίνακας 3.11 Μεταβολές στο σκορ του HEI κατά τη διάρκεια της παρέμβασης (N=87).

	Έναρξη		**Επανέλεγχος 12 μήνες**		**Μεταβολές 12 μηνών**		**Επανέλεγχος 36 μήνες**		**Μεταβολές 36 μηνών**		
HEI Σκορ	Μέση Τιμή	Τυπική απόκλιση	Μέση Τιμή	Τυπική απόκλιση	Μέση Μεταβολή	95% Διάστημα Εμπιστοσύνης	Μέση Τιμή	Τυπική απόκλιση	Μέση Μεταβολή	95% Διάστημα Εμπιστοσύνης	**p- value**[b]
Σύνολο Φρούτων											0.007
Ομάδα Ελέγχου (n=23)	3.458	(2.179)	3.702	(1.869)	0.244	-0.532 έως 1.020	4.130	(1.650)	0.672	-0.502 έως 1.846	
Ομάδα Παρέμβασης (n=64)	3.382	(2.337)	4.986	(0.110)	-1.603	1.004 έως 2.202	4.322	(1.483)	0.940	0.323 έως 1.557	
P value[a]	0.890		0.002				0.617				
Ολόκληρα Φρούτα											0.080
Ομάδα Ελέγχου (n=23)	3.600	(2.179)	4.020	(1.610)	0.420	-0.430 έως 1.270	3.600	(2.291)	0.000	-1.300 έως 1.300	
Ομάδα Παρέμβασης (n=64)	3.367	(2.321)	5.000	(0.000)	1.633	1.034 έως 2.233	4.333	(1.714)	0.967	0.284 έως 1.649	
P value[a]	0.669		0.006				0.158				
Σύνολο Λαχανικών											0.162
Ομάδα Ελέγχου (n=23)	3.405	(1.972)	3.866	(0.917)	0.461	-0.198 έως 1.121	3.966	(1.553)	0.561	-0.449 έως 1.571	
Ομάδα Παρέμβασης (n=64)	3.344	(2.278)	4.528	(1.043)	1.184	0.518 έως 1.849	3.953	(1.667)	0.609	-0.122 έως 1.341	
P value[a]	0.907		0.007				0.975				
Σκούρα Πράσινα/Πορτοκαλί Λαχανικά και Όσπρια											0.325
Ομάδα Ελέγχου (n=23)	3.731	(2.153)	4.294	(0.895)	0.563	-0.175 έως 1.300	2.684	(2.396)	-1.047	-2.421 έως 0.327	
Ομάδα Παρέμβασης (n=64)	3.618	(2.170)	4.612	(1.050)	1.018	0.388 έως 1.648	3.639	(2.003)	0.022	-0.723 έως 0.766	
P value[a]	0.827		0.189				0.087				
Σύνολο Δημητριακών											0.953
Ομάδα Ελέγχου (n=23)	4.550	(0.891)	4.647	(0.562)	0.097	-0.345 έως 0.539	4.706	(0.946)	0.156	-0.379 έως 0.691	
Ομάδα Παρέμβασης (n=64)	4.149	(1.166)	4.294	(0.957)	0.145	-0.153 έως 0.443	4.264	(1.322)	0.115	-0.317 έως 0.547	
P value[a]	0.127		0.038				0.088				
Ολικής Άλεσης Δημητριακά											0.404
Ομάδα Ελέγχου (n=23)	2.189	(1.980)	2.124	(2.136)	-0.068	-1.135 έως 0.999	1.131	(1.806)	-1.058	-1.989 έως -0.126	
Ομάδα Παρέμβασης (n=64)	2.307	(1.945)	3.067	(2.112)	0.805	0.296 έως 1.314	2.075	(2.177)	-0.232	-0.853 έως 0.388	
P value[a]	0.800		0.070				0.044				

Πίνακας 3.11 Μεταβολές στο σκορ του HEI κατά τη διάρκεια της παρέμβασης (N=87).

	Έναρξη		Επανέλεγχος 12 μήνες		Μεταβολές 12 μηνών		Επανέλεγχος 36 μήνες		Μεταβολές 36 μηνών		p- value[b]
HEI Σκορ	Μέση Τιμή	Τυπική απόκλιση	Μέση Τιμή	Τυπική απόκλιση	Μέση Μεταβολή	95% Διάστημα Εμπιστοσύνης	Μέση Τιμή	Τυπική απόκλιση	Μέση Τιμή	95% Διάστημα Εμπιστοσύνης	
Γαλακτοκομικά											0.001
Ομάδα Ελέγχου (n=23)	3.968	(3.504)	4.112	(2.801)	0.144	-1.340 έως 1.628	5.282	(4.127)	1.314	-1.072 έως 3.701	
Ομάδα Παρέμβασης (n=64)	3.763	(3.163)	9.225	(1.889)	5.462	4.626 έως 6.297	5.434	(3.896)	1.671	0.465 έως 2.877	
P value[a]	0.793		0.000				0.873				
Κρέας και Φασόλια											0.067
Ομάδα Ελέγχου (n=23)	2.781	(1.742)	9.603	(0.970)	6.822	6.160 έως 7.484	9.056	(2.423)	6.275	4.981 έως 7.569	
Ομάδα Παρέμβασης (n=64)	2.431	(1.398)	8.997	(2.325)	6.566	6.069 έως 7.063	8.048	(3.249)	5.617	4.776 έως 6.458	
P value[a]	0.331		0.094				0.121				
Λιπαρά											0.122
Ομάδα Ελέγχου (n=23)	10.000	(0.000)	10.000	(0.000)	-	- -	9.981	(0.096)	-0.019	-0.059 έως 0.020	
Ομάδα Παρέμβασης (n=64)	10.000	(0.000)	10.000	(0.000)	-	- -	10.000	(0.000)	-	- -	
P value[a]	0.327										
Κορεσμένο Λίπος											0.370
Ομάδα Ελέγχου (n=23)	5.080	(3.328)	3.920	(2.722)	-1.160	-2.425 έως 0.105	3.200	(3.085)	-1.880	-3.548 έως -0.212	
Ομάδα Παρέμβασης (n=64)	4.933	(2.785)	4.733	(2.321)	-0.200	-1.008 έως 0.608	4.313	(3.583)	-0.621	-1.824 έως 0.583	
P value[a]	0.835		0.166				0.155				
Νάτριο											0.509
Ομάδα Ελέγχου (n=23)	6.160	(3.412)	5.520	(2.931)	-0.640	-2.295 έως 1.015	7.840	(2.809)	1.680	0.017 έως 3.343	
Ομάδα Παρέμβασης (n=64)	6.050	(3.044)	5.933	(2.881)	-0.117	-1.057 έως 0.824	8.583	(1.522)	2.533	1.873 έως 3.193	
P value[a]	0.884		0.550				0.221				
Θερμίδες από στερεά λιπαρά, αλκοόλ, προστιθέμενα σάκχαρα											0.001
Ομάδα Ελέγχου (n=23)	19.833	(0.816)	18.720	(3.714)	-1.167	-2.826 έως 0.493	16.996	(2.427)	-2.838	-4.019 έως -1.656	
Ομάδα Παρέμβασης (n=64)	19.847	(1.047)	19.750	(0.914)	-0.102	-0.472 έως 0.269	19.175	(0.941)	-0.669	-1.043 έως -0.296	
P value[a]	0.953		0.183				0.000				
Συνολικό Σκορ HEI											0.001
Ομάδα Ελέγχου (n=23)	75.330	(11.231)	74.622	(8.371)	-0.761	-5.429 έως 3.908	72.572	(8.942)	-3.291	-9.152 έως 2.569	
Ομάδα Παρέμβασης (n=64)	74.190	(9.464)	85.143	(5.104)	11.091	8.309 έως 13.873	78.140	(7.231)	4.103	1.359 έως 6.847	
P value[a]	0.639		0.000				0.009				

α Επίπεδο σημαντικότητας για τις διαφορές των μέσων τιμών μεταξύ των ομάδων σε κάθε χρονική στιγμή μέτρησης.
b Επίπεδο σημαντικότητας για τις διαφορές των μέσων τιμών μεταξύ των ομάδων. (Επίδραση θεραπεία x χρόνος).

Δεν βρέθηκαν να διαφέρουν στατιστικά σημαντικά μεταξύ των ομάδων οι ορμονικοί δείκτες οστικού μεταβολισμού, βιταμίνη D και παραθορμόνη 2 έτη μετά το τέλος της παρέμβασης (Πίνακα 3.12).

Αναφορικά με τις μεταβολές στην οστική μάζα βρέθηκε να ελαττώνεται σε όλα τα ανατομικά σημεία μέτρησης διατηρώντας όμως υψηλότερες τιμές, 2 έτη μετά το τέλος της παρέμβασης, για τις ομάδες παρέμβασης σε σχέση με την ομάδα ελέγχου, εύρημα στατιστικά σημαντικό μόνο για τις ομάδες που λάμβαναν βιταμίνη K (OADK1 και OADK2) και για την οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης (O2-O4) (p=0,007) (Διάγραμμα 3.2, Πίνακας 3.11). Επίσης, βρέθηκε και ωφέλιμη μεταβολή συναρτήσει του χρόνου για τις ομάδες OAD και OADK1 για την ολική οστική πυκνότητα σε βάθος χρόνου (Διάγραμμα 3.2, Πίνακας 3.12).

Πίνακας 3.12 Μεταβολές στην Οστική Πυκνότητα σε διάφορα ανατομικά σημεία και σε ορμονικούς δείκτες οστικού μεταβολισμού στους 12 και 36 μήνες (N=87).

	Έναρξη		**12 μήνες**		**36 μήνες**		**p-value**[b]
	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση	Μέση τιμή	Τυπική απόκλιση	
Οστική πυκνότητα ολικού σώματος							0.005
ΟΕ (n=23)	1.112	(0.067)	1.110	(0.065)	1.084	(0.061)	
ΟΑD (n=20)	1.116	(0.086)	1.140†‡	(0.091)	1.088	(0.079)	
ΟΑDΚ1 (n=22)	1.120	(0.106)	1.129†‡	(0.104)	1.113	(0.105)	
ΟΑDΚ2 (n=22)	1.108	(0.079)	1.119†‡	(0.080)	1.098	(0.074)	
P value[a]	0.971		0.003		0.080		
Οστική πυκνότητα αυχένα μηριαίου οστού							0.072
ΟΕ (n=23)	0.877	(0.111)	0.875	(0.124)	0.866	(0.129)	
ΟΑD (n=20)	0.863	(0.106)	0.882	(0.110)	0.829	(0.094)	
ΟΑDΚ1 (n=22)	0.874	(0.167)	0.877	(0.157)	0.871	(0.152)	
ΟΑDΚ2 (n=22)	0.850	(0.101)	0.857	(0.101)	0.834	(0.103)	
P value[a]	0.891		0.901		0.737		
Οστική πυκνότητα ισχίου							0.099
ΟΕ (n=23)	0.975	(0.135)	0.958	(0.146)	0.971	(0.142)	
ΟΑD (n=20)	0.973	(0.125)	0.986	(0.129)	0.948	(0.115)	
ΟΑDΚ1 (n=22)	0.964	(0.187)	0.970	(0.181)	0.967	(0.182)	
ΟΑDΚ2 (n=22)	0.955	(0.122)	0.969	(0.117)	0.954	(0.123)	
P value[a]	0.970		0.912		0.965		
Οστική πυκνότητα Ο2-Ο4							0.003
ΟΕ (n=23)	1.155	(0.156)	1.112	(0.153)	1.089	(0.141)	
ΟΑD (n=20)	1.116	(0.170)	1.102	(0.169)	1.111	(0.176)	
ΟΑDΚ1 (n=22)	1.255	(0.207)	1.270†‡	(0.211)	1.273†‡	(0.193)	
ΟΑDΚ2 (n=22)	1.171	(0.173)	1.175†‡	(0.162)	1.167‡	(0.172)	
P value[a]	0.089		0.010		0.007		
Παραθορμόνη							0.656
ΟΕ (n=23)	41.8	(11.5)	41.7	(10.7)	45.1	(12.2)	
ΟΑD (n=20)	41.5	(10.9)	39.9	(12.7)	43.1	(7.7)	
ΟΑDΚ1 (n=22)	45.3	(11.8)	42.6	(11.1)	45.6	(11.9)	
ΟΑDΚ2 (n=22)	49.0	(17.8)	45.6	(17.9)	51.9	(16.6)	
P value[a]	0.367		0.684		0.435		
Βιταμίνη D ορού							0.001
ΟΕ (n=23)	24.7	(6.2)	22.2	(5.9)	26.7	(10.4)	
ΟΑD (n=20)	22.8	(5.5)	25.2	(5.2)	24.8	(7.7)	
ΟΑDΚ1 (n=22)	23.4	(5.0)	25.8	(5.3)	28.0	(7.4)	
ΟΑDΚ2 (n=22)	21.2	(5.6)	24.7	(4.9)	23.0	(8.9)	
P value[a]	0.332		0.001		0.271		

ΟΕ: Ομάδα Ελέγχου, ΟΑD: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη Ασβεστίου και βιταμίνης D, ΟΑDΚ1: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη Ασβεστίου, βιταμίνης D και Κ1, ΟΑDΚ2: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη Ασβεστίου, βιταμίνης D και Κ2

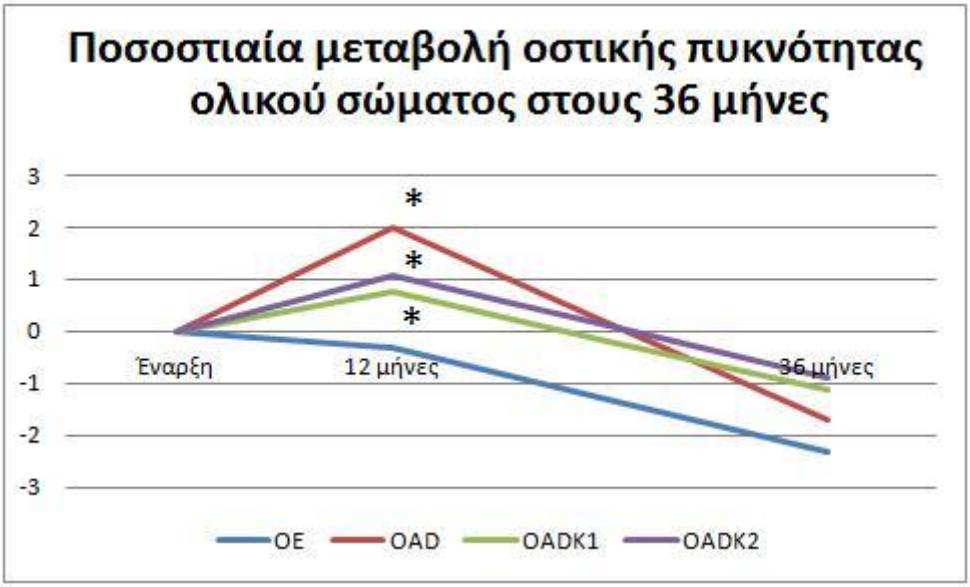
α Επίπεδο σημαντικότητας για τις διαφορές των μέσων τιμών μεταξύ των ομάδων σε κάθε χρονική στιγμή μέτρησης.

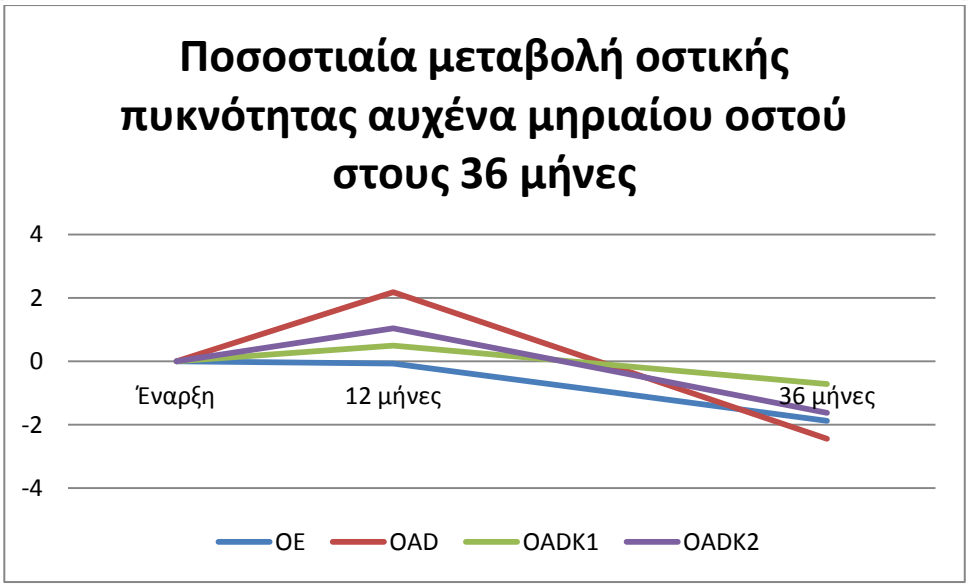
b Επίπεδο σημαντικότητας για τις διαφορές των μέσων τιμών μεταξύ των ομάδων. (Επίδραση θεραπεία x χρόνος).

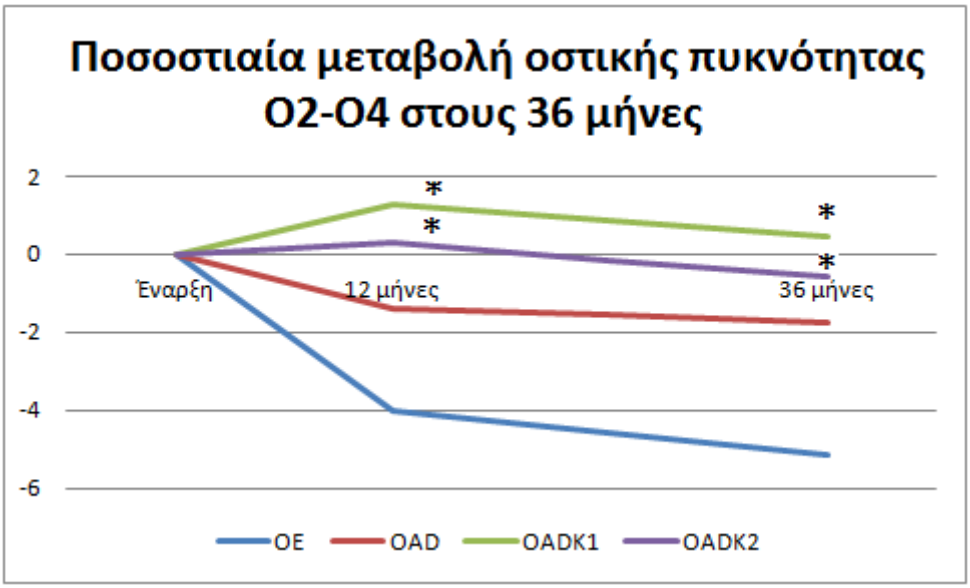
†Στατιστικά σημαντικό σε σχέση με τις αρχικές τιμές.

‡ Στατιστικά σημαντικό σε σχέση με την ΟΕ.

Διάγραμμα 3.2







* $p<0.05$ συγκριτικά με τη ΟΕ, (N=87).

ΟΕ: Ομάδα Ελέγχου, ΟΑD: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη Ασβεστίου και βιταμίνης D, ΟΑDK1: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη Ασβεστίου, βιταμίνης D και K1, ΟΑDK2: Ομάδα Παρέμβασης με πρόσληψη Ασβεστίου, βιταμίνης D και K2

3.4 Εργαλεία αξιολόγησης σύστασης σώματος*

Για την αξιολόγηση των εξισώσεων εκτίμησης σύστασης σώματος από απλά ανθρωπομετρικά δεδομένα και τη δημιουργία της νέας χρησιμοποιήθηκε δείγμα 277 γυναικών. Η μέση ηλικία τους ήταν 62 (±6,2) έτη, με μέση τιμή δείκτη μάζας σώματος 29,2 (±4,5) kg/m^2 και μέση τιμή φυσικής δραστηριότητας 6532 βήματα/μέρα. Το σφάλμα και η ο συντελεστής ICC το εξισώσεων παρουσιάζονται στον πίνακα 3.13. Όλες οι εξισώσεις βρέθηκαν να έχουν στατιστικά σημαντικό σφάλμα (p<0,001). Ο συντελεστής συσχέτισης Pearson μεταξύ της διαφοράς και της μέσης τιμής των δυο μεθόδων (πίνακας 3.13) έδειξε ότι η εξίσωση του Visser και συν. με χρήση του δείκτη μάζας σώματος έτεινε να υποεκτιμά το ποσοστό σωματικού λίπους όσο αυτό αυξάνεται με στατιστικά σημαντικό τρόπο (r= -0,181 και r= -0,303) για τις εξισώσεις του Siri και Brozek αντίστοιχα). Ωστόσο, η ανάλυση Bland – Altman έδειξε ότι είχε μικρότερο σφάλμα, όταν η μετατροπή σε ποσοστό λίπους γινόταν με την εξίσωση του Brozek σε σχέση με τις άλλες εξισώσεις που δοκιμάστηκαν (1,21 έναντι -1,95 έως 8,49 %ΣΛ). Το μικρότερο διάστημα εμπιστοσύνης φάνηκε να έχει η εξίσωση του Visser και συν. με χρήση του ΔΜΣ όταν μετατρεπόταν σε ποσοστό λίπους από την εξίσωση του Brozek (±6,76 έναντι ±6,8 έως ±11,5 %ΣΛ).

Πίνακας 3.13 Εγκυρότητα των μοντέλων (n=277).

Μοντέλα	Σφάλμα (%ΣΛ)	Διάστημα Εμπιστοσύνης (%ΣΛ)	SEE Από την παρούσα μελέτη	SEE Από την βιβλιογραφία	ICC	r'	r
% ΣΛ Martarelli, και συν. (ΔΜΣ)	-1.95*	±9.72	4.86	-	0.823	0.288*	0.715*
% ΣΛ Visser και συν. (ΔΠ, Siri εξίσωση)	8.49*	±9.62	4.81	5.6	0.651	-0.217*	0.526*
% ΣΛ Visser και συν. (ΔΜΣ, Siri εξίσωση)	3.55*	±6.84	3.42	4.8	0.883	-0.181*	0.796*
% ΣΛ Visser και συν. (ΔΠ, Brozek εξίσωση)	5.76*	±9.54	4.77	-	0.636	-0.359*	0.526*
% ΣΛ Visser και συν. (ΔΜΣ, Brozek εξίσωση)	1.21*	±6.76	3.38	-	0.878	-0.303*	0.796*
% ΣΛ Lean και συν. (ΠΜ)	4.29*	±11.52	5.76	4.0	0.718	0.209*	0.569*
% ΣΛ Lean και συν. (ΔΜΣ)	4.42*	±5.20	2.60	3.9	0.789	0.256*	0.664*

%ΣΛ= ποσοστό Σωματικό Λίπος; ΔΜΣ= Δείκτης Μάζας Σώματος; ΔΠ= Δερματικές Πτυχές; ΠΜ= Περιφέρεια Μέσης
r': Συντελεστής συσχέτισης Pearson μεταξύ μέσης τιμής και διαφοράς των μεθόδων σε διάγραμμα Bland-Altman.
r : Συντελεστής συσχέτισης Pearson μεταξύ της εκτίμησης του ποσοστού του λίπους του σώματος από την συγκεκριμένη εξίσωση και από την μέθοδο DXA.
* : p<0.001

* Τα δεδομένα που παρουσιάζονταις την ενότητα 3.4 έχουν δημοσιευθεί στα εξής άρθρα:

1. **Kanellakis S**, Manios Y. Validation of five simple models estimating body fat in white postmenopausal women: use in clinical practice and research. *Obesity (Silver Spring)*. 2012 Jun;20(6):1329-32. doi: 10.1038/oby.2011.403.
2. Manios Y, **Kanellakis S**, Androutsos O, Maragkopoulou K, Giannopoulou A, Argyri E, Moschonis G. Development and validation of a simple model based on anthropometry: estimating fat mass for white postmenopausal women. *Menopause*. 2012 Apr;19(4):467-70. doi: 10.1097/gme.0b013e31823110db.
3. Manios Y, **Kanellakis S**, Moschonis G, Pipidis I, Skoufas E, Zafiropulos V. Estimation of abdominal fat mass: validity of abdominal bioelectrical impedance analysis and a new model based on anthropometry compared with dual-energy x-ray absorptiometry. *Menopause*. 2013 XXXX doi: 10.1097/gme.0b013e31828f5cd8

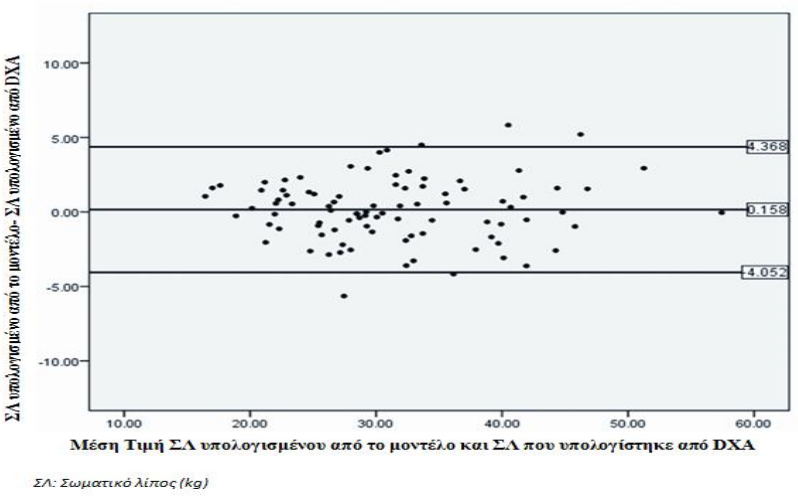
Αναφορικά με την δημιουργία της εξίσωσης από τα υπάρχοντα δεδομένα η πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση έδωσε την εξής εξίσωση:

ΣΛ = 0,069 Χ ΔΠδικ + 0,553 Χ Β – 14,655 Χ Υ + 0,218 Χ ΠΙ – 9,830

ΣΛ: Σωματικό λίπος (Kg), ΔΠδικ: δερματική πτυχή δικεφάλου (mm), Β: βάρος (kg), Υ: ύψος (m), ΠΙ: περιφέρεια ισχίων (cm).

Το μοντέλο εξήγησε το 93,4% της διακύμανσης (r^2=0,934, p<0,001 και Τυπικό σφάλμα της εκτίμησης 2,14). Στη συνέχεια επαληθεύτηκε στην ομάδα επαλήθευσης όπου φάνηκε να έχει μη στατιστικά σημαντικό σφάλμα -0,158 kg (p=0,476). Το διάστημα εμπιστοσύνης της εκτίμησης βρέθηκε να είναι ±4,21kg (ΤΑ, ±2,1kg), κάτι που δείχνει πως το μοντέλο είναι ακριβές και αξιόπιστο. Επιπρόσθετα, έγινε έλεγχος της εξίσωσης σε διάφορα εύρη δείκτη μάζας σώματος και για ηλικίες μεγαλύτερες και μικρότερες των 65 ετών. Συγκεκριμένα επαληθεύτηκε σε τιμές ΔΜΣ μικρότερες από 25, 25-30 και μεγαλύτερες από 30 kg/m^2 και έδωσε μη στατιστικό σφάλμα -0,379 kg (p=0,290), -0,282 kg (p=0,383) και -0,499 kg (p=0,232) με διάστημα εμπιστοσύνης ±2,94kg, ±3,88kg, ±4,92kg και ICC 0,935, 0,892 και 0,957 αντίστοιχα. Αναφορικά με την αξιοπιστία σε διαφορετικές ηλικιακές κατηγορίες βρέθηκε να έχει σφάλμα -0,072kg (p=0,762) και -0,330kg (p=0,482) με διάστημα εμπιστοσύνης ±3,72 και ±5,06kg και ICC 0,988 και 0,971 για γυναίκες μικρότερες και μεγαλύτερες από 65 ετών αντίστοιχα. Επιπρόσθετα, δε φάνηκε να υπερεκτιμά ή να υποεκτιμά την λιπώδη μάζα σώματος σε διάφορα εύρη αυτής (p=0,078, r=-0,130). Στον Πίνακα 3.14 παρουσιάζεται η σύγκριση με άλλα μοντέλα που ανακτήθηκαν από την βιβλιογραφία και εφαρμόστηκαν στην ομάδα αξιολόγησης επίσης.

Διάγραμμα 3.3 Διάγραμμα Bland – Altman εξίσωσης που δημιουργήθηκε.



Πίνακας 3.14 Εγκυρότητα και σύγκριση των μοντέλων στον υποπληθυσμό ελέγχου (N=91)

Μελέτη	Μέθοδος Αναφοράς	Μοντέλο Εξίσωσης	Ηλικία	n	Σφάλμα	Διάστημα Εμπιστοσύνης	Στατιστική σημαντικότητα σφάλματος	ICC	r *
Martarelli, και συν., 2008	BIA	ΛΜΣ= 1.9337 x ΔΜΣ - 26.422	11-80	341	-1.239‡	6.877	0.001	0.956	0.131
Noppa, και συν., 1979	Σημασμένο νερό, TBK	ΛΜΣ=0,37 x Β+0.13 x ΠΜ + 0.10 x (ΔΠδικεφάλου+ΔΠτρικεφάλου) - 21.1	44-66	227	-6.997‡	6.197	0.001	0.951	-0.718‡
Lean, και συν., 1996	Υποβρύχια Ζύγιση	%ΣΛ= 0.232 x ΠΜ + 0.657 x ΔΠτρικεφάλου + 0,215 x Η - 5,5	18-64	84	3.372‡	8.052	0.001	0.945	0.307†
Lean, και συν., 1996	Υποβρύχια Ζύγιση	%ΣΛ= 0.73 x ΔΜΣ + 0.548 x ΔΠΤρικεφάλου + 0.27 x Η - 5,9	18-64	84	3.424‡	7.405	0.001	0.955	0.374‡
Visser, και συν., 1994	Υποβρύχια Ζύγιση	ΠΣ= 0.0186 x Φ - 0.030 x log(ΔΠΔ+ΔΠΤ) + 1.0481 (γυναίκες:0, άνδρες:1)	60-87	128	1.621‡	6.156	0.001	0.951	-0.729‡
Visser, και συν., 1994	Υποβρύχια Ζύγιση	ΠΣ= 0.0226 x Φ - 0.0022 x ΔΜΣ + 1.0605 (γυναίκες:0, άνδρες:1)	60-87	128	2.748‡	5.246	0.001	0.976	0.306†
Visser, και συν., 1994	Υποβρύχια Ζύγιση	ΠΣ= 0.0212 x Φ - 0.0356 x log(ΔΠδικεφάλου+ΔΠτρικεφάλου+ΔΠυπερλαγονίου+ΔΠυποωμοπλατιαία) + 1.0688 (γυναίκες:0, άνδρες:1)	60-87	128	1.152‡	6.233	0.001	0.951	-0.695‡
Τρέχουσα Μελέτη	DXA	ΛΜΣ= 0.069 x ΔΠδικεφάλου + 0.553 x Β - 14.655 x Υ + 0.218 x ΠΙ - 9.830	47-79	185	0.158	4.206	0.476	0.983	0.033

ΛΜΣ= Λιπώδης Μάζα Σώματος, ΔΜΣ= Δείκτης Μάζας Σώματος, Β= Βάρος, ΠΜ= Περιφέρεια Μέσης, ΔΠ= Δερματική Πτυχή %ΣΛ= Ποσοστό Σωματικού Λίπους, Ηλικία, ΠΣ= Πυκνότητα Σώματος, Φ= Φύλο
ΣΒ= Σωματικό Βάρος, Υ=Ύψος, ΠΙ= Περιφέρεια Ισχίων
* Συντελεστής συσχέτισης μεταξύ μέσης τιμής και διαφορά από το διάγραμμα Bland - Altman.
ICC = Intraclass Correlation Coefficient
† $p<0.05$
‡ $p<0.001$

Τέλος, από τα δεδομένα του επανελέγχου 36 μηνών δημιουργήθηκε ένα μοντέλο εκτίμησης ποσοστού κοιλιακού λίπους. Για την δημιουργία του μοντέλου αυτού χρησιμοποιήθηκαν ως δείγμα 91 εθελόντριες των οποίων τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά φαίνονται στον Πίνακα 3.15. Η εξίσωση που δημιουργήθηκε από την πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση στην μια υποομάδα (n=60) ήταν:

%ΚΛ = 4,496 + (0,318 Χ ΠΜ) + 0,342 Χ ΔΠυπερλαγονίου

Όπου %ΚΛ: ποσοστό κοιλιακού λίπους, ΠΜ: περιφέρεια μέσης (cm), ΔΠυπερλαγονίου: δερματική πτυχή υπερλαγονίου (mm)

Η εξίσωση που δημιουργήθηκε εξήγησε το 68,9 της διακύμανσης (r^2=0,689, p<0,001). Η ανάλυση Bland – Altman στην υποομάδα αξιολόγησης έδειξε μη στατιστικά σημαντικό σφάλμα 0,25%ΚΛ με ±7,5% διάστημα εμπιστοσύνης. Επιπρόσθετα, φάνηκε να είναι ακριβές σε όλα τα εύρη του δείκτη μάζας σώματος (Πίνακας 3.16). Επίσης, φάνηκε να αποδίδει με παρόμοια αξιοπιστία με το %ΚΛ με την συσκευή ανάλυσης σπλαχνικού λίπους με βιοηλεκτρική αγωγιμότητα του εμπορίου ViScan (Tanita). Η συσκευή αυτή φάνηκε να υπερεκτιμά την περιφέρεια μέσης κατά 7,04cm με ±13,5cm διάστημα εμπιστοσύνης (Πίνακας 3.16).

Πίνακας 3.15 Ανθρωπομετρικά και Περιγραφικά χαρακτηριστικά του υποπληθυσμού ελέγχου του δείγματος της μελέτης (N=91).

Χαρακτηριστικά	**Ομάδα δημιουργίας εξίσωσης (n=60)**		**Ομάδα αξιολόγησης (n=31)**		*P value*
	Μέση Τιμή	Τυπική Απόκλιση	Μέση Τιμή	Τυπική Απόκλιση	
Ηλικία (έτη)	61,9	(6,59)	60,5	(6,46)	0.328
Δείκτης Μάζας σώματος (kg/m^2)	30,1	(4,44)	30,1	(4,74)	0.977
Μόρφωση (Έτη εκπαίδευσης)	10,9	(3,71)	9,5	(4,05)	0.101
Βήματα/ ημέρα	7008	(3041)	7715,30	(4118)	0.421
Περιφέρειας μέσης (cm)	95,8	(11,51)	97,0	(12,56)	0.649
Περιφέρεια μέσης εκτιμώμενο μέσω Viscan (cm)	111,7	(11,29)	109,2	(11,14)	0.369
% Λίπος Κορμού (DXA)	44,1	(5,114)	44,7	(5,318)	0.610
% Κοιλιακό Λίπος (DXA)	46,1	(5,532)	46,6	(5,286)	0.709
% Κοιλιακό Λίπος εκτιμώμενο μέσω Viscan	46,1	(6,454)	46,2	(5,674)	0.913
Προσθοπίσθια κοιλιακή διάμετρος (Holtain) (cm)	21,7	(3,20)	21,7	(2,99)	0.929
Προσθοπίσθια κοιλιακή διάμετρος (Lafayette) (cm)	24,4	(3,75)	24,8	(3,93)	0.599
Υπερλαγόνια Δερματική Πτυχή (mm)	25,8	(7,36)	26,7	(7,87)	0.578

Πίνακας 3.16 Εγκυρότητα των εξισώσεων που αναπτύχθηκαν και των εκτιμήσεων του ViScan σε σχέση με μετρήσεις διπλής ενέργειας ακτίνων Χ απορροφησιομετρίας και της περιφέρειας μέσης.

	Σφάλμα	Τυπική Απόκλιση	Διάστημα εμπιστοσύνης	Στατιστική σημαντικότητα σφάλματος	ICC
Περιφέρεια μέσης εκτιμώμενο μέσω Viscan (cm) (n=91)	7.039	(6.739)	13.48	0.001	0.889
% Κοιλιακό λίπος εκτιμώμενο μέσω Viscan (n=91)	-0.127	(3.790)	7.580	0.768	0.882
% Κοιλιακό λίπος εκτιμώμενο μέσω Viscan για φυσιολογικού βάρους/ υπέρβαρα άτομα (n=53)	-1.045	(3.306)	6.612	0.037	0.897
% Κοιλιακό λίπος εκτιμώμενο μέσω Viscan για παχύσαρκα άτομα (n=37)	1.194	(4.096)	8.192	0.109	0.432
% Κοιλιακό λίπος εκτιμώμενο μέσω των ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών (n=31)	0.247	(3.760)	7.520	0.726	0.868
% Κοιλιακό λίπος εκτιμώμενο μέσω των ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών για φυσιολογικού βάρους/ υπέρβαρα άτομα (n=17)	0.437	(3.125)	6.250	0.584	0.717
% Κοιλιακό λίπος εκτιμώμενο μέσω των ανθρωπομετρικών χαρακτηριστικών για παχύσαρκα άτομα(n=14)	1.089	(4.409)	8.818	0.391	0.538

ICC = Intraclass Correlation Coefficient

4. Συζήτηση

4.1 Συζήτηση αναφορικά με τα αποτελέσματα στο τέλος της παρέμβασης (12 μήνες) και δύο έτη μετά

Η παρούσα μελέτη έδειξε ότι μια παρέμβαση 12 μηνών που συνδύαζε συμβουλευτική διατροφής και τρόπου ζωής μαζί με παράλληλη κατανάλωση εμπλουτισμένων γαλακτοκομικών προϊόντων κατάφερε να επιφέρει συγκεκριμένες ωφέλιμες μεταβολές στον τρόπο ζωής των εθελοντριών (βελτίωση διατροφικών συνηθειών και αύξηση φυσικής δραστηριότητας) και βελτίωση σε δείκτες οστικού μεταβολισμού και αύξησης της οστικής πυκνότητας τους. Παράλληλα, οι εθελόντριες που εξετάστηκαν 2 έτη, μετά το τέλος της παρέμβασης, βρέθηκαν να έχουν στατιστικά σημαντικά υψηλότερο σκορ HEI – 2005 από το αρχικό τους και από την ΟΕ. Ενώ βρέθηκαν να έχουν υψηλότερη οστική μάζα στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης από την ΟΕ.

4.1.1 Σχολιασμός των ευρημάτων της μελέτης

Πιο αναλυτικά, όπως φάνηκε στον Πίνακα 3.2 και ήταν αναμενόμενο, η διατροφική πρόσληψη ασβεστίου και βιταμίνης D αυξήθηκε σε όλες τις ομάδες παρέμβασης φτάνοντας τα 1100mg ασβεστίου και 10μg βιταμίνης D κατά τη διάρκεια της παρέμβασης. Προφανώς, αυτό συνέβη εξαιτίας της κατανάλωσης των εμπλουτισμένων γαλακτοκομικών προϊόντων που, οδήγησε επίσης, σε αυξημένη διαιτητική πρόσληψη μαγνησίου, το οποίο είναι και αυτό απαραίτητο για την οστεοποίηση (161). Επιπροσθέτως, η πρόσληψη βιταμίνης Κ αυξήθηκε στατιστικά σημαντικά στις ομάδες OADK1 και OADK2 οδηγώντας σε διπλάσια πρόσληψη συγκριτικά με τη συνιστώμενη πρόσληψη των 90μg/ημέρα (162) και κοντά σε συστάσεις που έχουν προταθεί από νεότερα ερευνητικά δεδομένα (163). Γενικότερα, υπήρξε στατιστικά σημαντική βελτίωση της ποιότητας διατροφής των εθελοντριών όπως αυτή αποτυπώθηκε από τη συνολική βαθμολογία του δείκτη HEI – 2005, αλλά και από τις επιμέρους βελτιώσεις στα συστατικά του (Πίνακας 3.11). Πιο συγκεκριμένα, φάνηκε βελτίωση στην συνολική κατανάλωση φρούτων αλλά και ολόκληρων φρούτων, στη συνολική κατανάλωση λαχανικών, στην κατανάλωση δημητριακών ολικής άλεσης και στην πρόσληψη γαλακτοκομικών (Πίνακας 3.11). Παρόμοιες βελτιώσεις έχουν φανεί και σε άλλες μελέτες σε Ελληνίδες μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (164). Πολύ ενδιαφέρον εύρημα ωστόσο είναι η επιστροφή των γυναικών αυτών στις προ – παρέμβασης

διαιτητικές συνήθειες τουλάχιστον στα περισσότερα συστατικά αξιολόγησης του δείκτη. Ωστόσο, συνέχιζαν να έχουν στατιστικά σημαντικά υψηλότερη βαθμολογία στα συστατικά του δείκτη συνολικά και ολόκληρα φρούτα, γαλακτοκομικά και νάτριο (Πίνακας 3.11). Επιπροσθέτως, ακόμα και δύο έτη μετά το τέλος των συνεδριών συμβουλευτικής διατροφής και τρόπου ζωής είχαν υψηλότερη συνολική βαθμολογία στο δείκτη από την ομάδα ελέγχου και από τις αρχικές τους τιμές.

Αναφορικά με τη φυσική δραστηριότητα, παρατηρήθηκε αύξηση στις τρεις ομάδες παρέμβασης (OAD, OADK1, OADK2) πάνω από 2000 βήματα/ημέρα έναντι της ομάδας ελέγχου σε αντίθεση με άλλες μελέτες, σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, που έχουν αντιμετωπίσει δυσκολίες στην κινητοποίηση των εθελοντών τους σε αυτό τον τομέα (49, 120, 136). Η έλλειψη αντικειμενικών μεθόδων αξιολόγησης φυσικής δραστηριότητας θα μπορούσε να αποτελεί εξήγηση της μη εύρεσης στατιστικά σημαντικών αποτελεσμάτων στις μελέτες αυτές. Αντίθετα, η χορήγηση πεδόμετρων στις εθελόντριες της παρέμβασης καθ’ όλη τη διάρκεια της μελέτης φαίνεται ότι βοήθησε στην επίτευξη στόχων μέσα από τη συνεχή ενίσχυση, επιβράβευση και ανάπτυξη δεξιοτήτων αυτοπαρακολούθησης και αυτο-αποτελεσματικότητας. Ωστόσο κατά την αξιολόγηση, δύο έτη μετά το τέλος της παρέμβασης οι εθελόντριες είχαν επιστρέψει στις αρχικές συνήθειες άσκησης. Η παρατήρηση αυτή έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον καθώς οι εθελόντριες, κατά τη διάρκεια της 12μηνης παρέμβασης, από την αρχή έως τους πρώτους 6 μήνες, αύξησαν την φυσική τους δραστηριότητα και την διατήρησαν υψηλή έως το τέλος της παρέμβασης. Αυτό σημαίνει ότι με συνεχή κινητοποίηση μπορεί να διατηρηθεί ενεργό το ενδιαφέρον τους. Η επιστροφή στις αρχικές συνήθειες μετά το τέλος της παρέμβασης, συμφωνεί με την βιβλιογραφία, όπως έχει αναθεωρηθεί (165).

Συνολικά, οι ωφέλιμες μεταβολές στην πρόσληψη θρεπτικών συστατικών όπως καταγράφηκαν από τις ανακλήσεις 24ώρου, ποιότητας διατροφής, όπως καταγράφηκε από τον HEI–2005 και φυσικής δραστηριότητας, όπως καταγράφηκε από τα πεδόμετρα στους 12 μήνες είναι, πιθανόν, ενδεικτικά της αποτελεσματικότητας της παρέμβασης διατροφικής συμβουλευτικής και συμβουλευτικής τρόπου ζωής που εφαρμόστηκε και ήταν βασισμένες στο Μοντέλο Πεποίθησης για την Υγεία και την Κοινωνική Γνωσιακή Θεωρία. Η διατήρηση υψηλότερης συνολικής βαθμολογίας 24 μήνες μετά το τέλος της παρέμβασης σε σχέση με την ομάδα ελέγχου αλλά και τις αρχικές τιμές υποδεικνύει την αποτελεσματικότητα του προγράμματος διατροφικής συμβουλευτικής. Ωστόσο η σαφής πτώση της βαθμολογίας από το

τέλος της παρέμβασης και η επιστροφή στην πρόσληψη μικρόθρεπτικών συστατικών στις αρχικές τιμές υποδεικνύει την ανάγκη για συνεχή κινητοποίηση σε αυτή την ευαίσθητη ηλικιακή ομάδα.

Η επίδραση της παρέμβασης στον οστικό μεταβολισμό και την οστική πυκνότητα θα μπορούσε να αποδοθεί στο σύνολο των μεταβολών που επιτεύχθηκαν τόσο σε επίπεδο διατροφής, αλλά και άσκησης. Αναφορικά με της ορμόνες που επιδρούν στην ομοιοστασία του ασβεστίου, η καλσιδιόλη ορού αυξήθηκε στατιστικά σημαντικά σε όλες τις ομάδες παρέμβασης κάτι που οδήγησε σε στατιστικά σημαντικά υψηλότερες τιμές στους 12 μήνες έναντι της ομάδας ελέγχου (Πίνακας 3.4). Παρά το ότι η μεγαλύτερη πηγή ενδογενούς σύνθεσης 25(OH)D_3 είναι η μετατροπή της 7-δευδροχοληκαλσιφερόλης σε προβιταμίνη D_3 στο δέρμα, έπειτα από έκθεση σε UVB ακτινοβολία, όταν αυτή μετρήθηκε σε παρόμοια παρέμβαση σε Ελληνίδες της Αττικής δεν έδειξε σημαντικό αποτέλεσμα της έκθεσης στον ήλιο στα επίπεδα βιταμίνης D στον ορό τους (136). Αυτό συνέβη πιθανότατα, λόγω της χαμηλής έκθεσής τους στο ηλιακό φως στα πλαίσια του αστικού περιβάλλοντος. Αυτά τα δεδομένα δείχνουν ότι η συμπληρωματική χορήγηση 25(OH)D3 διαμέσου εμπλουτισμένων γαλακτοκομικών προϊόντων ήταν αποτελεσματική στην αύξηση των επιπέδων καλσιδιόλης ορού, συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου που συνέχιζε με την τυπική της διατροφή. Η υπόθεση αυτή επιβεβαιώνεται από το ότι δύο έτη μετά τη διακοπή της συμπληρωματικής χορήγησης δε υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά στις ομάδες παρέμβασης έναντι της ομάδας ελέγχου (Πίνακας 3.12).

Ένα πολύ ενδιαφέρον εύρημα της συγκεκριμένης μελέτης είναι σχετικά με τον IGF-I, καθώς τα επίπεδά του βρέθηκαν να αυξάνονται στατιστικά σημαντικά στην ομάδα OADK2, έναντι της ομάδας ελέγχου. Η αιτία για αυτό παραμένει άγνωστη, καθώς δεν έχει περιγραφεί έως τώρα κάποια σχέση μεταξύ της μενακινόνης-7 και της σωματομεδίνης 1. Ωστόσο, αυτός ο αναβολικός παράγοντας έχει φανεί από μελέτες να διεγείρει τον οστικό αναβολισμό σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, κυρίως δια μέσου της οστεοβλαστικής διαφοροποίησης (166).

Η παρούσα μελέτη, από όσο μπορούμε να γνωρίζουμε, είναι η πρώτη που μελέτησε το αποτέλεσμα μια διατροφικής παρέμβασης σε παράγοντες οστεοκλαστικής δραστηριότητας όπως RANKL και OPG. Η ανακάλυψη του μοναδικού ρόλου των RANK/RANKL/OPG έχει οδηγήσει στην στοχοποίηση αυτού του μηχανισμού ως πιθανή νέα θεραπευτική προσέγγιση στην διαχείριση της οστεοπόρωσης (167, 168). Παρά το ότι πολύ λίγα είναι γνωστά έως τώρα για το αποτέλεσμα που μπορεί να έχουν διαιτητικές παρεμβάσεις σε δείκτες οστικής υγείας, έχουν υπάρξει μελέτες που έχουν δείξει ότι 24 μήνες χορήγησης γενισταΐνης (genistein) σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες

έχουν οδηγήσει σε χαμηλότερες τιμές RANKL και υψηλότερες τιμές OPG (169). Παράλληλα, αρκετές πολυφαινόλες έχουν προταθεί να διαδραματίζουν κάποιο ρόλο στην διαφοροποίηση των οστεοβλάστων μέσω παραγόντων μεταγραφής (Runx2, Osterix, NF-κB και AP-1), ενώ πιθανά να εμπλέκονται και στον οστεοκλαστικό μεταβολισμό (170). Ειδικότερα, για την μενακινόνη – 7 έχει φανεί in-vitro ότι μπορεί να προάγει τον οστικό σχηματισμό και να καταστείλει την οστική απορρόφηση με το να ανταγωνίζεται τη ενεργοποίηση του NF-κB και κατά συνέπεια την μικρότερη παραγωγή RANKL (171). Ενώ, οι Katsuyama και συν. έχουν δείξει in-vitro ότι μπορεί να ρυθμίσει απευθείας την έκφραση του RANKL σε οστεοβλαστικά κύτταρα (172), ωστόσο, δεν υπάρχουν πολλά δεδομένα in- vivo.

Στην παρούσα μελέτη δεν φάνηκαν να υπάρχουν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των ομάδων αναφορικά με αυτούς τους δύο βιοχημικούς δείκτες.

Αναφορικά με δείκτες οστικού σχηματισμού, παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική μεταβολή στις ομάδες παρέμβασης στο ποσοστό υποκαρβοξυλιωμένης οστεοκαλσίνης (Πίνακας 3.5). Αναλυτικότερα, η στατιστικά σημαντική αύξηση στην ομάδα ελέγχου και η μείωση στις δύο ομάδες παρέμβασης που λάμβαναν βιταμίνη Κ οδήγησε σε στατιστικά σημαντική διαφορά στο τέλος της παρέμβασης έναντι της ομάδας ελέγχου. Η βιταμίνη Κ είναι απαραίτητη για την καρβοξυλίωση της οστεοκαλσίνης, μια πολύ σημαντική διεργασία για την επιμετάλλωση του οστού (18) αφού η καρβοξυλιομένη μορφή της έχει πολύ μεγαλύτερη ικανότητα μεταφοράς ιόντων ασβεστίου. Η οστεοκαλσίνη έχει, επίσης, προταθεί ότι συνεισφέρει στον σχηματισμό τον κρυστάλλων υδροξυαπατίτη στα οστά (18). Υψηλά επίπεδα υποκαρβοξυλιομένης οστεοκαλσίνης έχουν συσχετιστεί με αυξημένο καταγματικό κίνδυνο στη σπονδυλική στήλη και μάλιστα ανεξάρτητα της οστικής πυκνότητας (173, 174). Τα ευρήματα της παρούσας μελέτης συμφωνούν με άλλες που έχουν, επίσης, δείξει ελάττωση της υποκαρβοξυλιομένης οστεοκαλσίνης σε αντίστοιχο ποσοστό μετά από χορήγηση Βιταμίνης Κ ή αυξημένη διαιτητική πρόσληψη (175-180).

Επιπρόσθετα, στην παρούσα μελέτη φάνηκε ότι η διατροφική πρόσληψη φυλλοκινόνης ή μενακινόνης-7 από τις εθελόντριες στις δύο ομάδες που έπαιρναν βιταμίνη Κ είχε ως αποτέλεσμα την στατιστικά σημαντική μείωση των επιπέδων δεοξυπυριδινολίνης στα ούρα, κάτι που έδωσε στατιστικά μικρότερες τιμές στους 12 μήνες για αυτές τις δύο ομάδες έναντι της ομάδας ελέγχου και της ομάδας παρέμβασης που δεν έπαιρνε βιταμίνη Κ (OAD). Αυτό το εύρημα σε συνδυασμό με τις χαμηλότερες τιμές πυριδινολίνης ούρων που βρέθηκαν για την ομάδα της μενακινόνης – 7 (OADK2) συμφωνούν με in – vitro ευρήματα (181, 182), κλινικές δοκιμές και επιδημιολογικά

δεδομένα (111, 119, 177, 180, 183) που δείχνουν ότι η βιταμίνη Κ και ειδικότερα η μενακινόνη – 7 είναι ικανή να ελαττώσει την οστική απορρόφηση ακόμα και σε παρόμοιες δοσολογίες με αυτής της μελέτης.

Συνοψίζοντας τα παραπάνω, μαζί με τα ευρήματα της παρούσας μελέτης, θα μπορούσαμε να πούμε ότι αυξημένη διαιτητική πρόσληψη φυλλοκινόνης ή μενακινόνης – 7 διαμέσου γαλακτοκομικών προϊόντων, επίσης, εμπλουτισμένων με ασβέστιο και βιταμίνη D μπορεί να οδηγήσει σε ελάττωση του ρυθμού οστικού καταβολισμού που έχει συσχετιστεί με χαμηλότερο καταγματικό κίνδυνο (184-186).

Οι παραπάνω μεταβολές σε επίπεδο διατροφικής πρόσληψης και φυσικής δραστηριότητας επέφεραν μια σειρά από μεταβολές στους βιοχημικούς δείκτες που αναφέρθηκαν και στην οστική πυκνότητα, όπως μετρήθηκε με απορροφησιομετρία διπλής ενέργειας σε διάφορα σκελετικά σημεία. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτών των μετρήσεων, φάνηκε να έχουν πιο ωφέλιμα αποτελέσματα σε επίπεδο ολικής οστικής πυκνότητας, οι τρεις ομάδες παρέμβασης έναντι της ομάδας ελέγχου κατά την διάρκεια της παρέμβασης (Πίνακας 3.6). Παρόμοια άλλες κλινικές δοκιμές έχουν δείξει ότι μπορεί να ελαττωθεί η οστική απώλεια με χορήγηση περίπου 1200mg ασβεστίου ανά ημέρα για δύο έως τέσσερα χρόνια σε επίπεδο ολικού σώματος, σπονδυλικής στήλης και αυχένα μηριαίου οστού σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (135, 187), φαινόμενο που ενισχύεται όταν υπάρχει ταυτόχρονη χορήγηση βιταμίνης D και είναι εμφανές ακόμα και σε χρονικό διάστημα 12 μηνών (119, 136, 188).

Ωστόσο, πολύ λίγα ερευνητικά δεδομένα είναι διαθέσιμα στη βιβλιογραφία σχετικά με το ακριβές αποτέλεσμα της συμπληρωματικής χορήγησης βιταμίνης Κ σε τέτοια δοσολογία σε ανθρώπους (110, 119, 160, 175, 189, 190) καθώς οι περισσότερες μελέτες έχουν γίνει με χορήγηση μεγαδόσεων της λιγότερο βιοδιαθέσμης μενακινόνης – 4, ενώ αντίστοιχα δεν υπάρχουν καθόλου ερευνητικά δεδομένα για συνδυασμένη χορήγηση ασβεστίου, βιταμίνης D και βιταμίνης Κ διαμέσου εμπλουτισμένων γαλακτοκομικών προϊόντων. Σύμφωνα με τα ευρήματα της παρούσας μελέτης, η συνδυαστική χορήγηση φυλλοκινόνης ή μενακινόνης – 7 με ασβέστιο και βιταμίνη D διαμέσου γαλακτοκομικών προϊόντων οδήγησε σε αύξηση της οστικής μάζας στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης και πιο συγκεκριμένα στο διάστημα μεταξύ 2^{ου} και 4^{ου} οσφυϊκού σπόνδυλου που οδήγησε σε στατιστικά σημαντική μεταβολή στους δώδεκα μήνες μεταξύ των ομάδων που λάμβαναν κάποια μορφή βιταμίνης Κ και της ομάδας ελέγχου. Αυτό το εύρημα θα μπορούσε να υποστηρίξει την υπόθεση ότι μπορεί να υπάρχει ένα επιπρόσθετο

όφελος από την δράση της βιταμίνης Κ σε αυτό το ανατομικό σημείο. Η πιο πιθανή εξήγηση είναι ότι στη συγκεκριμένη περιοχή υπάρχει σπογγώδες οστό που είναι πιο δραστήριο μεταβολικά έναντι του συμπαγούς οστού που υπάρχει στο ισχίο (190), κατά συνέπεια στο χρονικό διάστημα του ενός έτους θα ήταν πιο δύσκολο να βρεθεί στατιστική σημαντικότητα σε σπογγώδες οστό. Για την υπόθεση της ωφέλιμης επίδρασης της βιταμίνης Κ στην οστική πυκνότητα της σπονδυλικής στήλης αποτελεί υποστήριξη ότι οι ομάδες που λάμβαναν φυλλοκινόνη και μενακινόνη – 7 συνέχισαν να έχουν υψηλότερη οστική μάζα έναντι της ομάδας ελέγχου δύο έτη μετά το τέλος της παρέμβασης. Τα ευρήματα αυτά, αναφορικά με την ωφέλιμη δράση της βιταμίνης Κ στην οστική πυκνότητα, κυρίως της σπονδυλικής στήλης, επιβεβαιώνονται από μια πρόσφατη μελέτη που έδειξε ότι με χορήγηση 180μg μενακινόνης – 7 για δύο χρόνια υπήρξε αύξηση της οστικής μάζας στη σπονδυλική στήλη, όχι όμως στο ισχίο (111). Παρόμοια αποτελέσματα έχουν αναφερθεί από μια άλλη διπλά τυφλή μελέτη κατά την οποία χορηγήθηκε φυλλοκινόνη και βιταμίνη D (190) και οριακά στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα από μια μελέτη που χορηγήθηκαν και τα τρία θρεπτικά συστατικά (μενακινόνη – 4 (MK-4) ως βιταμίνη Κ) σε διάρκεια έξι μηνών (191).Η διάρκεια της μελέτης αυτής ήταν μεγαλύτερη, καθώς και η χορηγούμενη δόση, δεν υπήρχε όμως, παράλληλη χορήγηση βιταμίνης D και ασβεστίου ούτε αλλαγή σε συνήθειες διατροφής και άσκησης. Τέλος, δύο έτη μετά τη λήξη της παρέμβασης η διακοπή της χορήγησης του εμπλουτισμένου γαλακτοκομικού προϊόντος και η επιστροφή στις πρότερες συνήθειες διατροφής και άσκησης οδήγησαν σε μείωση της οστικής πυκνότητας σε όλα τα ανατομικά σημεία σε σχέση με τις τιμές των 12 μηνών (Πίνακας 3.12, Διάγραμμα 3.1).

Οι ωφέλιμες μεταβολές που παρατηρήθηκαν σε επίπεδο οστικής πυκνότητας από την απορροφησιομετρία διπλής ενέργειας δεν μπόρεσαν να επιβεβαιωθούν και από την οστική υπερηχομετρία. Παρόμοια, προηγούμενη μελέτη σε μετεμμηνοπαυσιακές Ελληνίδες με χορήγηση γαλακτοκομικών εμπλουτισμένων με ασβέστιο και βιταμίνη D δεν έδωσε στατιστικά σημαντικές μεταβολές σε δείκτες οστικής υπερηχομετρίας (192). Πιθανότατα αυτό συμβαίνει επειδή η μέθοδος αυτή είναι λιγότερο ευαίσθητη από την απορροφησιομετρία διπλής ενέργειας και χρειάζεται περισσότερος χρόνος παρέμβασης για να υπάρχουν στατιστικά σημαντικές μεταβολές σε δείκτες υπερηχομετρίας (193). Κάποιοι ερευνητές υποστηρίζουν ότι παρόλο που η οστική υπερηχομετρία έχει την δυνατότητα να παρακολουθεί μεταβολές στην οστική πυκνότητα χρειάζεται 1½ έως 3 φορές περισσότερος χρόνος από ότι η απορροφησιομετρία διπλής ενέργειας (194).

4.1.2 Προτάσεις για το μέλλον – Περιορισμοί της μελέτης

Η παρούσα μελέτη, αν και έδειξε κάποια ωφέλιμη δράση της φυλλοκινόνης και της μενακινόνης – 7 στον οστικό μεταβολισμό, δεν κατάφερε να προσδιορίσει αν κάποια από τις δύο αυτές μορφές είναι πιο δραστική, καθώς δεν φάνηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δυο αυτών μορφών, με εξαίρεση την αύξηση των επιπέδων IGF – I στον ορό για την ομάδα της μενακινόνης – 7. Εδώ αξίζει να σημειωθεί ότι, αν εξετάσουμε την δοσολογία βιταμίνης Κ στις δύο ομάδες σε επίπεδο μοριακότητας, παρατηρούμε ότι, λόγω του διαφορετικού μοριακού βάρους, δόθηκε περίπου 30% λιγότερη μενακινόνη - 7 από ότι φυλλοκινόνη (0,154μmol έναντι 0,221μmol αντίστοιχα). Αυτό συνέβη, διότι η δοσολογία στην συγκεκριμένη μελέτη αποφασίστηκε με «διαιτητικά» κριτήρια, αναφορικά με την υπάρχουσα συνιστώμενη πρόσληψη, η οποία είναι σε μg/μέρα. Από την άλλη μεριά έχει φανεί σε περιορισμένα ερευνητικά δεδομένα ότι η μενακινόνη – 7 είναι πιο δραστική από την φυλλοκινόνη στο να καρβοξυλιώνει την οστεοκαλσίνη (195). Επιπρόσθετα, έχει φανεί ότι η μενακινόνη – 7 έχει πολύ μεγαλύτερο χρόνο ημιζωής, κάτι που οδηγεί σε 7-8 φορές μεγαλύτερες συγκεντρώσεις στον ορό έπειτα από μακράς διάρκειας χορήγηση (πάνω από 2 εβδομάδες) (195).

Ο χρόνος παρέμβασης των 12 μηνών θεωρείται οριακός για να μελετηθούν μεταβολές στην οστική πυκνότητα. Ενδεχομένως, αν η παρέμβαση αυτή είχε μεγαλύτερη διάρκεια, να μπορούσε να δώσει στατιστικά σημαντικές μεταβολές σε περισσότερους δείκτες οστικής πυκνότητας, άρα και περισσότερα στοιχεία για την δράση της συμπληρωματικής χορήγησης φυλλοκινόνης και μενακινόνης σε βάθος χρόνου, ενώ θα μπορούσαν να εξαχθούν περισσότερα συμπεράσματα για πιθανή διαφορετική δράση.

Αναφορικά με την αξιολόγηση των εθελοντριών δύο έτη μετά το τέλος της παρέμβασης, ένα μειονέκτημα είναι η μεγάλη απώλεια δείγματος, ειδικά της ομάδας ελέγχου. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα την ελάττωση της στατιστικής ισχύος. Αντίθετα, οι εθελόντριες που συμμετείχαν στην παρέμβαση είχαν πολύ μεγαλύτερη ανταπόκριση εξαιτίας των καλών σχέσεων που είχαν δημιουργηθεί με τους ερευνητές. Η υιοθέτηση των προτεινόμενων διατροφικών συνηθειών επέδειξε την δυνατότητα αλλαγής που έχουν οι γυναίκες, αυτής της ευαίσθητης ηλικιακής κατηγορίας, ενώ η επιστροφή τους στις προηγούμενες διατροφικές τους συνήθειες δείχνει την ανάγκη για συνεχή παρακολούθηση και κινητοποίηση. Θα μπορούσαν στο μέλλον να σχεδιαστούν προγράμματα διατροφικής συμβουλευτικής που να ενισχύουν ακόμα περισσότερο την αυτοπαρακολούθηση και αυτοαποτελεσματικότητα με στόχο την μακρόχρονη υιοθέτηση ενός καλύτερου τρόπου ζωής που θα προάγει την υγεία των γυναικών αυτής της ηλικίας.

4.3 Συζήτηση αναφορικά με τις εξισώσεις υπολογισμού σύστασης σώματος

Από τις μετρήσεις απορροφησιομετρίας διπλής ενέργειας και τη λήψη ανθρωπομετρικών δεδομένων έγινε αξιολόγηση απλών εξισώσεων εκτίμησης σύστασης σώματος που ανακτήθηκαν από την βιβλιογραφία και δημιουργία δύο εξισώσεων υπολογισμού σύστασης σώματος από ανθρωπομετρικά δεδομένα για ολικό σωματικό λίπος και ποσοστό κοιλιακού σωματικού λίπους αντίστοιχα.

4.3.1 Αξιολόγηση απλών εξισώσεων υπολογισμού σύστασης σώματος.

Το πιο ενδιαφέρον εύρημα από τη συγκεκριμένη ανάλυση είναι ότι οι εξισώσεις 1, 2 και 5 που βασίζονται στο δείκτη μάζα σώματος φαίνεται να αποδίδουν καλύτερα από τις εξισώσεις που περιέχουν δερματικές πτυχές ή περιφέρεια μέσης. Αυτό επιβεβαιώνεται από τον Πίνακα 3.1 που δείχνει ότι έχουν μικρότερο σφάλμα και μικρότερο διάστημα εμπιστοσύνης. Κάτι τέτοιο θα μπορούσε να ερμηνευτεί από το ότι οι δερματικές πτυχές είναι δύσκολο να ληφθούν, ειδικότερα σε ηλικιωμένα άτομα, λόγω αρκετών παραγόντων λάθους, ενώ αντίθετα το ύψος και το βάρος είναι πολύ λιγότερο πιθανό να μετρηθούν λάθος (196). Ακόμα, πολύ λίγες γυναίκες σε αυτή την ηλικία έχουν πολύ έντονη φυσική δραστηριότητα άρα δεν είναι πιθανό να έχουν και μεγάλη ποσότητα μυικής μάζας, που αποτελεί τον μεγαλύτερο παράγοντα σφάλματος για το δείκτη μάζας σώματος. Συνολικά η δεύτερη εξίσωση του Visser και συν., με το δείκτη μάζας σώματος, βρέθηκε στην παρούσα ανάλυση να είναι πιο έγκυρη στην εκτίμηση του ποσοστού λιπώδους μάζας σώματος, από την ICC και από την Bland – Altman ανάλυση, και να αποδίδει πολύ καλά δεδομένης της απλότητάς του. Το σφάλμα και το διάστημα εμπιστοσύνης είναι συγκρίσιμα με άλλα πιο σύνθετα μοντέλα από τη βιβλιογραφία (197). Επιπρόσθετα πρέπει να σημειωθεί ότι η εξίσωση του Brozek και συν. βρέθηκε να δίνει πιο αξιόπιστα αποτελέσματα από αυτή του Siri.

4.3.2 Αξιολόγηση ανθρωπομετρικής εξίσωσης υπολογισμού λιπώδους μάζας σώματος

Σε αυτή την ανάλυση δημιουργήθηκε μια εξίσωση εκτίμησης λιπώδους μάζας σώματος κατάλληλη για όλο το εύρος δείκτη μάζα σώματος χρησιμοποιώντας απλά ανθρωπομετρικά δεδομένα σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και συμπληρώνοντας το κενό από προηγούμενες εξισώσεις στο ίδιο πληθυσμό (198). Η εξίσωση αυτή βρέθηκε να είναι αποδεκτής εγκυρότητας και με μικρό σφάλμα. Εξηγούσε το 93,4% της διακύμανσης που θεωρείται πολύ υψηλό. Αυτό συνέβη πιθανότατα γιατί τα απλά ανθρωπομετρικά δεδομένα που απαρτίζουν την εξίσωση (δερματική πτυχή δικεφάλου, ύψος, βάρος και περιφέρεια ισχίων) είναι λιγότερο πιθανό να μετρηθούν λάθος από τον εξεταστή (196). Έπειτα η εξίσωση δημιουργήθηκε σε μεγάλο και ομοιογενές δείγμα αναφορικά με την ηλικία και το φύλο σε σχέση με τις άλλες εξισώσεις που δοκιμάστηκαν. Πιο συγκεκριμένα η εξίσωση των Noppa και συν. παρά του ότι σχεδιάστηκε σε μεγάλο αριθμό δείγματος με μικρό ηλικιακό εύρος και ίδιου φύλου, βρέθηκε να υποεκτιμά τη λιπώδη μάζα σώματος πιθανά επειδή αφορά βόρειο-ευρωπαίες με περισσότερο κοιλιακό λίπος, για αυτό περιέχει και την περιφέρεια μέσης ως ανεξάρτητη μεταβλητή, κάτι που δεν αφορά της μεσόγειες γυναίκες που εναποθέτουν περισσότερο λιπώδη ιστό στην περιφέρεια ισχίων. Η εξίσωση που δημιουργήθηκε βρέθηκε να είναι πιο έγκυρη σε σχέση με αυτές που βρέθηκαν στην βιβλιογραφία, δεν είχε στατιστικά σημαντικό σφάλμα, ενώ είχε αποδεκτό διάστημα εμπιστοσύνης, όπως επίσης βρέθηκε να έχει τον υψηλότερο ICC (Πίνακας 3.13). Η παρούσα εξίσωση βρέθηκε να είναι έγκυρη και αξιόπιστη ενώ δεν απαιτεί την έκθεση του σώματος των εξεταζομένων άρα δεν τους προκαλεί δυσφορία, κάτι που την κάνει κατάλληλη για χρήση στην καθημερινή κλινική πρακτική, αλλά και στην έρευνα, ειδικότερα, όταν η εκτίμηση του σωματικού λίπους είναι δευτερεύουσας σημασίας και δεν απαιτείται να γίνει με κάποια πρότυπη μέθοδο. Ωστόσο, θα ήταν χρήσιμο να επαληθευτεί η εγκυρότητά της σε μεγαλύτερους πληθυσμούς, όπως επίσης, να διερευνηθεί η ικανότητά της να εκτιμά μεταβολές στη σύσταση σώματος μετά από παρεμβάσεις.

4.3.3 Αξιολόγηση ανθρωπομετρικής εξίσωσης υπολογισμού κοιλιακού λίπους

Η εξίσωση που δημιουργήθηκε σε αυτή τη μελέτη είναι χαμηλού κόστους, απλή και μεταφέρεται εύκολα ενώ εκτιμά το ποσοστό κοιλιακού λίπους στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες χωρίς στατιστικά σημαντικό σφάλμα και εντός αποδεκτού διαστήματος εμπιστοσύνης (±7,5%). Τα παραπάνω, την καθιστούν μια εύκολα εφαρμόσιμη εναλλακτική μέθοδο που μπορεί εύκολα να εφαρμοστεί στην καθημερινή κλινική πρακτική αλλά και στην έρευνα όταν κάποια πρότυπη μέθοδος δεν είναι εφικτή.

Αναφορικά με την εκτίμηση του εξοπλισμού ανάλυσης κοιλιακού λίπους βιοηλεκτρικής αγωγιμότητας (ViScan, Tanita) έχει προταθεί ότι έχει συγκεκριμένα πλεονεκτήματα στη μέτρηση της περιφέρειας μέσης, έναντι της μέτρησης με ανελαστική ταινία και ότι είναι αρκετά ακριβές στο γενικό πληθυσμό (199). Ωστόσο στην παρούσα ανάλυση, στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες φάνηκε να υπερεκτιμά στατιστικά σημαντικά την περιφέρεια μέσης έναντι της μέτρησης με ανελαστική ταινία κατά 7,04cm με πολύ μεγάλο διάστημα εμπιστοσύνης (±13,5cm), ευρήματα που έχουν επιβεβαιωθεί και από άλλες μελέτες (200). Σύμφωνα με τα παραπάνω, μπορεί να θεωρηθεί, ότι ο συγκεκριμένος εξοπλισμός δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση της περιφέρειας μέσης σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Παρ' όλα αυτά, στην εκτίμηση του ποσοστού κοιλιακού λίπους βρέθηκε να έχει σχετικά αποδεκτό διάστημα εμπιστοσύνης (±7,6%) και μην έχει στατιστικά σημαντικό σφάλμα (Πίνακας 3.14). Πιθανώς, ο κατασκευαστής έχει φτιάξει ένα σταθερό μοντέλο εκτίμησης συνεκτιμώντας το σφάλμα της μέτρησης περιφέρειας μέσης. Ωστόσο, βρέθηκε να έχει πολύ χαμηλή απόδοση στις παχύσαρκες εθελόντριες (διάστημα εμπιστοσύνης ±8,2% και ICC 0,432). Η ικανότητα του εξοπλισμού να δίνει και ένα σκορ κοιλιακού λίπους δεν μπορούσε να αξιολογηθεί, καθώς η μέθοδος αναφοράς που χρησιμοποιήθηκε (απορροφησιομετρία διπλής ενέργειας), δε μπορεί να διαχωρίσει το λίπος σε υποδόριο και σπλαχνικό.

Η Bland – Altman ανάλυση έδειξε ότι και ο εν λόγο εξοπλισμός και η εξίσωση που δημιουργήθηκε μπορούν να εκτιμήσουν με σχετική εγκυρότητα και ακρίβεια το ποσοστό κοιλιακού λίπους χωρίς στατιστικά σημαντικό σφάλμα δίνοντας παρόμοια αξιοπιστία και εγκυρότητα.

Συμπερασματικά, η εξίσωση που δημιουργήθηκε φάνηκε να αποτελεί μία πολύ εύκολη, φορητή και οικονομική μέθοδος για την εκτίμηση του ποσοστού κοιλιακού λίπους στην

καθημερινή κλινική πρακτική και την έρευνα, όταν δεν είναι διαθέσιμη κάποια πρότυπη μέθοδος. Από αυτή την ανάλυση φάνηκε, ότι είναι εφικτό με απλά ανθρωπομετρικά εργαλεία να εκτιμηθεί το ποσοστό κοιλιακού λίπους, ενώ μελλοντικές μελέτες που να έχουν ως πρότυπη μέθοδο την αξονική ή την μαγνητική τομογραφία ίσως καταφέρουν, να διαχωρίσουν το ποσοστό αυτό σε υποδόριο και κοιλιακό. Τέτοιου είδους εκτιμήσεις, μπορεί να οδηγήσουν στο μέλλον στον ορισμό κατωφλικών τιμών για την εκτίμηση καρδιαγγειακού κινδύνου.

5. Συμπέρασμα

Η παρούσα μελέτη έδειξε ότι η δωδεκάμηνη διατροφικής συμβουλευτικής και συμβουλευτικής τρόπου ζωής που εφαρμόστηκε σε μετεμμηνοπαυσιακές με παράλληλη κατανάλωση εμπλουτισμένων γαλακτοκομικών προϊόντων κατάφερε να επιφέρει βελτίωση στην ποιότητα διατροφής των γυναικών αυτών, αύξηση στην κατανάλωση ασβεστίου, βιταμίνης D και βιταμίνης K και αύξηση στην φυσική τους δραστηριότητα. Τα παραπάνω είχαν ως αποτέλεσμα την βελτίωση βιοχημικών δεικτών οστικού μεταβολισμού και την αύξηση της οστικής μάζας σε επίπεδο ολικού σώματος για τις γυναίκες της παρέμβασης. Επιπρόσθετα οι εθελόντριες που λάμβαναν και βιταμίνη K (φυλλοκινόνη ή μενακινόνη – 7) φάνηκαν να έχουν επιπρόσθετο όφελος σε δείκτες οστικού σχηματισμού και οστικού καταβολισμού κάτι που επέφερε υψηλότερη οστική μάζα στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης (O2 – O4) έναντι της ομάδας ελέγχου. Το εύρημα αυτό, αναφορικά με την τοπική δράση των δύο αυτών μορφών βιταμίνης K πιθανά να οφείλεται στον ταχύτερο μεταβολισμό του σπογγώδους οστού. Ωστόσο δεν ήταν εφικτό να προσδιοριστεί διαφορετική δράση μεταξύ των δύο αυτών μορφών βιταμίνης K. Τα ωφέλιμα αυτά ευρήματα παρά τη σχετικά μικρή διάρκεια της παρούσας κλινικής δοκιμής (12 μήνες) θεωρείται ότι προέκυψαν εξαιτίας της ολιστικής παρέμβασης στους άξονες διατροφής, άσκησης και των μικρόθρεπτικών που χορηγήθηκαν διαμέσου των εμπλουτισμένων γαλακτοκομικών. Δύο χρόνια μετά την ολοκλήρωση της παρέμβασης οι εθελόντριες βρέθηκαν να έχουν υψηλότερο σκορ στο δείκτη ποιότητας διατροφής HEI – 2005 από ότι είχαν στις αρχικές μετρήσεις και συγκριτικά με την ομάδα ελέγχου. Ωστόσο παρουσίασαν πτώση της βαθμολογίας σε αυτό το δείκτη συγκριτικά με το τέλος της παρέμβασης ενώ επίσης επέστρεψαν στις αρχικές τους συνήθειες άσκησης. Η οστική μάζα βρέθηκε να έχει μειωθεί σε όλα τα ανατομικά σημεία που μετρήθηκαν. Ωστόσο βρέθηκε να έχει μειωθεί λιγότερο στις ομάδες που λάμβαναν φυλλοκινόνη ή μενακινόνη – 7 και κατά συνέπεια να είναι στατιστικά σημαντικά υψηλότερη στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης (O2 – O4) έναντι της ομάδας ελέγχου. Το εύρημα αυτό υποδηλώνει την ωφέλιμη δράση της βιταμίνης K στον οστικό μεταβολισμό. Είναι σαφές ότι για τον καλύτερο προσδιορισμό της ακριβούς δράσης της φυλλοκινόνης και μενακινόνης – 7 θα πρέπει να γίνουν περισσότερες κλινικές δοκιμές και για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.

Δημοσιεύσεις

1. Moschonis G, **Kanellakis S**, Papaioannou N, Schaafsma A, Manios Y.Possible site-specific effect of an intervention combining nutrition and lifestyle counselling with consumption of fortified dairy products on bone mass: the Postmenopausal Health Study II. *J Bone Miner Metab.* 2011 Jul;29(4):501-6. doi: 10.1007/s00774-010-0256-2. Epub 2011 Apr 1.
2. **Kanellakis S**, Moschonis G, Tenta R, Schaafsma A, van den Heuvel EG, Papaioannou N, Lyritis G, Manios Y. Changes in parameters of bone metabolism in postmenopausal women following a 12-month intervention period using dairy products enriched with calcium, vitamin D, and phylloquinone (vitamin K(1)) or menaquinone-7 (vitamin K (2)): the Postmenopausal Health Study II. *Calcif Tissue Int*. 2012 Apr;90(4):251-62. doi: 10.1007/s00223-012-9571-z. Epub 2012 Mar 4.
3. **Kanellakis S**, Kourlaba G, Moschonis G, Vandorou A, Manios Y. Development and validation of two equations estimating body composition for overweight and obese postmenopausal women. Maturitas. 2010 Jan;65(1):64-8. doi: 10.1016/j.maturitas.2009.10.012.
4. **Kanellakis S**, Manios Y. Validation of five simple models estimating body fat in white postmenopausal women: use in clinical practice and research. *Obesity (Silver Spring)*. 2012 Jun;20(6):1329-32. doi: 10.1038/oby.2011.403. Epub 2012 Feb 2.
5. Manios Y, **Kanellakis S**, Androutsos O, Maragkopoulou K, Giannopoulou A, Argyri E, Moschonis G. Development and validation of a simple model based on anthropometry: estimating fat mass for white postmenopausal women. *Menopause*. 2012 Apr;19(4):467-70. doi: 10.1097/gme.0b013e31823110db.
6. Manios Y, **Kanellakis S**, Moschonis G, Pipidis I, Skoufas E, Zafiropulos V. Estimation of abdominal fat mass: validity of abdominal bioelectrical impedance analysis and a new model based on anthropometry compared with dual-energy x-ray absorptiometry. *Menopause*. 2013 XXXX doi: 10.1097/gme.0b013e31828f5cd8

Βιβλιογραφία

1. *Melton LJ, 3rd, Atkinson EJ, O'Fallon WM, Wahner HW, Riggs BL. Long-term fracture prediction by bone mineral assessed at different skeletal sites. J Bone Miner Res 1993;8(10):1227-33. doi: 10.1002/jbmr.5650081010.*
2. *Lauritzen JB, Schwarz P, Lund B, McNair P, Transbol I. Changing incidence and residual lifetime risk of common osteoporosis-related fractures. Osteoporos Int 1993;3(3):127-32.*
3. *Incidence of vertebral fracture in europe: results from the European Prospective Osteoporosis Study (EPOS). J Bone Miner Res 2002;17(4):716-24. doi: 10.1359/jbmr.2002.17.4.716.*
4. *Ismail AA, Pye SR, Cockerill WC, et al. Incidence of limb fracture across Europe: results from the European Prospective Osteoporosis Study (EPOS). Osteoporos Int 2002;13(7):565-71. doi: 10.1007/s001980200074.*
5. *Kanis J. Assessment of osteoporosis at the primary healthcare level. Technical Report. on behalf of the World Health Organization Scientific Group. University of Sheffield, UK: WHO Centre for Metabolic Bone Diseases 2007:43.*
6. *Kanis JA, Johnell O. Requirements for DXA for the management of osteoporosis in Europe. Osteoporos Int 2005;16(3):229-38. doi: 10.1007/s00198-004-1811-2.*
7. *ΕΛΙΟΣ. Κατευθυντήριες γραμμές για την διάγνωση και αντιμετώπιση της οστεοπόρωσης στην Ελλάδα. Αθήνα, 2009.*
8. *Cooper C, Atkinson EJ, Jacobsen SJ, O'Fallon WM, Melton LJ, 3rd. Population-based study of survival after osteoporotic fractures. Am J Epidemiol 1993;137(9):1001-5.*
9. *Leibson CL, Tosteson AN, Gabriel SE, Ransom JE, Melton LJ. Mortality, disability, and nursing home use for persons with and without hip fracture: a population-based study. J Am Geriatr Soc 2002;50(10):1644-50. doi: jgs50455 [pii].*
10. *Kanis JA, Johnell O, Oden A, et al. The risk and burden of vertebral fractures in Sweden. Osteoporos Int 2004;15(1):20-6. doi: 10.1007/s00198-003-1463-7.*
11. *Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. NIH Consens Statement 2000;17(1):1-45.*
12. *Λυρίτης ΓΠ. Μεταβολικά Νοσήματα των Οστών. 4η ed. Αθήνα, 2007.*
13. *Green J, Kleeman CR. The role of bone in the regulation of systemic acid-base balance. Contrib Nephrol 1991;91:61-76.*
14. *Arnett T. Regulation of bone cell function by acid-base balance. Proc Nutr Soc 2003;62(2):511-20. doi: S0029665103000673 [pii].*
15. *Κοντογιάννη Μ, Τσαγκάρη Α. Διατροφή και Σκελετική Υγεία. Αθήνα: Hylonome, 2009.*
16. *Ganong WF, ed. Review of Medical Physiology. 22nd ed. San Francisco: Lange Medical Books/ McGraw-Hill, 2005.*
17. *Calvo MS, Whiting SJ, Barton CN. Vitamin D intake: a global perspective of current status. J Nutr 2005;135(2):310-6. doi: 135/2/310 [pii].*
18. *Neve A, Corrado A, Cantatore FP. Osteocalcin: skeletal and extra-skeletal effects. J Cell Physiol 2013;228(6):1149-53. doi: 10.1002/jcp.24278.*
19. *Sierra J, Villagra A, Paredes R, et al. Regulation of the bone-specific osteocalcin gene by p300 requires Runx2/Cbfa1 and the vitamin D3 receptor but not p300 intrinsic histone acetyltransferase activity. Mol Cell Biol 2003;23(9):3339-51.*
20. *Luegmayr E, Varga F, Glantschnig H, et al. 1,25-Dihydroxy vitamin D3 and tri-iodothyronine stimulate the expression of a protein immunologically related to osteocalcin. J Histochem Cytochem 1998;46(4):477-86.*

21. *Aonuma H, Miyakoshi N, Hongo M, Kasukawa Y, Shimada Y. Low serum levels of undercarboxylated osteocalcin in postmenopausal osteoporotic women receiving an inhibitor of bone resorption. Tohoku J Exp Med 2009;218(3):201-5. doi: JST.JSTAGE/tjem/218.201 [pii].*
22. *O'Connor E, Molgaard C, Michaelsen KF, Jakobsen J, Lamberg-Allardt CJ, Cashman KD. Serum percentage undercarboxylated osteocalcin, a sensitive measure of vitamin K status, and its relationship to bone health indices in Danish girls. Br J Nutr 2007;97(4):661-6. doi: S0007114507433050 [pii] 10.1017/S0007114507433050.*
23. *Booth SL, Tucker KL, Chen H, et al. Dietary vitamin K intakes are associated with hip fracture but not with bone mineral density in elderly men and women. Am J Clin Nutr 2000;71(5):1201-8.*
24. *Booth SL, Broe KE, Gagnon DR, et al. Vitamin K intake and bone mineral density in women and men. Am J Clin Nutr 2003;77(2):512-6.*
25. *Jie KG, Bots ML, Vermeer C, Witteman JC, Grobbee DE. Vitamin K status and bone mass in women with and without aortic atherosclerosis: a population-based study. Calcif Tissue Int 1996;59(5):352-6.*
26. *Szulc P, Chapuy MC, Meunier PJ, Delmas PD. Serum undercarboxylated osteocalcin is a marker of the risk of hip fracture in elderly women. J Clin Invest 1993;91(4):1769-74. doi: 10.1172/JCI116387.*
27. *Szulc P, Chapuy MC, Meunier PJ, Delmas PD. Serum undercarboxylated osteocalcin is a marker of the risk of hip fracture: a three year follow-up study. Bone 1996;18(5):487-8. doi: 8756328296000373 [pii].*
28. *Gundberg CM, Nieman SD, Abrams S, Rosen H. Vitamin K status and bone health: an analysis of methods for determination of undercarboxylated osteocalcin. J Clin Endocrinol Metab 1998;83(9):3258-66.*
29. *Nielsen HK. Circadian and circatrigintan changes in osteoblastic activity assessed by serum osteocalcin. Physiological and methodological aspects. Dan Med Bull 1994;41(2):216-27.*
30. *Weber P. Vitamin K and bone health. Nutrition 2001;17(10):880-7. doi: S0899-9007(01)00709-2 [pii].*
31. *Bonaiuti D, Shea B, Iovine R, et al. Exercise for preventing and treating osteoporosis in postmenopausal women. Cochrane Database Syst Rev 2002(3):CD000333. doi: CD000333 [pii] 10.1002/14651858.CD000333.*
32. *Schmitt NM, Schmitt J, Doren M. The role of physical activity in the prevention of osteoporosis in postmenopausal women-An update. Maturitas 2009;63(1):34-8. doi: S0378-5122(09)00091-7 [pii] 10.1016/j.maturitas.2009.03.002.*
33. *Zofkova I. Pathophysiological and clinical importance of insulin-like growth factor-I with respect to bone metabolism. Physiol Res 2003;52(6):657-79.*
34. *Bianda T, Glatz Y, Bouillon R, Froesch ER, Schmid C. Effects of short-term insulin-like growth factor-I (IGF-I) or growth hormone (GH) treatment on bone metabolism and on production of 1,25-dihydroxycholecalciferol in GH-deficient adults. J Clin Endocrinol Metab 1998;83(1):81-7.*
35. *Sampson HW. Alcohol's harmful effects on bone. Alcohol Health Res World 1998;22(3):190-4.*
36. *Turner RT. Skeletal response to alcohol. Alcohol Clin Exp Res 2000;24(11):1693-701.*
37. *Holbrook TL, Barrett-Connor E. A prospective study of alcohol consumption and bone mineral density. BMJ 1993;306(6891):1506-9.*

38. *Bergman EA, Massey LK, Wise KJ, Sherrard DJ. Effects of dietary caffeine on renal handling of minerals in adult women. Life Sci 1990;47(6):557-64.*
39. *Heaney RP. Effects of caffeine on bone and the calcium economy. Food Chem Toxicol 2002;40(9):1263-70. doi: S0278691502000947 [pii].*
40. *Hollenbach KA, Barrett-Connor E, Edelstein SL, Holbrook T. Cigarette smoking and bone mineral density in older men and women. Am J Public Health 1993;83(9):1265-70.*
41. *Wong PK, Christie JJ, Wark JD. The effects of smoking on bone health. Clin Sci (Lond) 2007;113(5):233-41. doi: CS20060173 [pii] 10.1042/CS20060173.*
42. *Cashman KD. Calcium intake, calcium bioavailability and bone health. Br J Nutr 2002;87 Suppl 2:S169-77. doi: 10.1079/BJNBJN/2002534 S0007114502000922 [pii].*
43. *Osteoporosis in the European Union in 2008: Ten years of progress and ongoing Challengies. International Osteoporosis Foundation, 2008.*
44. *Krassas GE, Papadopoulou P. Oestrogen action on bone cells. J Musculoskelet Neuronal Interact 2001;2(2):143-51.*
45. *Bonjour JP, Chevalley T, Rizzoli R, Ferrari S. Gene-environment interactions in the skeletal response to nutrition and exercise during growth. Med Sport Sci 2007;51:64-80. doi: 10.1159/0000103005 [pii] 10.1159/0000103005.*
46. *Bassey EJ, Ramsdale SJ. Weight-bearing exercise and ground reaction forces: a 12-month randomized controlled trial of effects on bone mineral density in healthy postmenopausal women. Bone 1995;16(4):469-76.*
47. *Bravo G, Gauthier P, Roy PM, et al. Impact of a 12-month exercise program on the physical and psychological health of osteopenic women. J Am Geriatr Soc 1996;44(7):756-62.*
48. *Heinonen A, Oja P, Sievanen H, Pasanen M, Vuori I. Effect of two training regimens on bone mineral density in healthy perimenopausal women: a randomized controlled trial. J Bone Miner Res 1998;13(3):483-90. doi: 10.1359/jbmr.1998.13.3.483.*
49. *Wolff I, van Croonenborg JJ, Kemper HC, Kostense PJ, Twisk JW. The effect of exercise training programs on bone mass: a meta-analysis of published controlled trials in pre- and postmenopausal women. Osteoporos Int 1999;9(1):1-12.*
50. *Engelke K, Kemmler W, Lauber D, Beeskow C, Pintag R, Kalender WA. Exercise maintains bone density at spine and hip EFOPS: a 3-year longitudinal study in early postmenopausal women. Osteoporos Int 2006;17(1):133-42. doi: 10.1007/s00198-005-1938-9.*
51. *Kaji T, Yasui T, Suto M, et al. Effect of bed rest during pregnancy on bone turnover markers in pregnant and postpartum women. Bone 2007;40(4):1088-94. doi: S8756-3282(06)00857-X [pii] 10.1016/j.bone.2006.11.018.*
52. *Heer M, Baecker N, Mika C, Boese A, Gerzer R. Immobilization induces a very rapid increase in osteoclast activity. Acta Astronaut 2005;57(1):31-6.*
53. *Baecker N, Tomic A, Mika C, et al. Bone resorption is induced on the second day of bed rest: results of a controlled crossover trial. J Appl Physiol 2003;95(3):977-82. doi: 10.1152/japplphysiol.00264.2003 95/3/977 [pii].*
54. *Διονυσιώτης Γ. Ασκήσεις για οστεοπόρωση. 1 ed. Αθήνα: Εκδόσεις Υλονομή, 2004.*
55. *Hodgson SF, Watts NB, Bilezikian JP, et al. American Association of Clinical Endocrinologists medical guidelines for clinical practice for the prevention and*

treatment of postmenopausal osteoporosis: 2001 edition, with selected updates for 2003. Endocr Pract 2003;9(6):544-64. doi: DG06TDBLJ25WWWE7 [pii].

56. *Μερόπη Κοντογιάννη ΑΤ. Διατροφή και Σκελετική Υγεία. Αθήνα: Hylonome, 2009.*
57. *41 Dietary Reference Values for Food Energy and Nutrients for the United Kingdom. 13 ed. London: Department of Health, 2004.*
58. *Food and Nutrition Board, Recomm;enden Dietary Allowences. 10 ed. Washington: DC: National Academy of Sciences, 1989.*
59. *Gueguen L, Pointillart A. The bioavailability of dietary calcium. J Am Coll Nutr 2000;19(2 Suppl):119S-36S.*
60. *Miller GD, Jarvis JK, McBean LD. The importance of meeting calcium needs with foods. J Am Coll Nutr 2001;20(2 Suppl):168S-85S.*
61. *Paul I, Turner E, Ross D. Nutrition. Boston: Jones and Barlett Publishers, Inc, 2004.*
62. *Boonen S, Lips P, Bouillon R, Bischoff-Ferrari HA, Vanderschueren D, Haentjens P. Need for additional calcium to reduce the risk of hip fracture with vitamin d supplementation: evidence from a comparative metaanalysis of randomized controlled trials. J Clin Endocrinol Metab 2007;92(4):1415-23. doi: jc.2006-1404 [pii] 10.1210/jc.2006-1404.*
63. *Tang BM, Eslick GD, Nowson C, Smith C, Bensoussan A. Use of calcium or calcium in combination with vitamin D supplementation to prevent fractures and bone loss in people aged 50 years and older: a meta-analysis. Lancet 2007;370(9588):657-66. doi: S0140-6736(07)61342-7 [pii] 10.1016/S0140-6736(07)61342-7.*
64. *Nordin BE. The effect of calcium supplementation on bone loss in 32 controlled trials in postmenopausal women. Osteoporos Int 2009;20(12):2135-43. doi: 10.1007/s00198-009-0926-x.*
65. *Zhu K, Devine A, Dick IM, Wilson SG, Prince RL. Effects of calcium and vitamin D supplementation on hip bone mineral density and calcium-related analytes in elderly ambulatory Australian women: a five-year randomized controlled trial. J Clin Endocrinol Metab 2008;93(3):743-9. doi: jc.2007-1466 [pii] 10.1210/jc.2007-1466.*
66. *Prentice A. Diet, nutrition and the prevention of osteoporosis. Public Health Nutr 2004;7(1A):227-43. doi: S1368980004000229 [pii].*
67. *Calvo MS, Kumar R, Heath H. Persistently elevated parathyroid hormone secretion and action in young women after four weeks of ingesting high phosphorus, low calcium diets. J Clin Endocrinol Metab 1990;70(5):1334-40.*
68. *Bizik B, Ding W, Cerlewski F. Evidence that bone resorption of young men is not increased by high dietary phosphorus obtained from milk and cheese. Nutrition Research 1996;76:1143-6.*
69. *Heaney RP, Rafferty K. Carbonated beverages and urinary calcium excretion. Am J Clin Nutr 2001;74(3):343-7.*
70. *New SA, Robins SP, Campbell MK, et al. Dietary influences on bone mass and bone metabolism: further evidence of a positive link between fruit and vegetable consumption and bone health? Am J Clin Nutr 2000;71(1):142-51.*
71. *Whiting SJ, Boyle JL, Thompson A, Mirwald RL, Faulkner RA. Dietary protein, phosphorus and potassium are beneficial to bone mineral density in adult men consuming adequate dietary calcium. J Am Coll Nutr 2002;21(5):402-9.*
72. *New SA, Bolton-Smith C, Grubb DA, Reid DM. Nutritional influences on bone mineral density: a cross-sectional study in premenopausal women. Am J Clin Nutr 1997;65(6):1831-9.*

73. *Tucker KL, Hannan MT, Chen H, Cupples LA, Wilson PW, Kiel DP. Potassium, magnesium, and fruit and vegetable intakes are associated with greater bone mineral density in elderly men and women. Am J Clin Nutr 1999;69(4):727-36.*
74. *Ryder KM, Shorr RI, Bush AJ, et al. Magnesium intake from food and supplements is associated with bone mineral density in healthy older white subjects. J Am Geriatr Soc 2005;53(11):1875-80. doi: JGS53561 [pii] 10.1111/j.1532-5415.2005.53561.x.*
75. *Wang MC, Moore EC, Crawford PB, et al. Influence of pre-adolescent diet on quantitative ultrasound measurements of the calcaneus in young adult women. Osteoporos Int 1999;9(6):532-5.*
76. *Sahota O, Mundey MK, San P, Godber IM, Hosking DJ. Vitamin D insufficiency and the blunted PTH response in established osteoporosis: the role of magnesium deficiency. Osteoporos Int 2006;17(7):1013-21. doi: 10.1007/s00198-006-0084-3.*
77. *Rude RK, Gruber HE, Norton HJ, Wei LY, Frausto A, Kilburn J. Dietary magnesium reduction to 25% of nutrient requirement disrupts bone and mineral metabolism in the rat. Bone 2005;37(2):211-9. doi: S8756-3282(05)00144-4 [pii] 10.1016/j.bone.2005.04.005.*
78. *Rude RK, Gruber HE, Wei LY, Frausto A, Mills BG. Magnesium deficiency: effect on bone and mineral metabolism in the mouse. Calcif Tissue Int 2003;72(1):32-41. doi: 10.1007/s00223-001-1091-1.*
79. *Rude RK, Gruber HE, Wei LY, Frausto A. Immunolocalization of RANKL is increased and OPG decreased during dietary magnesium deficiency in the rat. Nutr Metab (Lond) 2005;2(1):24. doi: 1743-7075-2-24 [pii] 10.1186/1743-7075-2-24.*
80. *Dorup I, Flyvbjerg A, Everts ME, Clausen T. Role of insulin-like growth factor-1 and growth hormone in growth inhibition induced by magnesium and zinc deficiencies. Br J Nutr 1991;66(3):505-21.*
81. *Whiting SJ, Calvo MS. Dietary recommendations for vitamin D: a critical need for functional end points to establish an estimated average requirement. J Nutr 2005;135(2):304-9. doi: 135/2/304 [pii].*
82. *Whiting SJ, Calvo MS. Dietary recommendations to meet both endocrine and autocrine needs of Vitamin D. J Steroid Biochem Mol Biol 2005;97(1-2):7-12. doi: S0960-0760(05)00240-2 [pii] 10.1016/j.jsbmb.2005.06.022.*
83. *Isaia G, Giorgino R, Rini GB, Bevilacqua M, Maugeri D, Adami S. Prevalence of hypovitaminosis D in elderly women in Italy: clinical consequences and risk factors. Osteoporos Int 2003;14(7):577-82. doi: 10.1007/s00198-003-1390-7.*
84. *Gannage-Yared MH, Chemali R, Yaacoub N, Halaby G. Hypovitaminosis D in a sunny country: relation to lifestyle and bone markers. J Bone Miner Res 2000;15(9):1856-62. doi: 10.1359/jbmr.2000.15.9.1856.*
85. *Chapuy MC, Arlot ME, Delmas PD, Meunier PJ. Effect of calcium and cholecalciferol treatment for three years on hip fractures in elderly women. BMJ 1994;308(6936):1081-2.*
86. *Kanis JA, Johnell O, Gullberg B, et al. Evidence for efficacy of drugs affecting bone metabolism in preventing hip fracture. BMJ 1992;305(6862):1124-8.*
87. *Bischoff-Ferrari HA, Willett WC, Wong JB, Giovannucci E, Dietrich T, Dawson-Hughes B. Fracture prevention with vitamin D supplementation: a meta-analysis of randomized controlled trials. JAMA 2005;293(18):2257-64. doi: 293/18/2257 [pii] 10.1001/jama.293.18.2257.*

88. *Cranney A, Weiler HA, O'Donnell S, Puil L. Summary of evidence-based review on vitamin D efficacy and safety in relation to bone health. Am J Clin Nutr 2008;88(2):513S-9S. doi: 88/2/513S [pii].*
89. *Sato T, Schurgers LJ, Uenishi K. Comparison of menaquinone-4 and menaquinone-7 bioavailability in healthy women. Nutr J 2012;11:93. doi: 1475-2891-11-93 [pii] 10.1186/1475-2891-11-93.*
90. *Feskanich D, Weber P, Willett WC, Rockett H, Booth SL, Colditz GA. Vitamin K intake and hip fractures in women: a prospective study. Am J Clin Nutr 1999;69(1):74-9.*
91. *Yaegashi Y, Onoda T, Tanno K, Kuribayashi T, Sakata K, Orimo H. Association of hip fracture incidence and intake of calcium, magnesium, vitamin D, and vitamin K. Eur J Epidemiol 2008;23(3):219-25. doi: 10.1007/s10654-008-9225-7.*
92. *Fusaro M, Noale M, Viola V, et al. Vitamin K, vertebral fractures, vascular calcifications, and mortality: VItamin K Italian (VIKI) dialysis study. J Bone Miner Res 2012;27(11):2271-8. doi: 10.1002/jbmr.1677.*
93. *McKeown NM, Jacques PF, Gundberg CM, et al. Dietary and nondietary determinants of vitamin K biochemical measures in men and women. J Nutr 2002;132(6):1329-34.*
94. *Booth SL, Broe KE, Peterson JW, et al. Associations between vitamin K biochemical measures and bone mineral density in men and women. J Clin Endocrinol Metab 2004;89(10):4904-9. doi: 89/10/4904 [pii] 10.1210/jc.2003-031673.*
95. *van Summeren MJ, Braam LA, Lilien MR, Schurgers LJ, Kuis W, Vermeer C. The effect of menaquinone-7 (vitamin K2) supplementation on osteocalcin carboxylation in healthy prepubertal children. Br J Nutr 2009;102(8):1171-8. doi: S0007114509382100 [pii] 10.1017/S0007114509382100.*
96. *Bruge F, Bacchetti T, Principi F, Littarru GP, Tiano L. Olive oil supplemented with menaquinone-7 significantly affects osteocalcin carboxylation. Br J Nutr 2011;106(7):1058-62. doi: S0007114511001425 [pii] 10.1017/S0007114511001425.*
97. *Uchiyama M, Maesawa C, Yashima-Abo A, et al. Consensus JH gene probes with conjugated 3'-minor groove binder for monitoring minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia. J Mol Diagn 2005;7(1):121-6. doi: S1525-1578(10)60017-7 [pii] 10.1016/S1525-1578(10)60017-7.*
98. *Braam LA, Knapen MH, Geusens P, et al. Vitamin K1 supplementation retards bone loss in postmenopausal women between 50 and 60 years of age. Calcif Tissue Int 2003;73(1):21-6.*
99. *Ishida Y, Kawai S. Comparative efficacy of hormone replacement therapy, etidronate, calcitonin, alfacalcidol, and vitamin K in postmenopausal women with osteoporosis: The Yamaguchi Osteoporosis Prevention Study. Am J Med 2004;117(8):549-55. doi: S0002-9343(04)00429-2 [pii] 10.1016/j.amjmed.2004.05.019.*
100. *Iwamoto I, Kosha S, Noguchi S, et al. A longitudinal study of the effect of vitamin K2 on bone mineral density in postmenopausal women a comparative study with vitamin D3 and estrogen-progestin therapy. Maturitas 1999;31(2):161-4. doi: S0378512298001145 [pii].*
101. *Iwamoto J, Takeda T, Ichimura S. Effect of combined administration of vitamin D3 and vitamin K2 on bone mineral density of the lumbar spine in postmenopausal women with osteoporosis. J Orthop Sci 2000;5(6):546-51.*
102. *Iwamoto J, Takeda T, Ichimura S. Effect of menatetrenone on bone mineral density and incidence of vertebral fractures in postmenopausal women with osteoporosis: a*

comparison with the effect of etidronate. J Orthop Sci 2001;6(6):487-92. doi: 10.1007/s007760100002.

103. *Braam LA, Knapen MH, Geusens P, Brouns F, Vermeer C. Factors affecting bone loss in female endurance athletes: a two-year follow-up study. Am J Sports Med 2003;31(6):889-95.*
104. *Nishiguchi S, Shimoi S, Kurooka H, et al. Randomized pilot trial of vitamin K2 for bone loss in patients with primary biliary cirrhosis. J Hepatol 2001;35(4):543-5. doi: S0168827801001337 [pii].*
105. *Sasaki N, Kusano E, Takahashi H, et al. Vitamin K2 inhibits glucocorticoid-induced bone loss partly by preventing the reduction of osteoprotegerin (OPG). J Bone Miner Metab 2005;23(1):41-7. doi: 10.1007/s00774-004-0539-6.*
106. *Sato Y, Honda Y, Kuno H, Oizumi K. Menatetrenone ameliorates osteopenia in disuse-affected limbs of vitamin D- and K-deficient stroke patients. Bone 1998;23(3):291-6. doi: S8756-3282(98)00108-2 [pii].*
107. *Sato Y, Honda Y, Kaji M, et al. Amelioration of osteoporosis by menatetrenone in elderly female Parkinson's disease patients with vitamin D deficiency. Bone 2002;31(1):114-8. doi: S8756328202007834 [pii].*
108. *Shiraki M, Shiraki Y, Aoki C, Miura M. Vitamin K2 (menatetrenone) effectively prevents fractures and sustains lumbar bone mineral density in osteoporosis. J Bone Miner Res 2000;15(3):515-21. doi: 10.1359/jbmr.2000.15.3.515.*
109. *Somekawa Y, Chigughi M, Harada M, Ishibashi T. Use of vitamin K2 (menatetrenone) and 1,25-dihydroxyvitamin D3 in the prevention of bone loss induced by leuprolide. J Clin Endocrinol Metab 1999;84(8):2700-4.*
110. *Cockayne S, Adamson J, Lanham-New S, Shearer MJ, Gilbody S, Torgerson DJ. Vitamin K and the prevention of fractures: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Arch Intern Med 2006;166(12):1256-61. doi: 166/12/1256 [pii]*
10.1001/archinte.166.12.1256.
111. *Knapen MH, Drummen NE, Smit E, Vermeer C, Theuwissen E. Three-year low-dose menaquinone-7 supplementation helps decrease bone loss in healthy postmenopausal women. Osteoporos Int 2013. doi: 10.1007/s00198-013-2325-6.*
112. *Grese TA, Sluka JP, Bryant HU, et al. Molecular determinants of tissue selectivity in estrogen receptor modulators. Proc Natl Acad Sci U S A 1997;94(25):14105-10.*
113. *Jackson RD, LaCroix AZ, Gass M, et al. Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of fractures. N Engl J Med 2006;354(7):669-83. doi: 354/7/669 [pii]*
10.1056/NEJMoa055218.
114. *Meier C, Woitge HW, Witte K, Lemmer B, Seibel MJ. Supplementation with oral vitamin D3 and calcium during winter prevents seasonal bone loss: a randomized controlled open-label prospective trial. J Bone Miner Res 2004;19(8):1221-30. doi: 10.1359/JBMR.040511.*
115. *Chapuy MC, Pamphile R, Paris E, et al. Combined calcium and vitamin D3 supplementation in elderly women: confirmation of reversal of secondary hyperparathyroidism and hip fracture risk: the Decalyos II study. Osteoporos Int 2002;13(3):257-64.*
116. *Baeksgaard L, Andersen KP, Hyldstrup L. Calcium and vitamin D supplementation increases spinal BMD in healthy, postmenopausal women. Osteoporos Int 1998;8(3):255-60.*
117. *Dawson-Hughes B, Harris SS, Krall EA, Dallal GE. Effect of calcium and vitamin D supplementation on bone density in men and women 65 years of age or older. N Engl J Med 1997;337(10):670-6.*

118. *Hunter D, Major P, Arden N, et al. A randomized controlled trial of vitamin D supplementation on preventing postmenopausal bone loss and modifying bone metabolism using identical twin pairs. J Bone Miner Res 2000;15(11):2276-83. doi: 10.1359/jbmr.2000.15.11.2276.*
119. *Genuis SJ, Bouchard TP. Combination of Micronutrients for Bone (COMB) Study: bone density after micronutrient intervention. J Environ Public Health 2012;2012:354151. doi: 10.1155/2012/354151.*
120. *Prince R, Devine A, Dick I, et al. The effects of calcium supplementation (milk powder or tablets) and exercise on bone density in postmenopausal women. J Bone Miner Res 1995;10(7):1068-75. doi: 10.1002/jbmr.5650100711.*
121. *Cleghorn DB, O'Loughlin PD, Schroeder BJ, Nordin BE. An open, crossover trial of calcium-fortified milk in prevention of early postmenopausal bone loss. Med J Aust 2001;175(5):242-5.*
122. *Lau EM, Woo J, Lam V, Hong A. Milk supplementation of the diet of postmenopausal Chinese women on a low calcium intake retards bone loss. J Bone Miner Res 2001;16(9):1704-9. doi: 10.1359/jbmr.2001.16.9.1704.*
123. *Chee WS, Suriah AR, Chan SP, Zaitun Y, Chan YM. The effect of milk supplementation on bone mineral density in postmenopausal Chinese women in Malaysia. Osteoporos Int 2003;14(10):828-34. doi: 10.1007/s00198-003-1448-6.*
124. *Kruger MC, Ha PC, Todd JM, et al. High-calcium, vitamin D fortified milk is effective in improving bone turnover markers and vitamin D status in healthy postmenopausal Chinese women. Eur J Clin Nutr 2012;66(7):856-61. doi: ejcn201254 [pii] 10.1038/ejcn.2012.54.*
125. *Bonjour JP, Benoit V, Rousseau B, Souberbielle JC. Consumption of vitamin D-and calcium-fortified soft white cheese lowers the biochemical marker of bone resorption TRAP 5b in postmenopausal women at moderate risk of osteoporosis fracture. J Nutr 2012;142(4):698-703. doi: jn.111.153692 [pii] 10.3945/jn.111.153692.*
126. *Gui JC, Brasic JR, Liu XD, et al. Bone mineral density in postmenopausal Chinese women treated with calcium fortification in soymilk and cow's milk. Osteoporos Int 2012;23(5):1563-70. doi: 10.1007/s00198-012-1895-z.*
127. *Doheny MO, Sedlak CA, Estok PJ, Zeller R. Osteoporosis knowledge, health beliefs, and DXA T-scores in men and women 50 years of age and older. Orthop Nurs 2007;26(4):243-50. doi: 10.1097/01.NOR.0000284654.68215.de 00006416-200707000-00010 [pii].*
128. *Ailinger RL, Braun MA, Lasus H, Whitt K. Factors influencing osteoporosis knowledge: a community study. J Community Health Nurs 2005;22(3):135-42. doi: 10.1207/s15327655jchn2203_1.*
129. *Estok PJ, Sedlak CA, Doheny MO, Hall R. Structural model for osteoporosis preventing behavior in postmenopausal women. Nurs Res 2007;56(3):148-58. doi: 10.1097/01.NNR.0000270031.64810.0c 00006199-200705000-00002 [pii].*
130. *Sedlak CA, Doheny MO, Estok PJ, Zeller RA, Winchell J. DXA, health beliefs, and osteoporosis prevention behaviors. J Aging Health 2007;19(5):742-56. doi: 19/5/742 [pii] 10.1177/0898264307304303.*
131. *Hsieh CH, Wang CY, McCubbin M, Zhang S, Inouye J. Factors influencing osteoporosis preventive behaviours: testing a path model. J Adv Nurs 2008;62(3):336-45. doi: JAN4603 [pii] 10.1111/j.1365-2648.2008.04603.x.*

132. *Swaim RA, Barner JC, Brown CM. The relationship of calcium intake and exercise to osteoporosis health beliefs in postmenopausal women. Res Social Adm Pharm 2008;4(2):153-63. doi: S1551-7411(07)00026-5 [pii] 10.1016/j.sapharm.2007.03.004.*
133. *Sedlak CA, Doheny MO, Jones SL. Osteoporosis education programs: changing knowledge and behaviors. Public Health Nurs 2000;17(5):398-402. doi: phn398 [pii].*
134. *Tussing L, Chapman-Novakofski K. Osteoporosis prevention education: behavior theories and calcium intake. J Am Diet Assoc 2005;105(1):92-7. doi: S0002822304017006 [pii] 10.1016/j.jada.2004.10.025.*
135. *Storm D, Eslin R, Porter ES, et al. Calcium supplementation prevents seasonal bone loss and changes in biochemical markers of bone turnover in elderly New England women: a randomized placebo-controlled trial. J Clin Endocrinol Metab 1998;83(11):3817-25.*
136. *Manios Y, Moschonis G, Trovas G, Lyritis GP. Changes in biochemical indexes of bone metabolism and bone mineral density after a 12-mo dietary intervention program: the Postmenopausal Health Study. Am J Clin Nutr 2007;86(3):781-9. doi: 86/3/781 [pii].*
137. *Rosenstock IM. What research in motivation suggests for public health. Am J Public Health Nations Health 1960;50:295-302.*
138. *Hunt JM. Personality and the behavior disorders, a handbook based on experimental and clinical research. New York,: The Ronald press company, 1944.*
139. *Bandura A. Self-efficacy: toward a unifying theory of behavioral change. Psychol Rev 1977;84(2):191-215.*
140. *Bandura A, Adams NE, Beyer J. Cognitive processes mediating behavioral change. J Pers Soc Psychol 1977;35(3):125-39.*
141. *Bandura A. The assessment and predictive generality of self-percepts of efficacy. J Behav Ther Exp Psychiatry 1982;13(3):195-9.*
142. *Bandura A, Reese L, Adams NE. Microanalysis of action and fear arousal as a function of differential levels of perceived self-efficacy. J Pers Soc Psychol 1982;43(1):5-21.*
143. *Spahn JM, Reeves RS, Keim KS, et al. State of the evidence regarding behavior change theories and strategies in nutrition counseling to facilitate health and food behavior change. J Am Diet Assoc 2010;110(6):879-91. doi: S0002-8223(10)00241-5 [pii] 10.1016/j.jada.2010.03.021.*
144. *. Internet: nutrition.med.uoc.gr/GreekTables.*
145. *Trichopoulou A. Composition tables of foods and Greek dishes. Athens, Greece: School of Medicine: Department of Hygiene and Epidemiology. , 2004.*
146. *Guenther PM, Reedy J, Krebs-Smith SM. Development of the Healthy Eating Index-2005. J Am Diet Assoc 2008;108(11):1896-901. doi: S0002-8223(08)01557-5 [pii] 10.1016/j.jada.2008.08.016.*
147. *Guenther PM, Reedy J, Krebs-Smith SM, Reeve BB. Evaluation of the Healthy Eating Index-2005. J Am Diet Assoc 2008;108(11):1854-64. doi: S0002-8223(08)01562-9 [pii] 10.1016/j.jada.2008.08.011.*
148. *Hamidi M, Tarasuk V, Corey P, Cheung AM. Association between the Healthy Eating Index and bone turnover markers in US postmenopausal women aged >/=45 y. Am J Clin Nutr 2011;94(1):199-208. doi: ajcn.110.009605 [pii] 10.3945/ajcn.110.009605.*
149. *Petrogianni M, Kanellakis S, Kallianioti K, Argyropoulou D, Pitsavos C, Manios Y. A multicomponent lifestyle intervention produces favourable changes in diet quality and cardiometabolic risk indices in hypercholesterolaemic adults. J Hum Nutr Diet 2013. doi: 10.1111/jhn.12041.*

150. *Crouter SE, Schneider PL, Karabulut M, Bassett DR, Jr. Validity of 10 electronic pedometers for measuring steps, distance, and energy cost. Med Sci Sports Exerc 2003;35(8):1455-60. doi: 10.1249/01.MSS.0000078932.61440.A2.*
151. *Strycker LA, Duncan SC, Chaumeton NR, Duncan TE, Toobert DJ. Reliability of pedometer data in samples of youth and older women. Int J Behav Nutr Phys Act 2007;4:4. doi: 1479-5868-4-4 [pii] 10.1186/1479-5868-4-4.*
152. *Chen TC, Turner AK, Holick MF. A method for the determination of the circulating concentration of vitamin D. J Nutr Biochem 1990;1(5):272-6. doi: 095528639090078Y [pii].*
153. *Beardsworth LJ, Eyre DR, Dickson IR. Changes with age in the urinary excretion of lysyl- and hydroxylysylpyridinoline, two new markers of bone collagen turnover. J Bone Miner Res 1990;5(7):671-6. doi: 10.1002/jbmr.5650050702.*
154. *Martarelli D, Martarelli B, Pompei P. Body composition obtained from the body mass index: an Italian study. Eur J Nutr 2008;47(8):409-16. doi: 10.1007/s00394-008-0742-7.*
155. *Siri W. Body composition from fluid spaces and density: Analysis of methods. Edtion ed. In: Brozek J, Henzchel A, eds. Techniques for Measuring Body Composition. Washington: National Academy of Sciences, 1961:224–44.*
156. *Brozek J, Grande F, Anderson JT, Keys A. Densitometric Analysis of Body Composition: Revision of Some Quantitative Assumptions. Ann N Y Acad Sci 1963;110:113-40.*
157. *Visser M, van den Heuvel E, Deurenberg P. Prediction equations for the estimation of body composition in the elderly using anthropometric data. Br J Nutr 1994;71(6):823-33. doi: S0007114594000887 [pii].*
158. *Lean ME, Han TS, Deurenberg P. Predicting body composition by densitometry from simple anthropometric measurements. Am J Clin Nutr 1996;63(1):4-14.*
159. *Park YW, Heymsfield SB, Gallagher D. Are dual-energy X-ray absorptiometry regional estimates associated with visceral adipose tissue mass? Int J Obes Relat Metab Disord 2002;26(7):978-83. doi: 10.1038/sj.ijo.0801982.*
160. *Schaafsma A, Muskiet FA, Storm H, Hofstede GJ, Pakan I, Van der Veer E. Vitamin D(3) and vitamin K(1) supplementation of Dutch postmenopausal women with normal and low bone mineral densities: effects on serum 25-hydroxyvitamin D and carboxylated osteocalcin. Eur J Clin Nutr 2000;54(8):626-31.*
161. *Kitchin B, Morgan SL. Not just calcium and vitamin D: other nutritional considerations in osteoporosis. Curr Rheumatol Rep 2007;9(1):85-92.*
162. *Dietery reference intakes: applications in dietary assessment. Washington: National academy press, 2001.*
163. *Bugel S. Vitamin K and bone health in adult humans. Vitam Horm 2008;78:393-416. doi: S0083-6729(07)00016-7 [pii] 10.1016/S0083-6729(07)00016-7.*
164. *Manios Y, Moschonis G, Katsaroli I, Grammatikaki E, Tanagra S. Changes in diet quality score, macro- and micronutrients intake following a nutrition education intervention in postmenopausal women. J Hum Nutr Diet 2007;20(2):126-31. doi: JHN750 [pii] 10.1111/j.1365-277X.2007.00750.x.*
165. *Woodard CM, Berry MJ. Enhancing adherence to prescribed exercise: structured behavioral interventions in clinical exercise programs. J Cardiopulm Rehabil 2001;21(4):201-9.*

166. *Ghiron LJ, Thompson JL, Holloway L, et al. Effects of recombinant insulin-like growth factor-I and growth hormone on bone turnover in elderly women. J Bone Miner Res 1995;10(12):1844-52. doi: 10.1002/jbmr.5650101203.*
167. *Hamdy NA. Targeting the RANK/RANKL/OPG signaling pathway: a novel approach in the management of osteoporosis. Curr Opin Investig Drugs 2007;8(4):299-303.*
168. *Hofbauer LC, Schoppet M. Clinical implications of the osteoprotegerin/RANKL/RANK system for bone and vascular diseases. JAMA 2004;292(4):490-5. doi: 10.1001/jama.292.4.490*
292/4/490 [pii].
169. *Marini H, Minutoli L, Polito F, et al. OPG and sRANKL serum concentrations in osteopenic, postmenopausal women after 2-year genistein administration. J Bone Miner Res 2008;23(5):715-20. doi: 10.1359/jbmr.080201.*
170. *Trzeciakiewicz A, Habauzit V, Horcajada MN. When nutrition interacts with osteoblast function: molecular mechanisms of polyphenols. Nutr Res Rev 2009;22(1):68-81. doi: S095442240926402X [pii]*
10.1017/S095442240926402X.
171. *Yamaguchi M, Weitzmann MN. Vitamin K2 stimulates osteoblastogenesis and suppresses osteoclastogenesis by suppressing NF-kappaB activation. Int J Mol Med 2011;27(1):3-14. doi: 10.3892/ijmm.2010.562.*
172. *Katsuyama H, Otsuki T, Tomita M, et al. Menaquinone-7 regulates the expressions of osteocalcin, OPG, RANKL and RANK in osteoblastic MC3T3E1 cells. Int J Mol Med 2005;15(2):231-6.*
173. *Tsugawa N, Shiraki M, Suhara Y, et al. Low plasma phylloquinone concentration is associated with high incidence of vertebral fracture in Japanese women. J Bone Miner Metab 2008;26(1):79-85. doi: 10.1007/s00774-007-0790-8.*
174. *Emaus N, Nguyen ND, Almaas B, et al. Serum level of under-carboxylated osteocalcin and bone mineral density in early menopausal Norwegian women. Eur J Nutr 2013;52(1):49-55. doi: 10.1007/s00394-011-0285-1.*
175. *Cheung AM, Tile L, Lee Y, et al. Vitamin K supplementation in postmenopausal women with osteopenia (ECKO trial): a randomized controlled trial. PLoS Med 2008;5(10):e196. doi: 08-PLME-RA-0094 [pii]*
10.1371/journal.pmed.0050196.
176. *Iwamoto J, Sato Y, Takeda T, Matsumoto H. High-dose vitamin K supplementation reduces fracture incidence in postmenopausal women: a review of the literature. Nutr Res 2009;29(4):221-8. doi: S0271-5317(09)00057-8 [pii]*
10.1016/j.nutres.2009.03.012.
177. *Ozuru R, Sugimoto T, Yamaguchi T, Chihara K. Time-dependent effects of vitamin K2 (menatetrenone) on bone metabolism in postmenopausal women. Endocr J 2002;49(3):363-70.*
178. *Shiraki M, Itabashi A. Short-term menatetrenone therapy increases gamma-carboxylation of osteocalcin with a moderate increase of bone turnover in postmenopausal osteoporosis: a randomized prospective study. J Bone Miner Metab 2009;27(3):333-40. doi: 10.1007/s00774-008-0034-6.*
179. *Binkley N, Harke J, Krueger D, et al. Vitamin K treatment reduces undercarboxylated osteocalcin but does not alter bone turnover, density, or geometry in healthy postmenopausal North American women. J Bone Miner Res 2009;24(6):983-91. doi: 10.1359/jbmr.081254.*
180. *Bugel S, Sorensen AD, Hels O, et al. Effect of phylloquinone supplementation on biochemical markers of vitamin K status and bone turnover in postmenopausal women. Br J Nutr 2007;97(2):373-80. doi: S000711450715460X [pii]*

10.1017/S000711450715460X.

181. *Hara K, Akiyama Y, Tajima T, Shiraki M. Menatetrenone inhibits bone resorption partly through inhibition of PGE2 synthesis in vitro. J Bone Miner Res 1993;8(5):535-42. doi: 10.1002/jbmr.5650080504.*
182. *Kameda T, Miyazawa K, Mori Y, et al. Vitamin K2 inhibits osteoclastic bone resorption by inducing osteoclast apoptosis. Biochem Biophys Res Commun 1996;220(3):515-9. doi: S0006-291X(96)90436-2 [pii] 10.1006/bbrc.1996.0436.*
183. *Macdonald HM, McGuigan FE, Lanham-New SA, Fraser WD, Ralston SH, Reid DM. Vitamin K1 intake is associated with higher bone mineral density and reduced bone resorption in early postmenopausal Scottish women: no evidence of gene-nutrient interaction with apolipoprotein E polymorphisms. Am J Clin Nutr 2008;87(5):1513-20. doi: 87/5/1513 [pii].*
184. *Weisman SM, Matkovic V. Potential use of biochemical markers of bone turnover for assessing the effect of calcium supplementation and predicting fracture risk. Clin Ther 2005;27(3):299-308. doi: S0149-2918(05)00046-9 [pii] 10.1016/j.dinthera.2005.03.003.*
185. *Stepan JJ. Prediction of bone loss in postmenopausal women. Osteoporos Int 2000;11 Suppl 6:S45-54.*
186. *Delmas PD, Eastell R, Garnero P, Seibel MJ, Stepan J. The use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. Committee of Scientific Advisors of the International Osteoporosis Foundation. Osteoporos Int 2000;11 Suppl 6:S2-17.*
187. *Riggs BL, O'Fallon WM, Muhs J, O'Connor MK, Kumar R, Melton LJ, 3rd. Long-term effects of calcium supplementation on serum parathyroid hormone level, bone turnover, and bone loss in elderly women. J Bone Miner Res 1998;13(2):168-74. doi: 10.1359/jbmr.1998.13.2.168.*
188. *Moschonis G, Katsaroli I, Lyritis GP, Manios Y. The effects of a 30-month dietary intervention on bone mineral density: the Postmenopausal Health Study. Br J Nutr 2010;104(1):100-7. doi: S000711451000019X [pii] 10.1017/S000711451000019X.*
189. *Vermeer C, Shearer MJ, Zittermann A, et al. Beyond deficiency: potential benefits of increased intakes of vitamin K for bone and vascular health. Eur J Nutr 2004;43(6):325-35. doi: 10.1007/s00394-004-0480-4.*
190. *Bolton-Smith C, McMurdo ME, Paterson CR, et al. Two-year randomized controlled trial of vitamin K1 (phylloquinone) and vitamin D3 plus calcium on the bone health of older women. J Bone Miner Res 2007;22(4):509-19. doi: 10.1359/jbmr.070116.*
191. *Je SH, Joo NS, Choi BH, et al. Vitamin K supplement along with vitamin D and calcium reduced serum concentration of undercarboxylated osteocalcin while increasing bone mineral density in Korean postmenopausal women over sixty-years-old. J Korean Med Sci 2011;26(8):1093-8. doi: 10.3346/jkms.2011.26.8.1093.*
192. *Moschonis G, Manios Y. Skeletal site-dependent response of bone mineral density and quantitative ultrasound parameters following a 12-month dietary intervention using dairy products fortified with calcium and vitamin D: the Postmenopausal Health Study. Br J Nutr 2006;96(6):1140-8. doi: S0007114507244423 [pii].*
193. *Rosenthall L, Caminis J, Tenehouse A. Calcaneal ultrasonometry: response to treatment in comparison with dual x-ray absorptiometry measurements of the lumbar spine and femur. Calcif Tissue Int 1999;64(3):200-4.*
194. *Sahota O, San P, Cawte SA, Pearson D, Hosking DJ. A comparison of the longitudinal changes in quantitative ultrasound with dual-energy X-ray absorptiometry: the four-*

year effects of hormone replacement therapy. Osteoporos Int 2000;11(1):52-8. doi: 00110052.198 [pii].

195. *Schurgers LJ, Teunissen KJ, Hamulyak K, Knapen MH, Vik H, Vermeer C. Vitamin K-containing dietary supplements: comparison of synthetic vitamin K1 and natto-derived menaquinone-7. Blood 2007;109(8):3279-83. doi: blood-2006-08-040709 [pii] 10.1182/blood-2006-08-040709.*
196. *Ulijaszek SJ, Kerr DA. Anthropometric measurement error and the assessment of nutritional status. Br J Nutr 1999;82(3):165-77. doi: S0007114599001348 [pii].*
197. *Peterson MJ, Czerwinski SA, Siervogel RM. Development and validation of skinfold-thickness prediction equations with a 4-compartment model. Am J Clin Nutr 2003;77(5):1186-91.*
198. *Kanellakis S, Kourlaba G, Moschonis G, Vandorou A, Manios Y. Development and validation of two equations estimating body composition for overweight and obese postmenopausal women. Maturitas 2010;65(1):64-8. doi: S0378-5122(09)00393-4 [pii] 10.1016/j.maturitas.2009.10.012.*
199. *Schutz Y, Sarafian D, Miles JL, Montani JP, Dulloo AG. Non-contact assessment of waist circumference: will tape measurements become progressively obsolete? Eur J Clin Nutr 2012;66(2):269-72. doi: ejcn2011183 [pii] 10.1038/ejcn.2011.183.*
200. *Thomas EL, Collins AL, McCarthy J, et al. Estimation of abdominal fat compartments by bioelectrical impedance: the validity of the ViScan measurement system in comparison with MRI. Eur J Clin Nutr 2010;64(5):525-33. doi: ejcn201018 [pii] 10.1038/ejcn.2010.18.*

Παράρτημα – Δημοσιεύσεις

J Bone Miner Metab (2011) 29:501–506
DOI 10.1007/s00774-010-0256-2

SHORT COMMUNICATION

Possible site-specific effect of an intervention combining nutrition and lifestyle counselling with consumption of fortified dairy products on bone mass: the Postmenopausal Health Study II

George Moschonis · Spyridon Kanellakis · Nikolaos Papaioannou · Anne Schaafsma · Yannis Manios

Received: 23 June 2010 / Accepted: 23 December 2010 / Published online: 1 April 2011
© The Japanese Society for Bone and Mineral Research and Springer 2011

Abstract The aim of the present study was to examine whether a holistic approach combining nutrition and lifestyle counselling with the consumption of milk and yoghurt enriched with calcium, vitamin D_3 and phylloquinone (vitamin K_1) or menaquinone (vitamin K_2) would have any additional benefit on bone mineral density (BMD) indices measured at various skeletal sites using two different techniques, dual energy X-ray absorptiometry and quantitative ultrasonography (QUS). A sample of 115 postmenopausal women were randomized to three intervention groups, receiving daily via fortified milk and yoghurt and for 12 months, 800 mg calcium and 10 μg vitamin D_3 (CaD group, $n = 26$); 800 mg calcium, 10 μg vitamin D_3 and 100 μg vitamin K_1 (CaDK1 group, $n = 26$); 800 mg calcium, 10 μg vitamin D_3 and 100 μg vitamin K_2 (CaDK2 group, $n = 24$); and a control group (CO group, $n = 39$) following their usual diet. All three intervention groups attended biweekly nutrition and lifestyle counselling sessions. Total BMD significantly increased in all three intervention groups and these changes were significantly higher compared to the CO ($P < 0.001$). Furthermore, the significant increases observed for L2–L4 BMD in the CaDK1 and CaDK2 groups were found to be significantly higher compared to the decrease observed in the CO ($P = 0.001$). No significant differences were observed for QUS parameters. The combined approach used in the current study led to favourable changes for all three intervention groups in total body BMD, while an additional benefit was observed for L2–L4 BMD in CaDK1 and CaDK2 groups. No significant differences were observed among groups in any of the QUS parameters.

Keywords Vitamin K · Vitamin D · Calcium · Fortified milk · Nutrition counselling

All authors contributed in the study design, writing and revising the manuscript; GM, SK and YM were responsible for data collection, management and statistical analyses.

G. Moschonis · S. Kanellakis · Y. Manios (✉)
Department of Nutrition and Dietetics,
Harokopio University of Athens, 70, El.Venizelou Ave,
Kallithea, 176 71 Athens, Greece
e-mail: manios@hua.gr

G. Moschonis
e-mail: gmoschi@hua.gr

N. Papaioannou
Laboratory for the Research of the Musculoskeletal System,
School of Medicine, University of Athens, Athens, Greece

A. Schaafsma
FrieslandCampina, Innovation International,
P. Stuyvesantweg 1, 8937 AC Leeuwarden, The Netherlands

Introduction

Osteoporosis and the subsequent risk of bone fracture occur most commonly among postmenopausal women. These disorders account for a significant burden of morbidity and mortality worldwide and have become a major public health problem [1]. Adequate intake of a list of nutrients such as calcium, vitamin D, magnesium and phosphorus is essential for bone metabolism. However, decreased calcium bioavailability [2] and cutaneous vitamin D biosynthesis [3] in the elderly, combined with low dietary intake of vitamin D from staple foods, especially in countries without a mandatory fortification policy [4], contribute to lower concentrations of 25(OH)D and consequently to accelerated bone loss and greater risk of bone fracture [5].

In addition to calcium and vitamin D, recent evidence suggests that supplementation with vitamin K also seems to have a favourable role in bone metabolism and bone mass maintenance [6–9]. Although supplementation of all these nutrients essential for bone metabolism is one approach in achieving adequate intakes, consumption of fortified staple foods, such as dairy products, has also been proven to be an effective approach [10–13].

The aim of the present study was to examine whether a holistic approach combining nutrition and lifestyle counselling with consumption of milk and yoghurt enriched with calcium, vitamin D_3 and vitamin K_1 or vitamin K_2 would have any additional benefit on BMD, measured at various skeletal sites using two different techniques, dual energy X-ray absorptiometry (DXA) and quantitative ultrasonography (QUS).

Materials and methods

The recruitment of the study participants followed two screenings, after the approval of the Ethical Committee of Harokopio University of Athens. These two screenings yielded 173 apparently healthy self-dependent postmenopausal women (55–65 years old) who were randomly assigned into three intervention and one control (CO) group. More specifically, the three intervention groups comprised a group receiving 800 mg of calcium and 10 μg vitamin D_3 (CaD group, $n = 38$), a group receiving 800 mg calcium, 10 μg vitamin D_3 and 100 μg vitamin K_1 (CaDK1 group, $n = 38$); and a group receiving 800 mg calcium, 10 μg vitamin D_3 and 100 μg vitamin K_2 (MK-7) (CaDK2 group, $n = 39$) via fortified milk and yoghurt. The major reasons for choosing MK-7 instead of another active menaquinone, MK-4, for the fortification of milk are: (1) MK-7 has an extended half-life time compared to MK-4 (approximately 3 days vs. 1 h) and because of that vitamin K status improves during the period of consumption and shows less daily variation [14]; and (2) MK-7 seems to be effective in much lower daily amounts (100 μg) than MK-4 (45 mg). From a safety point of view and mainly considering the effect of high doses of vitamin K on hemostasis, the dose–effect difference between MK-7 and MK-4 is of great importance when vitamin K is used to fortify staple food products [14].

Subjects in the three intervention groups were advised to consume two portions of fortified low fat milk and yoghurt on a daily basis and attended biweekly nutrition and lifestyle counselling sessions. The intervention scheme was based on a combined application of the Health Belief Model [15] and the Social Cognitive Theory [16] aiming to increase subjects' awareness of health issues, primarily related to osteoporosis, but also to improve their self-efficacy in adopting healthier lifestyle and dietary patterns. On the other hand, no intervention was delivered to the CO group. More information on the sampling procedures and inclusion criteria can be found elsewhere [10].

At baseline and follow-up examinations, the following measurements were obtained. Dietary intake data were collected at baseline and follow-up with the use of three 24-h recalls [10]. Furthermore, physical activity levels were assessed by recording the number of steps for 1 week with the use of waist-mounted pedometers (Yamax SW-200 Digiwalker). Body weight and standing height were measured in light clothing and with no shoes using a digital scale (Seca Alpha, model 770; Seca, Hamburg, Germany) with an accuracy of ±100 g and a commercial stadiometer (Leicester Height Measure; Invicta Plastics Ltd, Oadby, Leics, UK) to the nearest 0.5 cm, respectively. Body mass index (BMI) was calculated as weight (kg) divided by height squared (m^2). Quantitative data on bone mineral density (BMD, g/cm^2) in the lumbar spine (L2–L4), hip (i.e. total proximal femur, femoral neck, trochanter, intertrochanter, Ward's triangle) and total body (i.e. total and segmental BMD, lean and fat mass) were collected using DXA (Lunar DPX-MD, Madison, USA) with the analysis software version 4.6. Furthermore, calcaneal QUS measurements were conducted for both the left and right heel with the SAHARA Clinical Bone Sonometer (Hologic, Inc., Waltham, MA, USA). Broadband ultrasound attenuation and speed of sound were measured at a fixed region in the mid-calcaneus. An estimate of heel BMD (eBMD, g/cm^2) was derived from these measurements. More details on QUS measurements, calculations, and standardization procedures are presented elsewhere [17].

Subjects with less than 75% compliance for any of the supplemented key nutrients were excluded, resulting to a total of 115 subjects. Repeated measures analysis of variance (ANOVA) was used to compare the differences with respect to the QUS and BMD changes among the four study groups. All statistical analysis was conducted with SPSS version 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). The level of statistical significance was set at $P < 0.05$.

Results

No significant differences were observed between study groups with respect to baseline characteristics, such as age, elapsed time since menopause, weight, height, BMI, fat and lean body mass (Table 1). However, drop-out of subjects from baseline to follow-up inevitably led to significant baseline differences in L2–L4 BMD among the four study groups ($P = 0.028$) (Table 2). Furthermore, no significant differences were observed in the changes of BMI and percent of fat mass levels among the four study groups

from baseline to follow-up (data not shown in Tables). On the contrary, the increases in the average daily number of steps recorded by subjects in the three dietary intervention groups were found to differ significantly compared to the change observed in the CO group ($P = 0.003$) (Table 2). As far as dietary indices were concerned, no significant differences were observed between groups with regard to the changes in energy and macronutrient (i.e. total fat, carbohydrates and protein) intake (data not shown in Tables), while all three dietary intervention groups significantly increased their intakes of calcium and vitamin D to higher levels compared to the CO group ($P = 0.001$). Similarly, the increases observed for vitamin K intake were significantly higher in the CaDK1 and CaDK2 than the changes in the CaD and CO groups ($P = 0.001$) (Table 2). Regarding BMD changes assessed by DXA (Table 2), all three dietary intervention groups were found to have significantly higher increases in total body BMD compared to the decrease observed in the CO group ($P = 0.001$). Furthermore, the significant decrease observed for L2–L4 BMD in the CO group was found to differ significantly from the changes observed in the CaDK1 and CaDK2 groups ($P = 0.001$). Finally, no significant differences were observed between groups with respect to changes in QUS parameters, such as eBMD (Table 2).

Discussion

The present study showed that a 12-month intervention program, which combined nutrition and lifestyle counselling with consumption of fortified milk and yoghurt, managed to induce certain favourable changes in behavioral (i.e. dietary and physical activity) and bone mass indices of postmenopausal women. Specifically, the intakes of calcium and vitamin D significantly increased in all three dietary intervention groups, reaching the recommended Adequate Intake (AI) levels (i.e. 1200 mg and 10 μg per day, respectively) [18] throughout the intervention period. Additionally, vitamin K intake significantly increased in the CaDK1 and CaDK2 groups, leading to doses that were twice as high as the recommended AI level of 90 μg per day [18]. As far as physical activity levels were concerned, significant increases were observed in all three intervention groups by more than 2000 steps per day, reaching an average of 8000 to 9000 steps per day. However, other similar studies have confronted difficulties in motivating middle-aged women already having a sedentary lifestyle to become more active [10, 12], possibly due to the use of subjective methods (i.e. questionnaires) to assess changes in physical activity levels.

The effect of the intervention on BMD should be attributed to the changes induced both in diet and in physical activity levels of the intervention subjects. According to the results derived from the DXA measurements, the findings of the present study revealed more favourable changes over the intervention period in total body BMD in the three intervention groups compared to the CO group (Table 2). Similarly, other intervention studies showed that total dietary calcium intake of 1200 mg per day or higher was adequate to prevent bone loss from the total body, lumbar spine, femoral neck and greater trochanter in postmenopausal women [13, 19], especially when combined with increased vitamin D intake [10, 20]. However, there is limited scientific evidence available regarding the exact effect of vitamin K supplementation in low concentrations on bone mass in humans [6–9, 21–24]. The present study showed more favourable changes in lumbar spine (L2–L4) BMD for the CaDK1 and CaDK2 groups compared to the CaD and CO groups. These changes could probably point to additional site-specific skeletal benefits, derived from increased vitamin K intakes, which mainly apply to the highly metabolically active trabecular (cancellous) but not to the cortical (compact) bone tissue [21]. Similar changes have been reported by another 2-year randomized controlled intervention study that combined vitamin K_1 and vitamin D supplementation [21]. Stimulation of γ-carboxylation of

Table 1 Baseline descriptive characteristics of the study participants presented by study group

	CO ($n = 39$)	CaD ($n = 26$)	CaDK1 ($n = 26$)	CaDK2 ($n = 24$)	P value*
Age (years)	62.4 (5.3)	62.5 (6.5)	60.9 (5.3)	62.0 (6.4)	0.728
Time since menopause (years)	12.8 (6.4)	11.4 (6.6)	10.4 (6.0)	12.9 (8.8)	0.424
Weight (kg)	72.2 (10.5)	69.7 (11.8)	75.2 (13.0)	71.5 (9.9)	0.372
Height (cm)	155.3 (5.6)	154.4 (5.2)	158.1 (4.4)	156.3 (5.3)	0.056
BMI (kg/m^2)	29.9 (4.2)	29.4 (4.4)	30.1 (5.2)	29.4 (3.8)	0.921
Lean body mass (% of body weight)	51.4 (7.2)	52.6 (5.7)	53.0 (4.9)	52.3 (4.7)	0.727
Fat body mass (% of body weight)	42.4 (5.9)	42.7 (6.7)	42.7 (4.8)	42.9 (5.4)	0.991

All data are presented as mean (SD)

* P values were evaluated by using one-way ANOVA

Table 2 Changes in dietary, physical activity and bone mineral density in the four study groups based on dual energy X-ray absorptiometry and quantitative ultrasound measurements

	Baseline [mean (SD)]	Follow-up [mean (SD)]	12-Month change [mean change (95% CI)]	*P* value (treatment × time)
Dietary changes				
Calcium (mg/day)				0.015
CO ($n = 39$)	789.6 (213.5)	781.3 (475.5)	−8.3 (−151.5 to 134.9)	
CaD ($n = 26$)	860.8 (230.7)	1188.5‡ (363.4)	327.7 (152.4 to 503.1)	
CaDK1 ($n = 26$)	831.7 (362.6)	1077.2‡ (356.5)	245.4 (70.1 to 420.8)	
CaDK2 ($n = 24$)	849.7 (250.9)	1068.5‡ (313.5)	218.8 (36.3 to 401.3)	
P value (treatment effect)	0.711	0.001		
Vitamin D (μg/day)				0.001
CO ($n = 39$)	0.890 (0.660)	0.954 (1.243)	0.064 (−1.199 to 1.328)	
CaD ($n = 26$)	1.021 (0.815)	9.773‡ (4.722)	8.752 (7.204 to 10.29)	
CaDK1 ($n = 26$)	1.015 (1.139)	9.414‡ (4.886)	8.399 (6.851 to 9.947)	
CaDK2 ($n = 24$)	1.027 (0.748)	10.179‡ (4.390)	9.152 (7.541 to 10.76)	
P value (treatment effect)	0.889	0.001		
Vitamin K (μg/day)				0.001
CO ($n = 39$)	80.2 (43.0)	145.3 (184.8)	65.2 (−1.1 to 129.3)	
CaD ($n = 26$)	112.3 (68.1)	140.3 (159.0)	28.0 (−50.5 to 106.6)	
CaDK1 ($n = 26$)	119.1 119.8)	255.7‡,* (252.8)	136.7 (58.1 to 215.2)	
CaDK2 ($n = 24$)	121.2 (175.8)	209.1‡,* (111.0)	87.9 (6.2 to 169.7)	
P value (treatment effect)	0.358	0.001		
Physical activity change				
Steps (no/day)				0.003
CO ($n = 39$)	6356 (2655)	6832 (2364)	476.2 (−463.4 to 1415.8)	
CaD (n = 26)	7004 (4325)	9967‡ (3953)	2962.8 (1812.1 to 4113.6)	
CaDK1 (n = 26)	6977 (3242)	9393‡ (2688)	2415.7 (1264.9 to 3566.4)	
CaDK2 ($n = 24$)	5796 (2769)	8534‡ (1979)	2738.4 (1540.7 to 3936.2)	
P value (treatment effect)	0.500	0.001		
BMD changes derived from DXA				
Lumbar spine L2–L4 BMD (g/cm^2)				0.001
CO ($n = 39$)	1.134 (0.176)	1.101 (0.167)	−0.032 (−0.046 to −0.011)	
CaD ($n = 26$)	1.121 (0.158)	1.113 (0.160)	−0.008 (−0.011 to 0.030)	
CaDK1 ($n = 26$)	1.256 (0.192)	1.273‡ (0.195)	0.016‡ (−0.005 to 0.036)	
CaDK2 ($n = 24$)	1.165 (0.169)	1.171‡ (0.158)	0.006‡ (−0.018 to 0.026)	
P value (treatment effect)	0.028	0.001		
Total body BMD (g/cm^2)				0.001
CO ($n = 39$)	1.095 (0.079)	1.094 (0.079)	−0.001 (−0.008 to 0.005)	
CaD ($n = 26$)	1.112 (0.077)	1.135‡ (0.083)	0.024‡ (0.016 to 0.032)	
CaDK1 ($n = 26$)	1.117 (0.101)	1.129‡ (0.099)	0.013‡ (0.006 to 0.021)	
CaDK2 ($n = 24$)	1.105 (0.078)	1.117‡ (0.077)	0.013‡ (0.005 to 0.021)	
P value (treatment effect)	0.892	0.001		
BMD change derived from QUS				
eBMD (g/cm^2)				0.762
CO ($n = 39$)	0.472 (0.083)	0.461 (0.083)	−0.011 (−0.026 to 0.004)	
CaD ($n = 26$)	0.476 (0.091)	0.459 (0.081)	−0.016 (−0.035 to 0.002)	
CaDK1 ($n = 26$)	0.477 (0.116)	0.468 (0.110)	−0.008 (−0.026 to 0.010)	
CaDK2 ($n = 24$)	0.468 (0.115)	0.465 (0.097)	−0.003 (−0.021 to 0.016)	
P value (treatment effect)	0.990	0.988		

All *P* values are corrected for changes in physical activity levels. In the case of lumbar spine, BMD adjustment was also made for baseline values

‡ Statistically significant difference from CO group

* Statistically significant difference from CaD group

osteocalcin by vitamin K, a process that is necessary for proper bone formation and protection [25], could provide an explanation for the possible site-specific skeletal effect of vitamin K.

The significant BMD changes observed for subjects in the three intervention groups were not confirmed by changes in QUS parameters. Likewise, another similar dietary intervention study conducted with Greek postmenopausal women showed no significant changes in QUS parameters after 12 months of nutrition counselling combined with consumption of dairy products enriched with calcium and vitamin D [26], probably because QUS is less sensitive than DXA and more time is required for a significant response in QUS parameters [27]. Some researchers indicate that although QUS has a potential role in long-term monitoring of skeletal status changes, the period of time required to follow individual subjects remains 1.5–3 times that for conventional DXA measurements [28].

In conclusion, our findings showed that the holistic approach followed in the current study, combining nutrition and lifestyle counselling with the consumption of fortified milk and yoghurt, managed to induce favourable changes in dietary intake indices (i.e. calcium, vitamin D and vitamin K) and physical activity levels, as well as in total body BMD assessed by DXA, but not in QUS parameters. Furthermore, an additional benefit was observed for lumbar spine BMD for the groups supplemented with vitamin K_1 and K_2, probably indicating a site-specific skeletal effect of this nutrient. Further research is necessary to clarify the exact role of each one of these two vitamin K isomers on bone metabolism and BMD.

Acknowledgments The study was supported by a research grant from FrieslandCampina BV. The authors would like to thank Anastasia Vandorou, Katerina Kyriakou, Vasiliki Dede, Odysseas Androutsos, Konstantina Maragkopoulou, Efstathoula Argyri, Angeliki Giannopoulou, dieticians, for their valuable contribution in data collection and processing.

Conflict of interest YM also works as a part-time science and nutrition consultant for FrieslandCampina Hellas. AS also works as a cluser leader Nutrition for FrieslandCampina BV. The study sponsor had no role in the collection and analysis of the data, the writing of the manuscript, and the submission of the paper. None of the other authors had any potential conflict of interest.

References

1. Harvey N, Dennison E, Cooper C (2010) Osteoporosis: impact on health and economics. Nat Rev Rheumatol 6:99–105
2. NIH Consensus Conference (1994) Optimal calcium intake. NIH Consensus Development panel on optimal calcium intake. JAMA 272:1942–1948
3. Mosekilde L (2005) Vitamin D and the elderly. Clin Endocrinol (Oxf) 62:265–281
4. Calvo MS, Whiting SJ, Barton CN (2005) Vitamin D intake: a global perspective of current status. J Nutr 135:310–316
5. Rapuri PB, Kinyamu HK, Gallagher JC, Haynatzka V (2002) Seasonal changes in calciotropic hormones, bone markers, and bone mineral density in elderly women. J Clin Endocrinol Metab 87:2024–2032
6. Iwamoto J, Takeda T, Ichimura S (2001) Effect of menatetrenone on bone mineral density and incidence of vertebral fractures in postmenopausal women with osteoporosis: a comparison with the effect of etidronate. J Orthop Sci 6:487–492
7. Cheung AM, Tile L, Lee Y, Tomlinson G, Hawker G, Scher J, Hu H, Vieth R, Thompson L, Jamal S, Josse R (2008) Vitamin K supplementation in postmenopausal women with osteopenia (ECKO trial): a randomized controlled trial. PLoS Med 5:e196
8. Shiraki M, Shiraki Y, Aoki C, Miura M (2000) Vitamin K2 (menatetrenone) effectively prevents fractures and sustains lumbar bone mineral density in osteoporosis. J Bone Miner Res 15:515–521
9. Ishida Y, Kawai S (2004) Comparative efficacy of hormone replacement therapy, etidronate, calcitonin, alfacalcidol, and vitamin K in postmenopausal women with osteoporosis: the Yamaguchi Osteoporosis Prevention Study. Am J Med 117:549–555
10. Manios Y, Moschonis G, Trovas G, Lyritis GP (2007) Changes in biochemical indexes of bone metabolism and bone mineral density after a 12-mo dietary intervention program: the Postmenopausal Health Study. Am J Clin Nutr 86:781–789
11. Chee WS, Suriah AR, Chan SP, Zaitun Y, Chan YM (2003) The effect of milk supplementation on bone mineral density in postmenopausal Chinese women in Malaysia. Osteoporos Int 14:828–834
12. Prince R, Devine A, Dick I, Criddle A, Kerr D, Kent N, Price R, Randell A (1995) The effects of calcium supplementation (milk powder or tablets) and exercise on bone density in postmenopausal women. J Bone Miner Res 10:1068–1075
13. Storm D, Eslin R, Porter ES, Musgrave K, Vereault D, Patton C, Kessenich C, Mohan S, Chen T, Holick MF, Rosen CJ (1998) Calcium supplementation prevents seasonal bone loss and changes in biochemical markers of bone turnover in elderly New England women: a randomized placebo-controlled trial. J Clin Endocrinol Metab 83:3817–3825
14. Schurgers LJ, Teunissen KJ, Hamulyak K, Knapen MH, Vik H, Vermeer C (2007) Vitamin K-containing dietary supplements: comparison of synthetic vitamin K1 and natto-derived menaquinone-7. Blood 109:3279–3283
15. Janz NK, Becker MH (1984) The health belief model: a decade later. Health Educ Q 11:1–47
16. Bandura A, Adams NE, Beyer J (1977) Cognitive processes mediating behavioral change. J Pers Soc Psychol 35:125–139
17. Magkos F, Manios Y, Babaroutsi E, Sidossis LS (2005) Quantitative ultrasound calcaneus measurements: normative data for the Greek population. Osteoporos Int 16:280–288
18. Institute of Medicine Food and Nutrition Board (2001) Dietary reference intakes: applications in dietary assessment. National Academy Press, Washington
19. Riggs BL, O'Fallon WM, Muhs J, O'Connor MK, Kumar R, Melton LJ 3rd (1998) Long-term effects of calcium supplementation on serum parathyroid hormone level, bone turnover, and bone loss in elderly women. J Bone Miner Res 13:168–174
20. Moschonis G, Katsaroli I, Lyritis GP, Manios Y (2010) The effects of a 30-month dietary intervention on bone mineral density: The Postmenopausal Health Study. Br J Nutr. 104: 100–107
21. Bolton-Smith C, McMurdo ME, Paterson CR, Mole PA, Harvey JM, Fenton ST, Prynne CJ, Mishra GD, Shearer MJ (2007) Two-year randomized controlled trial of vitamin K1 (phylloquinone)

and vitamin D3 plus calcium on the bone health of older women. J Bone Miner Res 22:509–519

22. Cockayne S, Adamson J, Lanham-New S, Shearer MJ, Gilbody S, Torgerson DJ (2006) Vitamin K and the prevention of fractures: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Arch Intern Med 166:1256–1261
23. Schaafsma A, Muskiet FA, Storm H, Hofstede GJ, Pakan I, Van der Veer E (2000) Vitamin D(3) and vitamin K(1) supplementation of Dutch postmenopausal women with normal and low bone mineral densities: effects on serum 25-hydroxyvitamin D and carboxylated osteocalcin. Eur J Clin Nutr 54:626–631
24. Vermeer C, Shearer MJ, Zittermann A, Bolton-Smith C, Szulc P, Hodges S, Walter P, Rambeck W, Stocklin E, Weber P (2004) Beyond deficiency: potential benefits of increased intakes of vitamin K for bone and vascular health. Eur J Nutr 43:325–335
25. Schaafsma A, de Vries PJ, Saris WH (2001) Delay of natural bone loss by higher intakes of specific minerals and vitamins. Crit Rev Food Sci Nutr 41:225–249
26. Moschonis G, Manios Y (2006) Skeletal site-dependent response of bone mineral density and quantitative ultrasound parameters following a 12-month dietary intervention using dairy products fortified with calcium and vitamin D: the Postmenopausal Health Study. Br J Nutr 96:1140–1148
27. Rosenthall L, Caminis J, Tenehouse A (1999) Calcaneal ultrasonometry: response to treatment in comparison with dual X-ray absorptiometry measurements of the lumbar spine and femur. Calcif Tissue Int 64:200–204
28. Sahota O, San P, Cawte SA, Pearson D, Hosking DJ (2000) A comparison of the longitudinal changes in quantitative ultrasound with dual-energy X-ray absorptiometry: the four-year effects of hormone replacement therapy. Osteoporos Int 11:52–58

Calcif Tissue Int (2012) 90:251–262
DOI 10.1007/s00223-012-9571-z

ORIGINAL RESEARCH

Changes in Parameters of Bone Metabolism in Postmenopausal Women Following a 12-Month Intervention Period Using Dairy Products Enriched with Calcium, Vitamin D, and Phylloquinone (Vitamin K_1) or Menaquinone-7 (Vitamin K_2): The Postmenopausal Health Study II

Spyridon Kanellakis · George Moschonis · Roxane Tenta · Anne Schaafsma · Ellen G. H. M. van den Heuvel · Nikolaos Papaioannou · George Lyritis · Yannis Manios

Received: 5 February 2011 / Accepted: 19 December 2011 / Published online: 4 March 2012
© Springer Science+Business Media, LLC 2012

Abstract The objective of the present study was to examine the effect of dairy products enriched with calcium, vitamin D_3, and phylloquinone (vitamin K_1) or menaquinone-7 (vitamin K_2) on parameters of bone metabolism in postmenopausal women following a 12-month intervention. Postmenopausal women were divided into three intervention groups and a control group (CG). All three intervention groups attended biweekly sessions and received fortified dairy products providing daily 800 mg of calcium and 10 μg of vitamin D_3 (CaD). Furthermore, in two of the three intervention groups the dairy products were also enriched with vitamin K, providing daily 100 μg of either phylloquinone (CaDK1) or menaquinone-7 (CaDK2). The increase observed for serum 25(OH)D levels in all intervention groups and the increase observed for serum IGF-I levels in the CaDK2 group differed significantly compared to the changes observed in CG ($P = 0.010$ and $P = 0.028$, respectively). Furthermore, both the CaDK1 and CaDK2 groups had a significantly lower mean serum undercarboxylated osteocalcin to osteocalcin ratio and urine deoxypyridinoline levels at follow-up compared to the CaD and CG groups ($P = 0.001$ and $P = 0.047$, respectively). Significant increases in total-body BMD were observed in all intervention groups compared to CG ($P < 0.05$), while significant increases in lumbar spine BMD were observed only for CaDK1 and CaDK2 compared to CG ($P < 0.05$) after controlling for changes in serum 25(OH)D levels and dietary calcium intake. In conclusion, the present study revealed more favorable changes in bone metabolism and bone mass indices for the two vitamin K-supplemented groups, mainly reflected in the suppression of serum levels of bone remodeling indices and in the more positive changes in lumbar spine BMD for these two study groups.

Keywords Vitamin K · Vitamin D · Calcium · Bone metabolism

A. Schaafsma and E. G. H. M. van den Heuvel have consultant/advisory role to FrieslandCampina BV. Y. Manios has consultant/advisory role to FrieslandCampina Hellas. All other authors have stated that they have no conflict of interest.

S. Kanellakis · G. Moschonis · R. Tenta · Y. Manios (✉)
Department of Nutrition and Dietetics, Harokopio University, 70, El. Venizelou Ave, 176 71, Kallithea, Athens, Greece
e-mail: manios@hua.gr

A. Schaafsma · E. G. H. M. van den Heuvel
FrieslandCampina, Stationsplein 4, 3818 LE Amersfoort, The Netherlands

N. Papaioannou · G. Lyritis
Laboratory for the Research of the Musculoskeletal System, School of Medicine, University of Athens, Athens, Greece

The skeleton is a metabolically active organ that undergoes continuous remodeling throughout life. The activities of bone-forming osteoblasts and bone-resorbing osteoclasts are controlled by a variety of hormones, mainly parathyroid hormone (PTH) and calcitriol [1]. During bone resorption, osteoclastic activity leads to the release of breakdown products including pyridinium cross-links, such as pyridinoline (Pyr) and deoxypyridinoline (D-Pyr)

[2]. In healthy bone, the resorption cavity created by osteoclasts is completely filled with new osteoid material secreted by active osteoblasts, such as osteocalcin (OC) collagen and hydroxyapatite. Besides bone remodeling indices, the identification of the osteoclastogenesis inducer receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand (RANKL), its cognate receptor RANK, and its decoy receptor osteoprotegerin (OPG) has also contributed enormously to our understanding of the molecular mechanisms involved in osteoclast differentiation and activity. RANKL binds to RANK on the osteoclastic precursors or mature osteoclasts and promotes osteoclastogenesis and bone resorption, while OPG strongly inhibits bone resorption by binding to its ligand, RANKL, and thereby blocking the interaction between RANKL and RANK [3, 4]. Prevention of pathological bone loss therefore depends on an appreciation of the mechanisms by which osteoclasts differentiate from their precursors and degrade the skeleton [5].

Disorders of skeletal insufficiency, such as osteoporosis, typically represent enhanced osteoclastic bone resorption relative to bone formation. As life expectancy in developed countries is increasing, osteoporosis is becoming a major public health problem of great concern, particularly for susceptible population groups such as postmenopausal women [6]. Women have an increased rate of bone loss during and after menopause, which has been shown to slow down later [7, 8]. Some of the main risk factors for the progression and development of bone loss in these population groups are related to lifestyle and particularly to inadequate dietary intake of certain essential for bone health micronutrients (i.e., calcium and vitamin D) [6]. In addition to calcium and vitamin D, recent evidence suggests that supplementation with menaquinone-7 seems to have a favorable role on bone metabolism and bone mass maintenance and to produce a significant reduction especially in vertebral fractures; still, the available literature is contradictory regarding the exact effect of vitamin K on bone metabolism [9–12]. Although supplementary distribution of all of these bone metabolism nutrients is one approach to achieving adequate intakes, consumption of fortified staple foods, such as dairy products, has also been proven to be an effective approach [13–17].

The aim of this study was to examine the effect of nutrition and lifestyle counseling combined with consumption of milk enriched with calcium, vitamin D_3, and phylloquinone or menaquinone-7 on daily nutrient intakes and physical activity levels, biochemical indices of bone metabolism, and BMD of postmenopausal women. Furthermore, the current study aimed to specifying any possible different actions of phylloquinone and menaquinone-7 on bone metabolism and BMD.

Methods

Sampling

First Screening

In March 2008 volunteers were invited to participate by informational brochures and posters distributed in public buildings and community centers in municipalities from the wider district of Athens. The study was approved by the Ethical Committee of Harokopio University of Athens and conducted in accordance with the code of ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans. The study protocol registration number was NTR1396. Through the initial screening of the study a sample of 720 postmenopausal women volunteered to participate. The first screening comprised a short questionnaire, primarily focusing on gathering information on women's medical history, demographic data, diet, physical activity, and smoking habits. Furthermore, the bone status of all volunteers was assessed by calcaneal quantitative ultrasound (QUS) measurements, carried out by the SAHARA Clinical Bone Sonometer (Hologic, Waltham, MA). Through this initial screening those women diagnosed as having a T score lower than –2.5, taking medications (i.e., thiazide diuretics, glucocorticoids) and/or dietary supplements (calcium, magnesium, phosphate, or vitamin D) that affect bone metabolism; having any kind of degenerative chronic disease (i.e., diabetes, nephrolithiasis, heart disease, cancer, hyper- or hypothyroidism, hyperparathyroidism, impaired renal and liver function); smoking more than 5 cigarettes/day; having a habitual dietary calcium intake, assessed by a valid food-frequency questionnaire [18], of >800 mg/day; being at menopause (defined as no menses during the past 60 months) for <5 years; and being unwilling to participate in a 12-month intervention program were excluded from the second screening of the study.

Second Screening

After the initial screening, 219 women (age 55–65 years) satisfying the inclusion criteria were identified and invited to participate at the second screening of the study. During the second screening all volunteers underwent dual-energy X-ray absorptiometry (DXA; DPX-MD; Lunar, Madison, WI) as well as hematological and biochemical examinations, comprising erythrocyte sedimentation rate (ESR) and serum calcium, phosphorus, glutamic-oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminases, gamma-glutamyl transferase, albumin, alkaline phosphatase, and creatinine levels. Forty-six women found to be osteoporotic, according to the data provided by the DXA examination, or

having abnormal values on the aforementioned blood indices were excluded from the study. This second screening yielded 173 eligible women who prior to their entry to the study signed detailed consent forms to participate and proceeded in the intervention study. The intervention component of the study was initiated in October 2008.

Study Groups and Intervention

These 173 eligible women were randomly assigned to three intervention groups and one control group using a table of random digits. More specifically, the three intervention groups comprised a group receiving 800 mg of calcium and 10 μg of vitamin D_3 (CaD, $n = 38$); a group receiving 800 mg of calcium, 10 μg of vitamin D_3, and 100 μg phylloquinone (0.221 μmol; CaDK1, $n = 38$); and a group receiving 800 mg of calcium, 10 μg of vitamin D_3, and 100 μg menaquinone-7 (0.154 μmol; CaDK2, $n = 39$) via fortified milk and yoghurt. No dietary intervention was delivered to the control group (CG), and they continued with their usual diet throughout the 12-month intervention period. Subjects in the three intervention groups were advised to consume one portion of fortified low-fat milk and one portion of fortified low-fat yoghurt on a daily basis. In order to avoid excess caloric intake, subjects in the three intervention groups were advised to substitute other dairy products in their diet with those provided. Subjects in the three intervention groups also attended nutrition and lifestyle counseling sessions that were held biweekly within the setting of the university. The theoretical framework upon which these nutrition and lifestyle counseling sessions were based was a combined application of the health belief model [19] and social cognitive theory [20]. More specifically, the aim of the sessions delivered to the three intervention groups was to increase awareness of the subjects on health issues, primarily related to osteoporosis, but also to motivate them to change certain lifestyle and dietary habits in order to improve their health status. The first sessions primarily focused on educating the subjects on the pathophysiology of osteoporosis as well as the risk factors (health-related behaviors) related to its development. Gradually, the sessions became more interactive and emphasis was given to guiding and assisting the subjects in changing their dietary habits. Finally, all study groups, including CG, were given the results of medical examinations as well as general health and nutrition guidelines right after every screening phase.

Assessment of the Effectiveness of the Intervention

During the intervention period the subjects from all study groups were invited to go through certain examinations primarily focusing on the assessment of behavioral and clinical indices. The data obtained from the second screening of the study were used as baseline data. Follow-up examinations took place after 12 months of intervention at October 2009. At baseline and follow-up examinations the following measurements were obtained.

Nutritional Assessment

The 24-hour recall technique was used to collect information on dietary intake for a total of 3 days—2 weekdays and 1 weekend day, preferably a Sunday. These data were obtained during scheduled interviews with the study participants at the university. All interviewers were rigorously trained to minimize interviewer effects. Respondents were asked to recall the type and amount of any foods and beverages consumed during the previous day (i.e., 24 h) in chronological order—i.e., from the time they woke up in the morning to the same time on the day of the examination. To improve the accuracy of food descriptions and portion sizes, standard household measures (e.g., cups and tablespoons) and picture food models (Western Dairy Council, Thornton, CO) were used during interviews to define amounts when appropriate. Food intake data were analyzed using NUTRITIONIST V diet analysis software (version 2.1; First Databank, San Bruno, CA), which was extensively amended to include food composition tables for Greek foods and recipes [21, 22] and chemically analyzed commercial food items widely consumed in Greece.

Physical Activity

Physical activity was assessed by recording the number of steps for 1 week with the use of waist-mounted pedometers (Yamax SW-200 Digiwalker; Yamax, Tokyo, Japan) that were provided to all subjects at baseline and follow-up. The pedometer was positioned according to the manufacturer's instructions on the right waistband in line with the patella. This pedometer uses a spring-suspended horizontal lever arm that moves up and down in response to the hip's vertical accelerations. This movement opens and closes an electrical circuit; the lever arm makes an electrical contact, and a step is registered. The pedometer used in the present study displayed the cumulative number of steps from the time it was worn in the morning until the time it was removed at night, i.e., before bedtime.

Anthropometry

Anthropometric measurements were carried out during the initial screening as well as at baseline and follow-up examinations. At all aforementioned time points, body weight and standing height were measured in light clothing

and with no shoes using a digital scale (Seca Alpha, model 770; Seca, Hamburg, Germany) with an accuracy of ± 100 g and a commercial stadiometer (Leicester Height Measure; Invicta Plastics, Oadby, UK) to the nearest 0.5 cm. Body mass index (BMI) was calculated as weight (kg) divided by height squared (m^2).

Biochemical Indices

Blood Indices

Early-morning venous blood samples were obtained from each subject for biochemical screening tests following a 12-hour overnight fast. Professional staff performed venipuncture to obtain a maximum of 25 mL blood. The blood was collected in tubes with no added anticoagulant, where it was allowed to clot for approximately 2 h for serum separation. Centrifugation for serum separation was conducted at 3,000 rpm for 15 min. A part of the collected serum was used for biochemical analyses, while aliquots of 1.5 mL from the remaining serum were pipetted into plastic Eppendorf tubes and stored at –80°C.

Biochemical analyses included radioimmunoassay for amino-terminal procollagen 1 extension peptide (P1NP) levels (Orion Diagnostica, Espoo, Finland); immunoradiometric assay for total and undercarboxylated osteocalcin (OC and UnOC, respectively) before and after extraction with hydroxyapatite (Medgenix-H-Ost, Fleurus, Belgium). For extraction with hydroxyapatite 250 mL serum were incubated with 7.5 mg hydroxyapatite (calcium phosphate tribasic type IV; Sigma, St. Louis, MO) in an Eppendorf tube, mixed end over end for 1 h at 4°C, and then centrifuged at 3,000 rpm for 15 min. For intact PTH levels (Nichols Advantage®; Nichols Institute Diagnostics, San Clemente, CA), an enzyme immunoassay for matrix-Gla protein (Biomedica, Vienna, Austria) and a chemiluminescence immunoassay for 25-hydroxyvitamin D ($25[OH]D_3$) and insulin-like growth factor I (IGF-I, Nichols Advantage) were performed. Furthermore, the ELISA method was used for the quantitative determination of human OPG and human ampli-sRANKL in duplicate serum samples of the participants by the Biomedica immunoassay kits. Both baseline and follow-up blood samples were analyzed at the end of the trial so as to avoid interassay bias.

Urine Indices

Second-morning urine samples were collected prior to any food or drink consumption, at baseline and follow-up. Samples were prepared with 2 mL of HCl 6 N and stored at –80°C until analysis. Bone resorption indices of hydrolyzed Pyr and D-Pyr were analyzed using HPLC (Chromsystems Instruments & Chemicals, Munich, Germany). Urinary excretion of Pyr and D-Pyr was corrected for urinary creatinine.

BMD and Total-Body Composition Measurements

BMD (g/cm^2) of the lumbar spine (L2–L4), hip (i.e., total proximal femur, femoral neck, trochanter, intertrochanter, Ward's triangle), and total body (i.e., total and segmental BMD, lean and fat mass) were measured at baseline and at 12-month follow-up examination, using DXA with the analysis software version 4.6. The BMDs of regional skeletal sites (i.e., arms, legs, pelvis, and total spine) were extracted from the analyses of total-body scans. Correct positioning of each study participant at repeated measures was ensured by geometrically positioning subjects exactly as indicated in the manufacturer's manual. Furthermore, all follow-up scans were analyzed by using the compare-scans mode of the equipment's software in order to define exactly the same profile lines at baseline and follow-up measurements for each subject. A daily quality-assurance check was performed at each time point of follow-up examination, using a calibration standard of known composition, provided by the manufacturer. Before the beginning of the study the coefficients of variation were estimated and found to be 0.7% for total-body BMD and to range from 1% to 2% for other regional skeletal sites. Scans were performed in the morning by an experienced technician, who was blinded to the therapy.

Compliance

Compliance to the intervention scheme was assessed via information obtained at the biweekly sessions, combined with data obtained from the nutritional assessments conducted at baseline and follow-up examinations. These data showed that compliance to the intervention scheme reached 95%. Subjects with compliance <75% for any of the supplemented key nutrients were excluded, resulting in a total of 115 subjects. The sample sizes in the four study groups (i.e., 39 in CG, 26 in CaD, 26 in CaDK1, and 24 in CaDK2) were adequate since we achieved statistical power >90% for standardized differences for the main outcomes of our study (i.e., BMD indices) between groups of >2.5 (SE = 1.4) with a probability of Type I error of <0.05.

Statistical Analysis

All data are reported as means and standard deviations and as mean percentage changes (with 95% CI) over baseline. The Kolmogorov–Smirnov test was used to determine the normality of distribution of the examined variables. Differences in baseline characteristics among the three groups

Table 1 Changes in physical activity, body mass and body composition indices

	Baseline		Follow-up		P (treatment × time)
	Mean	(SD)	Mean	(SD)	
Steps (n/day)					
CG ($n = 39$)	6,356	(2,655)	6,832	(2,364)	0.003
CaD ($n = 26$)	7,004	(4,325)	9,967*	(3,953)	
CaDK1 ($n = 26$)	6,977	(3,242)	9,393*	(2,688)	
CaDK2 ($n = 24$)	5,796	(2,769)	8,534*	(1,979)	
P (treatment effect)	0.500		0.001		
BMI (kg/cm^2)					
CG ($n = 39$)	29.94	(4.20)	29.82	(4.42)	0.753
CaD ($n = 26$)	29.40	(4.44)	29.58	(4.64)	
CaDK1 ($n = 26$)	30.06	(5.18)	30.24	(4.98))	
CaDK2 ($n = 24$)	29.43	(3.78)	29.68	(4.20)	
P (treatment effect)	0.921		0.957		
Total fat mass (% of body weight)					
CG ($n = 39$)	43.46	(5.66)	43.07	(5.91)	0.299
CaD ($n = 26$)	43.31	(6.41)	41.64	(5.97)	
CaDK1 ($n = 26$)	42.98	(4.90)	42.35	(4.48)	
CaDK2 ($n = 24$)	43.58	(5.20)	42.66	(4.24)	
P (treatment effect)	0.982		0.760		

* $P < 0.05$ compared to CG

of women were evaluated using one-way analysis of variance (ANOVA). Repeated measures ANOVA was used to evaluate the significance of the differences between groups at baseline and 12 months of follow-up (treatment effect), the significance of the changes observed within each group (time effect), and the effect of treatment × time interaction (i.e., the significance of the differences among groups regarding the changes observed from baseline to follow-up) after controlling for certain potential covariates. The between-group factor was the study groups; the within-group factor was the time point of measurement (i.e., baseline and 12 months of intervention). The inflation in Type I error due to multiple post hoc comparisons between groups was corrected using the Bonferroni rule. In case of variables being not normally distributed, the Friedman test for repeated measures was used. All P values are two-tailed. Statistical analysis was conducted with SPSS version 13.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL). The level of statistical significance was set at $P \leq 0.05$.

Results

The mean age of study participants at baseline was 62.0 (SD = 5.8) years (range 54–73), the average elapsed time since menopause was 11.9 (SD = 6.9) years, and the mean educational level was 10.4 (SD = 4.0) years, with no significant differences among study groups. Furthermore, no significant differences were observed between study groups in baseline hematological indices of inflammation (i.e., ESR) and in a wide range of biochemical indices mainly of renal and hepatic function (data not shown), indicating homogeneity among groups at baseline.

Tables 1 and 2 summarize the differences among groups at baseline and 12 months of follow-up with respect to certain anthropometric (i.e., BMI), body composition (i.e., percent fat mass), and behavioral (i.e., dietary intake and physical activity) indices. No significant differences were observed in the changes of BMI and percent of fat mass levels among the four study groups from baseline to follow-up. On the contrary, the increases in the average daily number of steps recorded by subjects in the three dietary intervention groups were found to differentiate significantly compared to the change observed in the CG ($P = 0.003$). Regarding dietary intake indices, no significant differences were observed among groups with respect to energy and macronutrient intake. Furthermore, subjects in all three dietary intervention groups were found to significantly increase their intakes of calcium, vitamin D, phosphorus, and magnesium from baseline, leading to significantly higher intakes at follow-up compared to the CG ($P = 0.001$). Similarly, dietary phylloquinone intake significantly increased from baseline in the CaDK1 group ($P = 0.001$). The additional intakes from phylloquinone and menaquinone-7 supplementation in the CaDK1 and CaDK2 groups, respectively, resulted in significantly higher overall vitamin K intakes in these groups compared to the CaD and CG groups ($P = 0.001$). There was no significant difference in dietary intakes of phylloquinone in the CaDK2 group at baseline and after 12 months.

Table 2 Changes in dietary intake indices during the intervention

	Baseline		Follow-up		*P* (treatment x time)
	Mean	(SD)	Mean	(SD)	
Energy (kJ/day)					0.111
CG ($n = 39$)	6,393.2	(853.5)	6,660.9	(2,912.1)	
CaD ($n = 26$)	6,656.7	(1,159.0)	7,008.2	(2,008.3)	
CaDK1 ($n = 26$)	6,623.3	(954.0)	6,543.8	(2,041.8)	
CaDK2 ($n = 24$)	6,401.5	(1,016.7)	6,079.4	(979.1)	
P (treatment effect)	0.626		0.529		
Protein intake (g/day)					0.371
CG ($n = 39$)	61.2	(14.1)	61.2	(35.6)	
CaD ($n = 26$)	61.8	(14.5)	72.8	(22.5)	
CaDK1 ($n = 26$)	61.8	(18.1)	72.6	(29.6)	
CaDK2 ($n = 24$)	62.7	(13.5)	61.7	(12.0)	
P (treatment effect)	0.984		0.201		
Carbohydrate (g/day)					0.192
CG ($n = 39$)	172.5	(33.9)	175.0	(85.9)	
CaD ($n = 26$)	177.1	(39.2)	195.9	(66.2)	
CaDK1 ($n = 26$)	169.5	(35.8)	165.2	(58.2)	
CaDK2 ($n = 24$)	167.1	(36.9)	163.6	(39.5)	
P (treatment effect)	0.783		0.303		
Fat (g/day)					0.061
CG ($n = 39$)	69.7	(15.9)	76.0	(32.7)	
CaD ($n = 26$)	75.0	(20.4)	71.2	(22.2)	
CaDK1 ($n = 26$)	75.9	(12.4)	71.0	(24.0)	
CaDK2 ($n = 24$)	70.9	(13.2)	64.6	(16.3)	
P (treatment effect)	0.359		0.405		
Calcium (mg/day)					0.015
CG ($n = 39$)	789.6	(213.5)	781.3	(475.5)	
CaD ($n = 26$)	860.8	(230.7)	1,188.5*	(363.4)	
CaDK1 ($n = 26$)	831.7	(362.6)	1,077.2*	(356.5)	
CaDK2 ($n = 24$)	849.7	(250.9)	1,068.5*	(313.5)	
P (treatment effect)	0.711		0.001		
Vitamin D (μg/day)					0.001
CG ($n = 39$)	0.890	(0.660)	0.954	(1.243)	
CaD ($n = 26$)	1.021	(0.815)	9.773*	(4.722)	
CaDK1 ($n = 26$)	1.015	(1.139)	9.414*	(4.886)	
CaDK2 ($n = 24$)	1.027	(0.748)	10.179*	(4.390)	
P (treatment effect)	0.889		0.001		
Phylloquinone (μg/day)					0.001
CG ($n = 39$)	80.2	(43.0)	145.3	(184.8)	
CaD ($n = 26$)	112.3	(68.1)	140.3	(159.0)	
CaDK1 ($n = 26$)	119.1	(119.8)	255.7*,**	(252.8)	
CaDK2 ($n = 24$)	121.2	(175.8)	111.2[a]	(108.4)	
P (treatment effect)	0.358		0.001		
Phosphorus (mg/day)					0.001
CG ($n = 39$)	1165.9	(283.8)	1182.3	(622.9)	
CaD ($n = 26$)	1231.7	(339.2)	1624.0*	(495.3)	
CaDK1 ($n = 26$)	1184.6	(347.1)	1511.3*	(456.2)	
CaDK2 ($n = 24$)	1258.1	(383.9)	1484.0*	(341.5)	

Table 2 continued

	Baseline		Follow-up		*P* (treatment x time)
	Mean	(SD)	Mean	(SD)	
P (treatment effect)	0.704		0.001		
Magnesium (mg/day)					0.001
CG ($n = 39$)	237.0	(45.7)	247.7	(142.1)	
CaD ($n = 26$)	267.7	(86.5)	410.5*	(103.0)	
CaDK1 ($n = 26$)	261.5	(76.9)	393.6*	(104.3)	
CaDK2 ($n = 24$)	277.4	(85.3)	363.1*	(66.3)	
P (treatment effect)	0.144		0.001		

[a] The CADK2 group at follow up had an additional intake of 97 ± 7.8 μg of meaquinone 7

* $P < 0.05$ compared to CG,
** $P < 0.05$ compared to CaD

According to the data presented in Table 3, regarding changes in hormonal and osteoclast differentiation molecules, significant treatment × time interaction effects were observed for serum IGF-I and 25(OH)D ($P = 0.028$ and $P = 0.001$, respectively) levels. Specifically, serum IGF-I levels increased significantly in the CaDK2 group and serum 25(OH)D levels increased significantly in both the CaDK1 and CaDK2 groups, resulting in higher mean serum IGF-I and 25(OH)D levels at follow-up, compared to the CG ($P = 0.036$ and $P = 0.010$, respectively). No other treatment × time interaction effect was observed. In this context, although OPG levels were not found to differentiate significantly among groups, they increased significantly in the CG and CaD groups (0.38, 95% CI 0.10–0.66, and 0.40, 95% CI 0.06–0.74, respectively).

The changes in serum and urine levels of biochemical indices of bone turnover are presented in Table 4. Regarding bone formation indices, a significant treatment × time interaction effect was found for serum percent UnOC, with the CaDK1 and CaDK2 groups having significantly lower levels at follow-up compared to the CaD and CG groups ($P = 0.001$). Furthermore, significant decreases in P1NP levels were also observed for CaD and CaDK1. Regarding bone resorption indices, urine Pyd significantly decreased in CaDK2, while urine D-Pyd was significantly reduced in both CaDK1 and CaDK2, leading to significantly lower follow-up levels in these two groups compared to CaD and CG ($P = 0.047$).

According to the data presented in Fig. 1, at the end of the 12-month intervention period all three dietary intervention groups were found to have significantly higher increases in total-body BMD compared to the decrease observed in CG ($P = 0.001$). Specifically, total-body BMD values observed at baseline and follow-up were, respectively, 1.112 (SD = 0.077) and 1.135 (SD = 0.083) g/cm^2 in CaD, 1.117 (SD = 0.101) and 1.129 (SD = 0.099) g/cm^2 in CaDK1, 1.105 (SD = 0.078) and 1.117 (SD = 0.077) g/cm^2 in CaDK2, as well as 1.095 (SD = 0.079) and 1.094 (SD = 0.079) g/cm^2 in CG. Furthermore, the changes for L2–L4 BMD observed in CaDK1 and CaDK2 were found to differentiate significantly ($P = 0.001$) compared to the decrease observed in CG. More specifically, L2–L4 BMD values observed at baseline and follow-up were, respectively, 1.256 (SD = 0.192) and 1.273 (SD = 0.0.195) g/cm^2 in CaDK1, 1.165 (SD 0.169) and 1.171 (SD = 0.158) g/cm^2 in CaDK2, 1.121 (SD = 0.158) and 1.113 (SD 0.160) g/cm^2 in CaD, as well as 1.134 (SD = 0.176) and 1.101 (SD = 0.167) g/cm^2 in CG. However, when the analysis presented in Fig. 1 was repeated controlling for serum 25(OH)D levels and dietary calcium intake, the significant differences observed for total-body BMD among the three intervention groups and the CG were lost ($P = 0.073$), while the differences observed for L2–L4 BMD among CADK1, CADK2, and CG remained significant ($P = 0.002$). No other significant differences among groups were observed regarding changes in pelvis, leg, arm, and hip BMD as described analytically elsewhere [23].

Discussion

As expected, the present study showed that the intake of calcium and vitamin D significantly increased in all three dietary intervention groups, reaching and remaining close to the recommended adequate intake (AI) levels (i.e., 1,200 mg and 10 μg per day, respectively) [24] throughout the intervention period. Consumption of the fortified dairy products also led to significant increases in magnesium intake, a nutrient which is also essential for bone mineralization [25]. Additionally, vitamin K intake significantly increased in the two intervention groups that consumed milk enriched with phylloquinone and menaquinone-7, leading to total dietary intakes that were more than twice the recommended AI level of 90 μg/day [24] but close to or still lower than recommendations based on latest scientific insights [26]. As far as physical activity levels were concerned, significant increases were observed in all three intervention groups by more than 2,000 steps per day. Contrary to the current findings, other similar studies have confronted difficulties in motivating middle-aged women who already have a sedentary lifestyle to become more active [13, 16, 27]. The use of subjective

Table 3 Changes in hormonal and osteoclast differentiation biochemical molecules

	Baseline		Follow-up		12-month change		
	Mean	(SD)	Mean	(SD)	Mean	(95% CI)	*P* (treatment × time)
Serum 25(OH)D (ng/mL)							0.001
CG ($n = 39$)	23.3	(7.7)	22.6	(13.4)	–0.7	(–2.6 to 1.2)	
CaD ($n = 26$)	22.8	(5.9)	24.4*	(5.2)	1.6	(–0.7 to 4.0)	
CaDK1 ($n = 26$)	23.2	(4.8)	25.7*	(5.0)	2.5	(0.1–4.8)	
CaDK2 ($n = 24$)	21.5	(5.5)	25.1*	(5.0)	3.6	(1.2–6.0)	
P (treatment effect)	0.835		0.010				
Serum PTH (pg/mL)							0.482
CG ($n = 39$)	44.6	(15.9)	44.7	(14.5)	0.08	(–3.5 to 3.6)	
CaD ($n = 26$)	43.6	(13.1)	42.0	(13.6)	–1.6	(–5.9 to 2.8)	
CaDK1 ($n = 26$)	47.3	(12.8)	44.2	(11.1)	–3.1	(–7.4 to 1.3)	
CaDK2 ($n = 24$)	47.5	(18.2)	44.7	(17.4)	–2.8	(–7.3 to 1.8)	
P (treatment effect)	0.565		0.525				
Serum IGF-I (ng/mL)							0.028
CG ($n = 39$)	116.3	(43.0)	109.8	(44.5)	–6.5	(–14.6 to 1.6)	
CaD ($n = 26$)	124.3	(37.1)	130.1	(41.1)	5.8	(–4.1 to 15.7)	
CaDK1 ($n = 26$)	128.8	(39.6)	134.7	(55.5)	5.9	(–4.1 to 15.8)	
CaDK2 ($n = 24$)	130.7	(62.5)	142.6*	(60.8)	11.9	(1.6–22.3)	
P (treatment effect)	0.627		0.036				
Serum RANKL (pg/mL)							0.234
CG ($n = 39$)	0.088	(0.18)	0.087	(0.19)	–0.001	(–0.026 to 0.023)	
CaD ($n = 26$)	0.093	(0.15)	0.118	(0.28)	0.025	(–0.005 to 0.055)	
CaDK1 ($n = 26$)	0.064	(0.11)	0.042	(0.06)	–0.022	(–0.052 to 0.008)	
CaDK2 ($n = 24$)	0.046	(0.04)	0.056	(0.06)	0.010	(–0.022 to 0.041)	
P (treatment effect)	0.333		0.114				
Serum OPG (pg/mL)							0.883
CG ($n = 39$)	5.03	(1.99)	5.41	(2.36)	0.38	(0.10–0.66)	
CaD ($n = 26$)	4.82	(1.36)	5.22	(1.55)	0.40	(0.06–0.74)	
CaDK1 ($n = 26$)	4.57	(1.05)	4.77	(1.10)	0.20	(–0.13 to 0.54)	
CaDK2 ($n = 24$)	5.29	(1.80)	5.51	(2.13)	0.23	(–0.12 to 0.58)	
P (treatment effect)	0.697		0.431				
OPG to RANKL ratio							0.595
CG ($n = 39$)	190.3	(171.5)	182.0	(146.6)	–8.3	(–56.7 to 40.3)	
CaD ($n = 26$)	152.0	(190.1)	160.3	(169.5)	8.3	(–50.4 to 66.9)	
CaDK1 ($n = 26$)	155.4	(126.7)	202.7	(122.2	47.3	(–10.7 to 105.3)	
CaDK2 ($n = 24$)	194.6	(146.8)	200.5	(152.9)	5.9	(–55.1 to 66.9)	
P (treatment effect)	0.424		0.510				

In all analyses adjustments were made for physical activity levels

* $P < 0.05$ compared to CG

methods (i.e., questionnaires) to assess changes in physical activity levels during the intervention period could provide an explanation for the lack of significant findings in these studies. Overall, the favorable dietary and physical activity changes recorded in the present study for the intervention groups are probably indicative of the effectiveness of the "nutrition and lifestyle counseling" component of the program in increasing the self-efficacy of the intervention subjects to comply with the given health behavior instructions.

The effect of the intervention on bone metabolism and BMD should be attributed to the changes induced in both the diet and physical activity levels of the intervention subjects. Moreover, in order to examine the independent

Table 4 Changes in serum and urine indices of bone turnover

	Baseline		Follow-up		12-month change		*P* (treatment × time)
	Mean	(SD)	Mean	(SD)	Mean	(95% CI)	
Bone formation indices Serum P1NP (ng/mL)							0.501
CG ($n = 39$)	46.0	(17.0)	45.3	(15.8)	–0.7	(–4.6 to 3.1)	
CaD ($n = 26$)	45.4	(19.0)	40.6	(18.3)	–4.8	(–9.6 to –0.06)	
CaDK1 ($n = 26$)	44.1	(15.6)	37.1	(13.7)	–7.0	(–11.7 to –2.2)	
CaDK2 ($n = 24$)	48.4	(15.2)	44.6	(15.7)	–3.7	(–8.7 to 1.2)	
P (treatment effect)	0.899		0.502				
Serum % ucOC							0.001
CG ($n = 39$)	65.1	(93.1)	93.8	(167.7)	28.7	(2.9–54.5)	
CaD ($n = 26$)	64.5	(84.6)	77.3	(20.8)	12.8	(–18.8 to 44.3)	
CaDK1 ($n = 26$)	40.8	(44.4)	27.5*,**	(35.4)	–13.3	(–44.8 to 18.3	
CaDK2 ($n = 24$)	47.0	(56.1)	23.4*,**	(36.5)	–23.6	(–56.4 to 9.2)	
P (treatment effect)	0.73		0.001				
Bone resorption indices Urine Pyd (pmol/μmol Cr)[a]							0.968
CG ($n = 39$)	59.2	(14.9)	55.5	(15.6)	–4.2	(–9.4 to 0.9)	
CaD ($n = 26$)	57.6	(14.8)	52.3	(14.0)	–5.3	(–11.6 to 0.9)	
CaDK1 ($n = 26$)	58.7	(16.2)	54.8	(15.5)	–3.4	(–10.1 to 2.3)	
CaDK2 ($n = 24$)	63.9	(21.2)	54.3	(11.4)	–9.6	(–16.1 to –3.1)	
P (treatment effect)	0.881		0.801				
Urine D-Pyd (pmol/μmol Cr)[a]							0.557
CG ($n = 39$)	14.0	(4.4)	12.6	(5.4)	–1.4	(–3.0 to 0.1)	
CaD ($n = 26$)	12.6	(4.1)	11.1	(2.8)	–1.5	(–3.4 to 0.5)	
CaDK1 ($n = 26$)	12.7	(4.7)	9.9*,**	(3.4)	–2.8	(–4.7 to –0.8)	
CaDK2 ($n = 24$)	12.5	(3.9)	9.8*,**	(2.7)	–2.8	(–4.8 to –0.8)	
P (treatment effect)	0.368		0.047				

[a] All *P* values are corrected for physical activity levels. In case of lumbar spine BMD, adjustment was also made for baseline values

* $P < 0.05$ compared to CG, ** $P < 0.05$ compared to CaD

effect of the dietary intervention (i.e., nutrient intake and nutrition counseling) on the examined biochemical and bone mass indices, all relative analyses were adjusted for physical activity levels. With regard to calcium homeostasis hormones, serum 25(OH)D levels increased in all three dietary intervention groups, leading to significantly higher mean serum levels in these groups at follow-up compared to the CG. Although the major source of 25(OH)D_3 endogenous synthesis is photoconversion of 7-dehydrocholesterol to previtamin D_3 in the skin following exposure to UVB radiation, measurements of sunlight exposure via personal UV dosimetry in a previous similar intervention study on Greek postmenopausal women also living in municipalities from the wider district of Athens revealed no significant sunlight exposure effect on their vitamin D status [13]. These data indicate that supplementation of 10 μg of vitamin D_3 via fortified milk in the three intervention groups was effective at inducing more favorable changes in serum 25(OH)D levels compared to control subjects who continued with their usual diet. Furthermore, the results of the present study regarding serum IGF-I levels showed that only the CaDK2 group had a significant increase over the CG. The reason for this finding remains unclear, and to the best of our knowledge a relationship between IGF-I and menaquinone-7 has not been described before. This anabolic hormone-like peptide has been reported by recent studies to stimulate bone formation activity in postmenopausal women, basically via osteoblast differentiation [28].

To our knowledge, the current study is the first to examine the effect of a dietary intervention on osteoclast differentiation molecules, i.e., in serum RANKL and OPG levels. The discovery of the unique role of RANK/RANKL/OPG signaling has led to the targeting of this pathway as a novel therapeutic approach in the management of osteoporosis [29, 30]. Although very little is known so far about the effect of dietary interventions on bone markers, there have been studies in postmenopausal women where 24 months of genistein administration resulted in higher OPG and lower RANKL levels [31]. However, no significant differences were observed in the present study among groups with respect to these two

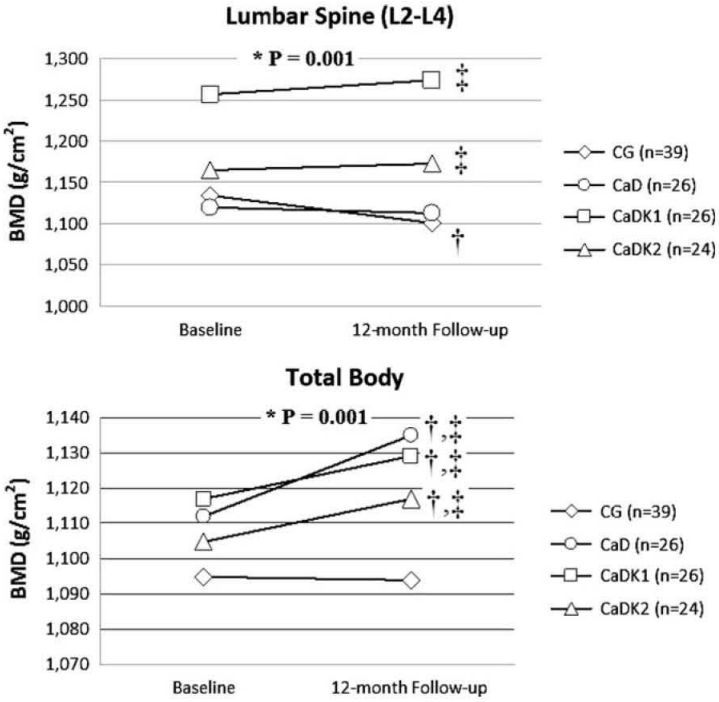


Fig. 1 Changes in lumbar spine (L2–L4) and total-body BMD for women in the three intervention groups and the control group. In all analyses adjustments were made for physical activity levels. In case of lumbar spine BMD, adjustment was also made for baseline values. *Treatment × time interaction effect. †$P < 0.05$ compared to the baseline value within group, ‡$P < 0.05$ compared to CG

biochemical indices of bone metabolism, probably indicating the need for additional research.

Examination of the changes induced over the intervention period in certain biochemical indices of bone remodeling revealed significant differences among groups with respect to the percent UcOC. Specifically, the significant decrease observed in the CG and the increases observed in the two vitamin K–supplemented groups led to significantly lower percent UcOC at follow-up in these two groups compared to the CG. Vitamin K is necessary for the carboxylation of OC, a process that is vital for bone calcification. Yet, under vitamin K insufficiency, OC does not undergo complete γ-carboxylation, resulting in the release of UnOC from osteoblasts into the circulating blood [32]. The results of the present study are consistent with those reported by other similar studies conducted with postmenopausal women, showing that either supplementation with [10, 33–35] or increased dietary intake [36] of vitamin K can significantly reduce UnOC levels. Furthermore, the present study showed that increased dietary intake of phylloquinone or menaquinone-7 by subjects in the two relative intervention groups resulted in significant decreases in urine D-Pyd levels, producing significantly lower mean levels at follow-up compared to CaD and CG. This finding combined with the significant decrease observed for urine Pyd levels in CaDK2 is in line with in vitro studies [37, 38] and other similar clinical trials [34] demonstrating that treatment with vitamin K, especially menaquinone-7, is effective enough to reduce bone resorption. Summarizing the above findings, the present study showed that increased dietary intake of phylloquinone and menaquinone-7 via milk also fortified with calcium and vitamin D is likely to lead to a suppression of bone remodeling, which has been associated with lower fracture risk [39–41].

According to the results derived from DXA measurements, the findings of the present study revealed more favorable changes over the intervention period in total-body BMD in the three intervention groups compared to the CG (Table 3), with the absolute BMD values at baseline and follow-up examinations presented analytically elsewhere [23]. Similar to the findings from the present study, other intervention studies showed that total dietary calcium intake of 1,200 mg/day or higher was adequate to prevent bone loss from the total body, lumbar spine, femoral neck, and greater trochanter in susceptible populations, such as postmenopausal women [17, 42]. Furthermore, calcium intake has been proven to be even more effective with respect to total-body bone mass maintenance when combined with other essential nutrients for bone health and especially with vitamin D [13, 43].

Furthermore, there is only very little evidence available in the literature regarding the exact effect of vitamin K

supplementation on bone mass in humans [9–12, 44–48], while there is no evidence of the combined effect of calcium, vitamin D, and vitamin K when these are administered as components of fortified dairy products. According to the findings of the present study, further supplementation of phylloquinone and menaquinone-7 induced more favorable changes in lumbar spine (L2–L4) BMD. These changes could probably point to additional site-specific skeletal benefits derived from increased vitamin K intake, which mainly apply for trabecular (cancellous), but not for cortical (compact), bone tissue [44]. Similar changes have been reported by another 2-year randomized controlled intervention study that combined phylloquinone and vitamin D supplementation [44]. Safer conclusions can be reached only by conducting further clinical research and by applying more sensitive bone scanning techniques to examine the changes in BMD distribution, while the question of which isoprenologue of vitamin K (i.e., phylloquinone or menaquinone-7) is more effective on bone metabolism cannot be addressed by the outcomes of the present study. With respect to the relative efficacies of phylloquinone versus menaquinone-7, other considerations are that on a molecular basis the daily intake of menaquinone-7 (0.154 μmol) in this study was about 30% less than that of phylloquinone (0.221 μmol). On the other hand, there is evidence that on a molar basis menaquinone-7 is much more effective than phylloquinone in increasing the degree of γ-carboxylation of OC [49]. The reason for this greater efficacy of menaquinone-7 seems to be its longer half-life of clearance from the circulation than phylloquinone [49].

In summary, the present study showed more favorable changes on bone metabolism and bone mass indices, mainly for the vitamin K–supplemented groups. The beneficial intervention effect in these two study groups was mainly reflected in the suppression of the bone remodeling process and the positive changes observed in L2–L4 BMD. The holistic nature of the current intervention and probably the synergistic effect of supplementing nutrients that are essential for bone health (i.e., milk protein, vitamin D, vitamin K, calcium, magnesium, and phosphorus) together with increasing physical activity levels and improving dietary patterns as a result of counseling sessions could probably provide an explanation for these favorable changes. However, further clinical trials, probably of longer duration and higher vitamin K doses, could help clarify the exact role of each one of these two vitamin K isoprenologues on bone metabolism and BMD.

Acknowledgement This work was supported by a research grant from FrieslandCampina. The study sponsor had no role in the collection and analysis of the data, or the submission of the report. The authors thank Anastasia Vandorou, Katerina Kyriakou, Vasiliki Dede, Odysseas Androutsos, Konstantina Maragkopoulou, Efstathoula Argyri, Angeliki Giannopoulou, Vassiliki Iatridi, Christina Maurogianni, Sotiria Pitsikou, Sofia Chondrou, George Saltaouras, and Dimitra Meladaki (dietitians) for their valuable contribution in data collection and processing.

References

1. Heaney RP, McCarron DA, Dawson-Hughes B, Oparil S, Berga SL, Stern JS, Barr SI, Rosen CJ (1999) Dietary changes favorably affect bone remodeling in older adults. J Am Diet Assoc 99: 1228–1233
2. Bonde M, Qvist P, Fledelius C, Riis BJ, Christiansen C (1994) Immunoassay for quantifying type I collagen degradation products in urine evaluated. Clin Chem 40:2022–2025
3. Jensen C, Holloway L, Block G, Spiller G, Gildengorin G, Gunderson E, Butterfield G, Marcus R (2002) Long-term effects of nutrient intervention on markers of bone remodeling and calciotropic hormones in late-postmenopausal women. Am J Clin Nutr 75:1114–1120
4. Wittrant Y, Theoleyre S, Chipoy C, Padrines M, Blanchard F, Heymann D, Redini F (2004) RANKL/RANK/OPG: new therapeutic targets in bone tumours and associated osteolysis. Biochim Biophys Acta 1704:49–57
5. Martin RB (2002) Is all cortical bone remodeling initiated by microdamage? Bone 30:8–13
6. Nieves JW (2005) Osteoporosis: the role of micronutrients. Am J Clin Nutr 81:1232S–1239S
7. Ahlborg HG, Johnell O, Turner CH, Rannevik G, Karlsson MK (2003) Bone loss and bone size after menopause. N Engl J Med 349:327–334
8. Zaidi M, Turner CH, Canalis E, Pacifici R, Sun L, Iqbal J, Guo XE, Silverman S, Epstein S, Rosen CJ (2009) Bone loss or lost bone: rationale and recommendations for the diagnosis and treatment of early postmenopausal bone loss. Curr Osteoporos Rep 7:118–126
9. Iwamoto J, Takeda T, Ichimura S (2001) Effect of menatetrenone on bone mineral density and incidence of vertebral fractures in postmenopausal women with osteoporosis: a comparison with the effect of etidronate. J Orthop Sci 6:487–492
10. Cheung AM, Tile L, Lee Y, Tomlinson G, Hawker G, Scher J, Hu H, Vieth R, Thompson L, Jamal S, Josse R (2008) Vitamin K supplementation in postmenopausal women with osteopenia (ECKO trial): a randomized controlled trial. PLoS Med 5:e196
11. Shiraki M, Shiraki Y, Aoki C, Miura M (2000) Vitamin K_2 (menatetrenone) effectively prevents fractures and sustains lumbar bone mineral density in osteoporosis. J Bone Miner Res 15:515–521
12. Ishida Y, Kawai S (2004) Comparative efficacy of hormone replacement therapy, etidronate, calcitonin, alfacalcidol, and vitamin K in postmenopausal women with osteoporosis: the Yamaguchi Osteoporosis Prevention Study. Am J Med 117: 549–555
13. Manios Y, Moschonis G, Trovas G, Lyritis GP (2007) Changes in biochemical indexes of bone metabolism and bone mineral density after a 12-mo dietary intervention program: the Postmenopausal Health Study. Am J Clin Nutr 86:781–789
14. Chee WS, Suriah AR, Chan SP, Zaitun Y, Chan YM (2003) The effect of milk supplementation on bone mineral density in postmenopausal Chinese women in Malaysia. Osteoporos Int 14: 828–834
15. McKenna MJ, Freaney R, Byrne P, McBrinn Y, Murray B, Kelly M, Donne B, O'Brien M (1995) Safety and efficacy of increasing wintertime vitamin D and calcium intake by milk fortification. QJM 88:895–898

16. Prince R, Devine A, Dick I, Criddle A, Kerr D, Kent N, Price R, Randell A (1995) The effects of calcium supplementation (milk powder or tablets) and exercise on bone density in postmenopausal women. J Bone Miner Res 10:1068–1075
17. Storm D, Eslin R, Porter ES, Musgrave K, Vereault D, Patton C, Kessenich C, Mohan S, Chen T, Holick MF, Rosen CJ (1998) Calcium supplementation prevents seasonal bone loss and changes in biochemical markers of bone turnover in elderly New England women: a randomized placebo-controlled trial. J Clin Endocrinol Metab 83:3817–3825
18. Magkos F, Manios Y, Babaroutsi E, Sidossis LS (2006) Development and validation of a food frequency questionnaire for assessing dietary calcium intake in the general population. Osteoporos Int 17:304–312
19. Janz NK, Becker MH (1984) The health belief model: a decade later. Health Educ Q 11:1–47
20. Bandura A, Adams NE, Beyer J (1977) Cognitive processes mediating behavioral change. J Pers Soc Psychol 35:125–139
21. Trichopoulou A (2004) Composition tables of foods and Greek dishes. Department of Epidimiology, School of Medicine, University of Athens, Athens
22. University of Crete (1991) Food composition tables (website in Greek). http://nutrition.med.uoc.gr/GreekTables
23. Moschonis G, Kanellakis S, Papaioannou N, Schaafsma A, Manios Y (2011) Possible site-specific effect of an intervention combining nutrition and lifestyle counselling with consumption of fortified dairy products on bone mass: the Postmenopausal Health Study II. J Bone Miner Metab 29:501–506
24. Institute of Medicine Food and Nutrition Board (2001) Dietary reference intakes: applications in dietary assessment. National Academy Press, Washington, DC
25. Kitchin B, Morgan SL (2007) Not just calcium and vitamin D: other nutritional considerations in osteoporosis. Curr Rheumatol Rep 9:85–92
26. Bugel S (2008) Vitamin K and bone health in adult humans. Vitam Horm 78:393–416
27. Wolff I, van Croonenborg JJ, Kemper HC, Kostense PJ, Twisk JW (1999) The effect of exercise training programs on bone mass: a meta-analysis of published controlled trials in pre- and postmenopausal women. Osteoporos Int 9:1–12
28. Ghiron LJ, Thompson JL, Holloway L, Hintz RL, Butterfield GE, Hoffman AR, Marcus R (1995) Effects of recombinant insulin-like growth factor-I and growth hormone on bone turnover in elderly women. J Bone Miner Res 10:1844–1852
29. Hamdy NA (2007) Targeting the RANK/RANKL/OPG signaling pathway: a novel approach in the management of osteoporosis. Curr Opin Investig Drugs 8:299–303
30. Hofbauer LC, Schoppet M (2004) Clinical implications of the osteoprotegerin/RANKL/RANK system for bone and vascular diseases. Jama 292:490–495
31. Marini H, Minutoli L, Polito F, Bitto A, Altavilla D, Atteritano M, Gaudio A, Mazzaferro S, Frisina A, Frisina N, Lubrano C, Bonaiuto M, D'Anna R, Cannata ML, Corrado F, Cancellieri F, Faraci M, Marini R, Adamo EB, Wilson S, Squadrito F (2008) OPG and sRANKL serum concentrations in osteopenic, postmenopausal women after 2-year genistein administration. J Bone Miner Res 23:715–720
32. Hauschka PV, Lian JB, Cole DE, Gundberg CM (1989) Osteocalcin and matrix Gla protein: vitamin K–dependent proteins in bone. Physiol Rev 69:990–1047
33. Iwamoto J, Sato Y, Takeda T, Matsumoto H (2009) High-dose vitamin K supplementation reduces fracture incidence in postmenopausal women: a review of the literature. Nutr Res 29:221–228
34. Ozuru R, Sugimoto T, Yamaguchi T, Chihara K (2002) Time-dependent effects of vitamin K_2 (menatetrenone) on bone metabolism in postmenopausal women. Endocr J 49:363–370
35. Shiraki M, Itabashi A (2009) Short-term menatetrenone therapy increases gamma-carboxylation of osteocalcin with a moderate increase of bone turnover in postmenopausal osteoporosis: a randomized prospective study. J Bone Miner Metab 27:333–340
36. Yamauchi M, Yamaguchi T, Nawata K, Takaoka S, Sugimoto T (2010) Relationships between undercarboxylated osteocalcin and vitamin K intakes, bone turnover, and bone mineral density in healthy women. Clin Nutr 29:761–765
37. Hara K, Akiyama Y, Tajima T, Shiraki M (1993) Menatetrenone inhibits bone resorption partly through inhibition of PGE_2 synthesis in vitro. J Bone Miner Res 8:535–542
38. Kameda T, Miyazawa K, Mori Y, Yuasa T, Shiokawa M, Nakamaru Y, Mano H, Hakeda Y, Kameda A, Kumegawa M (1996) Vitamin K_2 inhibits osteoclastic bone resorption by inducing osteoclast apoptosis. Biochem Biophys Res Commun 220: 515–519
39. Weisman SM, Matkovic V (2005) Potential use of biochemical markers of bone turnover for assessing the effect of calcium supplementation and predicting fracture risk. Clin Ther 27: 299–308
40. Stepan JJ (2000) Prediction of bone loss in postmenopausal women. Osteoporos Int 11(suppl 6):S45–S54
41. Delmas PD, Eastell R, Garnero P, Seibel MJ, Stepan J (2000) The use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. Committee of Scientific Advisors of the International Osteoporosis Foundation. Osteoporos Int 11(suppl 6):S2–S17
42. Riggs BL, O'Fallon WM, Muhs J, O'Connor MK, Kumar R, Melton LJ 3rd (1998) Long-term effects of calcium supplementation on serum parathyroid hormone level, bone turnover, and bone loss in elderly women. J Bone Miner Res 13:168–174
43. Moschonis G, Katsaroli I, Lyritis GP, Manios Y (2010) The effects of a 30-month dietary intervention on bone mineral density: the Postmenopausal Health Study. Br J Nutr 104:100–107
44. Bolton-Smith C, McMurdo ME, Paterson CR, Mole PA, Harvey JM, Fenton ST, Prynne CJ, Mishra GD, Shearer MJ (2007) Two-year randomized controlled trial of vitamin K_1 (phylloquinone) and vitamin D_3 plus calcium on the bone health of older women. J Bone Miner Res 22:509–519
45. Cockayne S, Adamson J, Lanham-New S, Shearer MJ, Gilbody S, Torgerson DJ (2006) Vitamin K and the prevention of fractures: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Arch Intern Med 166:1256–1261
46. Schaafsma A, Muskiet FA, Storm H, Hofstede GJ, Pakan I, Van der Veer E (2000) Vitamin D_3 and vitamin K_1 supplementation of Dutch postmenopausal women with normal and low bone mineral densities: effects on serum 25-hydroxyvitamin D and carboxylated osteocalcin. Eur J Clin Nutr 54:626–631
47. Vermeer C, Shearer MJ, Zittermann A, Bolton-Smith C, Szulc P, Hodges S, Walter P, Rambeck W, Stocklin E, Weber P (2004) Beyond deficiency: potential benefits of increased intakes of vitamin K for bone and vascular health. Eur J Nutr 43:325–335
48. Eisai (2005) Eisai announces the intermediate analysis of anti-osteoporosis treatment post-marketing research to investigate the benefits of menatetrenone as part of the Ministry of Health, Labour and Welfare's. Pharmacoepidemiological Drug Review Program
49. Schurgers LJ, Teunissen KJ, Hamulyak K, Knapen MH, Vik H, Vermeer C (2007) Vitamin K–containing dietary supplements: comparison of synthetic vitamin K_1 and natto-derived menaquinone-7. Blood 109:3279–3283

Maturitas 65 (2010) 64–68

Contents lists available at ScienceDirect

Maturitas

journal homepage: www.elsevier.com/locate/maturitas

Development and validation of two equations estimating body composition for overweight and obese postmenopausal women

Spyridon Kanellakis, Georgia Kourlaba, George Moschonis, Anastasia Vandorou, Yannis Manios *

Department of Dietetics and Nutritional Science, Harokopio University, 17671, Kallithea, El Venizelou 70, Athens, Greece

ARTICLE INFO

Article history:
Received 25 May 2009
Received in revised form 28 October 2009
Accepted 29 October 2009

Keywords:
Fat free mass
BIA
DXA
Skinfolds
Circumferences

ABSTRACT

Objective: The aim of this study was to develop and validate two equations that best predict body composition of overweight and obese postmenopausal women.
Methods: Bioelectrical impedance analyses (BIAs) and anthropometric data such as circumferences and skinfolds were incorporated in the development of these two equations, respectively, while dual energy X-ray absorptiometry (DXA) was used as the reference method. A total number of 196 overweight and obese Greek postmenopausal women were used (131 subjects to develop the equations, and 65 to validate them).
Results: The BIA equation was: (FFM) = 38.475 + 0.207 × Wt − 0.092 × Rz/Ht^2 + 0.291 × Xc/Ht^2 (R^2 = 0.800, p < 0.0001) and the anthropometry equation was FM = −31.913 + 0.333 × GC + 0.840 × body mass index (BMI) + 0.064 × (biceps + triceps skinfold) (R^2 = 0.835, p < 0.0001). Both equations were found to result in unbiased estimates. Regarding reliability, BIA equation was found to be more reliable compared to existing ones when applied to this population. Additionally, BIA equation was more reliable compared to the anthropometric equation (±3.12642 kg vs. ±5.2342 kg limits of agreement, respectively).
Conclusion: These conclude that the equations developed in the current study are more reliable than the existing ones in the literature, and could be applied for assessing body composition in clinical practice and research.

© 2009 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Excess body fat has been strongly linked to cardiovascular disease (CVD) in concert with other chronic diseases such as metabolic syndrome, diabetes mellitus, cancer, etc. [1–3]. Therefore, assessing fat mass accurately is of critical importance for the risk estimating for all these obesity-related diseases. Moreover, body composition assessment may be a more important tool compared to just body weight in assessing the effectiveness of intervention programs due to the fact that there might be minor changes in body weight but still important changes in body composition [4]. Simple anthropometric indices such as body mass index (BMI), waist to hip ratio (WHR), etc., have been widely used for the classification of obesity, but they do not always demonstrate adequate sensitivity and specificity [5]. This is, not only for athletes as it has been reviewed [6], but even for groups of postmenopausal women [7], and for some racial groups as Asians or Chinese [5]. Yet, assessing fat mass, with "gold standard methods" such as underwater weighing, dual energy X-ray absorptiometry (DXA), deuterium oxide (D_2O) dilution, and Bod Pod is not always feasible, even in research, due to specific difficulties of these methods. There emerges the need for developing methods to assess fat mass which should be fast, non invasive, inexpensive, and therefore easily applied from health providers not only in daily practice, but even in research when estimating body composition is not of primary importance. The most widely used methods for estimating fat mass are bioelectrical impedance analysis (BIA), skinfold measurement, and other anthropometric measurements such as circumferences, height, and weight.

Furthermore, as it has been reviewed [8], women seem to be somehow protected from CVD till menopause, but their risk increases after menopause due to several hormonal changes which result in body composition changes as well [9–11].

A large number of equations estimating fat mass (FM) or fat free mass (FFM) is available in the literature [12–21,7], still none of them is specific for overweight and obese postmenopausal women. Negligibly, any equation developed has to be as simple as possible in terms of independent variables, yet reliable, so as to be easily applicable in research as well as in daily clinical practice. Therefore, the primary aim of this study was to develop, and validate two equations, as simple as possible, derived from BIA and anthropometric data, respectively, that best describe postmenopausal Caucasian overweight and obese subjects. The secondary objective was to apply existing equations in the current population and to compare these with the equations proposed in this work.

* Corresponding author. Tel.: +30 210 9549156; fax: +30 210 9549141.
E-mail address: manios@hua.gr (Y. Manios).

0378-5122/$ – see front matter © 2009 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.
doi:10.1016/j.maturitas.2009.10.012

2. Methods

2.1. Subjects

The sample size was 196 postmenopausal women, aged 50–76 years old (62.6 ± 5.95 years), having a BMI more than 24.9 kg/m^2. Volunteers were asked to attend our lab from the wider area of the city center of Athens, after approval from the local authorities. Menopause was defined as the absence of menstruation for the last two years and was assessed by questionnaire. All subjects were more than 2 years since last menstruation (12.6 ± 6.9 years). None of the subjects had a disease that affects hydration status or any other serious chronic disease that might affect body composition such as end stage renal failure or cancer. The population was divided in two sub samples, one of 131 (development cohort) and one of 65 subjects (validation cohort), so as in these groups to form and validate the equation, respectively.

The protocol was approved by the Harokopion University Ethics Committee.

2.1.1. Anthropometry

Body weight and standing height were measured in light clothing and with no shoes using a digital scale (Seca 861; Seca Ltd., Vogel & Halke, Hamburg, Germany) with an accuracy of 0.1 kg and a stadiometer (Seca Leicester Height Measure; Seca Ltd., Vogel & Halke, Hamburg, Germany) to the nearest 0.1 cm, respectively. BMI was calculated as weight (kg) divided by height squared (m^2), and cut off points were as set by World Health Organization (WHO). Waist circumference (WC) was measured with an inelastic plastic tape measure midway between the inferior margin of the last rib and the crest of the ilium at the level of the umbilicus and hip circumference at the level of the greater trochanters and pubic symphysis to the nearest 0.1 cm. Waist to hip ratio (WHR) was estimated. Right triceps, biceps, subscapular and suprailiac skinfold thickness, were measured with a Lange skinfold calliper. The sum of these four skinfolds, and all combination sums per two were also estimated. Midarm muscle circumference (MAMC), an index of the body's total skeletal muscle mass, was derived from the following equation: MAMC (cm) = left arm circumference − [0.314 × triceps skinfold thickness (mm)] [22]. All the above procedures were performed by a single, well-trained researcher from the research team.

2.1.2. Dual-energy X-ray absorptiometry

Total body bone mineral content and soft tissue (fat mass, fat mass percentage, fat-free mass) composition were determined by DXA (Lunar DPX-MD, Madison, WI, USA) with the analysis software version 4.6. A medium scan mode was used, unless a slower mode was suggested by the manufacturer, for obese subjects. A daily quality assurance check was performed, using an aluminum phantom provided by the manufacturer. The scans were performed in the morning by an experienced technician.

2.1.3. BIA

Resistance and reactance were measured using the Akern Bia 101 single frequency (50 kHz, 800 mAh) impedance plethysmograph. All subjects were on fast for 12 h and had no fluid consumption for at least 2 h before the measurement. The subjects were in supine position in a non conductive area, in light clothing and barefoot as indicated by the manufacturer. Four electrodes were placed on the dorsal surface of the right hand and on the dorsal surface of the right foot. Prior to electrode placement the skin was cleansed with ethanol at the locations of electrode placement. All measurements were performed in the right side of the subjects' body in the morning by experienced personnel.

2.2. Physical activity

Physical activity was assessed by recording the number of steps for one week measured by pedometers (Yamax, Digi-Walker, SW 200).

2.3. Other equations tested

The validity of the equations of Segal et al. [12], Gray et al. [13], Deurenberg et al. [14], Heitman et al. [15], Svendsen et al. [16], Lohman et al. [17], Roubenof et al. [18], Piers et al. [19], Kyle et al. [20], Haapala et al. [21], Kontogianni et al. [7] were tested.

2.4. Statistical analysis

Normality of continues variables was evaluated through the Kolmogorov–Smirnov test. Continuous variables are presented as mean ± standard deviation. Multiple linear regression was used to develop the models for estimating fat free mass and fat mass. In particular, the backwards stepwise procedure was used to retain the more significant variables (p value for entering a variable was set to 0.05, and p value for removing a variable was set to 0.10). The variables entered in the initial model were: body weight, height, age, resistance/height^2, reactance/height^2, BMI, for the BIA model, and waist circumference, gluteal circumference, all four skinfolds MAMC, weight, height, and BMI for the anthropometry model. Bland Altman technique was used to the validation cohort so as to examine the validation of the developed equations and of the existing equations that could be applied to this group according to its special characteristics.

Differences between methods, bias, and its statistical significance were checked with paired samples t-test. Differences between the two sub samples (development and validation cohort, respectively) were checked with Students' t-test and Mann–Whitney U-test if the data were normally distributed or skewed, respectively.

A probability value of 5% considered as statistically significant. All statistical calculations were performed on the SPSS version 14.0 software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

3. Results

Development and validation cohorts did not differ significantly at age, fat mass, BMI, and physical activity level. All the characteristics of the groups are shown in Table 1.

The multiple regression model in which BIA variables were included as independent variables showed that weight, Rz/Ht^2, and Xc/Ht^2 were significantly associated with FFM. In particular, the equation formed from BIA was:

$$\mathrm{FFM} = 38.475 + 0.207 \times \mathrm{Wt} - 0.092 \times \frac{\mathrm{Rz}}{\mathrm{Ht}^2} + 0.291 \times \frac{\mathrm{Xc}}{\mathrm{Ht}^2}$$

where FM = fat free mass (kg); Wt = weight (kg); Rz = resistance (Ohm); Xc = reactance (Ohm); Ht = height (m).

No strong correlation was observed among the independent variables. Moreover, this equation explained 80% of the total variance of FFM ($R^2 = 0.800$, $p < 0.0001$, and S.E.E. = 1.62). Then, this equation was applied to the validation cohort and the Bland Altman technique showed that the bias of the formed equation was not statistically significant (+0.26 kg, $p = 0.138$). The limits of agreement were found to be ±3.126 kg (S.D. from the mean is ±1.563 kg) indicating an acceptable validity. Finally, no statistically significant correlation was observed between average and difference ($p = 0.340$, $r = 0.110$). The Bland Altman plot is shown in Fig. 1.

The multiple linear regression model in which the anthropometric variables were included as independent variables showed that

Table 1
Anthropometric and other characteristics of the study population ($N = 196$).

	Development cohort ($n = 131$)		Validation cohort ($n = 65$)		p value between groups
	Mean	Standard deviation	Mean	Standard deviation	
Age (years)	62.3470	5.99047	63.1385	5.86890	0.381
Height (cm)	156.0576	4.79426	156.3600	5.64798	0.695
Weight (kg)	73.5648	8.90618	74.1015	11.86987	0.723
BMI (kg/m^2)	30.56893	3.799736	30.72077	4.412349	0.803
Waist circumference (cm)	92.6318	10.54726	94.1769	11.58274	0.351
Gluteal circumference (cm)	109.1091	8.06671	109.8385	9.07205	0.568
Rz (ohm)	553.1439	51.22904	544.1692	58.75414	0.272
Xc (ohm)	45.8636	7.62957	45.4769	7.78843	0.740
Sum of four skinfolds (mm)	90.7083	18.34308	92.7431	20.98630	0.486
Biceps skinfold (mm)	18.8996	4.96811	19.5346	5.89920	0.429
Triceps skinfold (mm)	28.9886	7.77780	29.3238	6.96712	0.769
Suprailiac skinfold (mm)	21.7083	5.56083	22.5192	6.03543	0.351
Subscapular skinfold (mm)	21.1118	5.71009	21.3654	6.08486	0.775
Steps	6,301.3329	3,417.80758	6,155.9935	3,351.32556	0.791
Fat free mass as estimated from DXA (kg)	38.1705	3.59129	38.3341	4.50213	0.783
Fat mass as estimated by DXA (kg)	33.1548	6.45064	33.5095	8.23841	0.742
Fat percentage as estimated from DXA (%)	44.7386	4.08463	44.6615	4.55826	0.905

GC, BMI, and sum of biceps and triceps skinfolds were significantly associated with FM. In particular, the second equation formed from simple anthropometric data was:

$$FM = -31.913 + 0.333 \times GC + 0.840 \times BMI + 0.064 \times SUMSKF$$

where FM = fat mass (kg); GC = waist circumference (cm); BMI = body mass index (kg/m^2); SUMSKF = biceps skinfold + triceps skinfold (mm).

No strong correlation was observed among the independent variables. Moreover, this equation explained 83.5% of the variance ($R^2 = 0.835$, $p < 0.0001$, and S.E.E. = 2.65). Then, this equation was applied to the validation cohort and the Bland Altman technique showed that the bias of the formed equation was not statistically significant (−0.086 kg; $p = 0.792$). The limits of agreement were found to be ±5.22 kg (S.D. from the mean is ±2.61 kg) indicating an acceptable validity. Finally, the correlation observed between average and difference was statistically significant but very weak ($p = 0.013$, $r = 0.216$). The Bland Altman plot is shown in Fig. 2.

Table 2 illustrates the literature-retrieved equations and their validations on validation cohort as well as validation of the two equations developed in the current work. All these equations that were tested for validity to our sample were found to have a significant bias varying from −3.94 to 5.15 kg with exception of Kontogiannis' et al. which was found not to have statistical significant bias ($p = 0.195$).

4. Discussion

In this study two simple equations were developed on a sample of overweight and obese postmenopausal women from BIA and simple anthropometric data. Both equations formed, from BIA and anthropometric data seemed to be of acceptable validity, and of very low bias. However, the equation formed from BIA appeared to be more reliable than the one from anthropometric data (±3.126 kg vs. ±5.22 kg limits of agreement). This could be attributed to a number of reasons. Firstly, BIA is considered to be an easily applied method less susceptible to users' errors [23]. On the other hand, anthropometry, especially skinfold measurements require highly trained and experienced personnel. Secondly, anthropometry obtains data mostly from external characteristics; skinfolds can estimate only subcutaneous fat, whereas circumferences can be a proxy measure of internal and visceral fat. On the

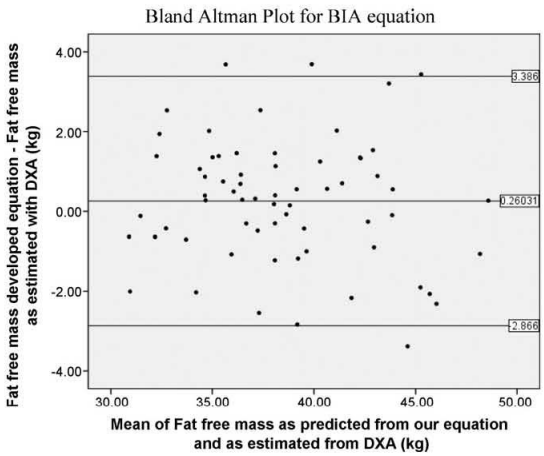


Fig. 1. Bland Altman plot for BIA equation.

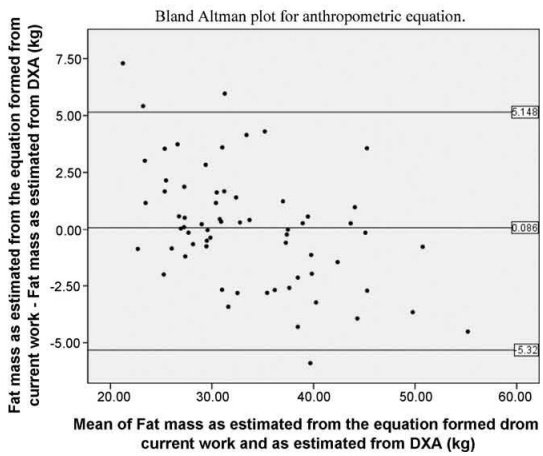


Fig. 2. Bland Altman plot for anthropometric equation.

Table 2
Equations from the literature and their validation in our population ($N = 65$).

	Equation	Bias (kg)	Significance of bias	Mean estimation (kg)	Standard deviation (kg)	Limits of agreement (kg)
Segal et al. [12]	$FFM = 0.00108 \times Ht^2 - 0.02090 \times Rz + 0.23199 \times Wt - 0.06777 \times age + 14.59453$	2.73	$p < 0.001$	41.06	2.03	±4.05
Gray et al. [13]	$FFM = 0.00151 \times Ht^2 - 0.0344 \times R + 0.0140 \times Wt - 0.158 \times age + 20.387$	0.69	$p = 0.014$	39.03	2.21	±4.43
Deurenberg et al. [14]	$FFM = (0.671 \times 10^4 \times Ht^2/Rz$	−3.94	$p < 0.001$	34.46	2.31	±4.61
Heitman et al. [15]	$FFM = 0.279 \times Ht^2/Rz + 0.181 \times Wt + 0.231 \times Ht - 0.077 \times age - 14.94$	4.10	$p < 0.001$	42.44	1.85	±3.69
Svendsen et al. [16]	$FFM = Wt - (2.33 \times BMI - 0.54 \times Ht^2/Rz + 0.48 \times Ht + 0.39 \times SumSkf - 0.20 \times WC - 80.92)$	5.15	$p < 0.001$	43.49	3.19	±6.39
Lohman et al. [17] elderly BIA	$FFM = 0.6 \times Ht^2/Rz + 0.186 \times Wt + 0.226 \times Xc - 10.9$	−0.54	$p = 0.013$	42.23	1.87	±3.73
Roubenof et al. [18]	$FFM = 7.7435 + 0.4542 \times Ht/Rz + 0.1190 \times Wt + 0.0455 \times Xc$	0.98	$p < 0.001$	39.37	1.60	±3.21
Piers et al. [19]	$FFM = Heitman\ equation \times 1.083 + MAC \times 0.391 - BSkf \times 0.368 - 12.504$	0.64	$p < 0.001$	39.16	2.78	±5.56
Kyle et al. [20]	$FFM = -4.104 + 0.518 \times Ht^2/Rz + 0.231 \times Wt + 0.0455 \times Xc$	4.18	$p < 0.001$	42.52	1.66	±3.31
Haapala et al. [21]	$FFM = -128.06 + 1.85 \times BMI - 0.63 \times Wt + 1.07 \times Ht - 0.03 \times Rz + 10.0 \times$ waist to hip ratio	3.29	$p < 0.001$	41.63	1.82	±3.65
Kontogianni et al. [7]	$FFM = 17.825 + 0.38 \times Ht^2/R + 0.172 \times Wt - 0.156 \times age$	−0.31	$p = 0.195$	38.03	1.89	±3.78
Current work anthropometric	$FM = -31.913 + 0.333 \times GC + 0.840 \times BMI + 0.064 \times SUMSKF$	−0.086	$p = 0.798$	33.56	2.62	±5.23
Current work bioelectrical impedance	$FFM = 38.475 + 0.207 \times Wt - 0.092 \times Rz/Ht^2 + 0.291 \times Xc/Ht^2$	−0.260	$p = 0.138$	38.59	1.56	±3.13

FM = fat mass; FFM = fat free mass; Wt = weight; Ht = height; Rz = resistance; Xc = reactance; SUMSKF = SUM of biceps and triceps skinfolds.

other hand, BIA takes into account the response of the whole human body to electrical current by measuring resistance and reactance. Thirdly, obtaining skinfolds from overweight, obese, and elderly subjects is more susceptible to anthropometer's error [24] whereas the application of BIA seems not to alter its accuracy according to subject's fat mass or age, as this has been stated by others [4] and from current work. This is supported by the fact that age was not found to be a statistical significant variable in the formed BIA equation neither fat mass, as the correlation of mean and difference in the bland Altman plot was not significant. In addition, the equation based on anthropometric data was found to underestimate fat mass as this increased since the correlation of difference to mean of the estimations of DXA and the formed equation was found to be statistically significant. However, it can be acceptable because the observed correlation coefficient is very low ($r = -0.216$). Thereafter, out of this study it can be concluded that BIA is a reliable way to estimate fat mass in this specific population, according to the equation that was developed, yet very handful, economic and easy in clinical practice and in research. The equation based on anthropometric data is also quite reliable, yet not that reliable as BIA equation and this is obvious from the limits of agreement they demonstrate which has been shown in the past as well by former studies [16]. Moreover, it is fast and non expensive. Both suggested equations are with the least independent variables possible and therefore easy to interpret with.

Literature review resulted in the identification of 11 BIA equations, as mentioned in methodology, applicable to the current population through a range of characteristics such as age, BMI, sex and race. However, it has to be mentioned that none of them was specific for all these characteristics at the same time. From Table 2 it can be assumed that only the Kontogiannis et al. equation would provide acceptable unbiased estimation of fat free mass for overweight and obese Caucasian postmenopausal women; yet their results were not as accurate compared to the BIA equation formed in this work since it has 1.3 kg wider limits of agreement. This is a reasonable finding since this equation was formed upon a similar group yet through a wider range of BMI. Another advantage of the equation developed from this work is its simplicity since only height, weight, resistance and reactance are required for estimating Fat Free Mass. Out of these findings BIA equation derived from the current study reasonably appears to be the most accurate for this age, sex, and BMI specific population and it is suggested that it could be used in clinical practice and research for use in estimating body composition and probably its changes after intervention programs.

Moreover, the fact that the existing equations do not assess fat free mass in this specific group accurately just because they are made and validated in wider groups, in terms of age and BMI, emerges the need to develop more specific equations depending on the group under investigation.

It has to be mentioned that measuring skinfolds of overweight and obese subjects relies on highly trained personnel since this is one of the limitations of skinfold measurements that have been summarized long ago [24]. Another important limitation of skinfold measurements in this population is that not all sites of measurements are easily to be measured since the subjects usually feel discomfort with the procedure or by exposing specific body parts. Therefore, only a limited four site selection was made. It could be possible that other sites such as thigh could provide additional data. Moreover, measuring skinfolds and circumferences at other sites, would allow as checking the validity of an extended number of equations in our sample as well. This limitation though is also an advantage for this target population since only the two least invasive (biceps and triceps skinfolds) are required so as not to make the subjects feel embarrassed.

5. Conclusion

These conclude to the hypotheses that equations formed by both methods (BIA and anthropometry) in the current work are not invasive, are accurate and reliable with BIA showing to have better reliability through the Bland and Altman validation process. Further validation of these equations in similar and potentially larger populations will provide stronger evidence of their accuracy, and use in clinical practice. Validation of these equations' accuracy in measuring changes in fat mass after interventions is considered the next step for demonstrating their usage in clinical practice. More population specific, in terms of age, BMI, and other characteristics, development of equations for estimating body composition seems to be necessary.

Competing interests

Yannis Manios works as a part-time scientific consultant for Friesland Foods Hellas. None of the other authors had any personal or financial conflict of interest. The study sponsor had no role in the study design; the collection, analysis, or interpretation of the data; the writing of the manuscript; or the revision and submission of the manuscript.

Funding information

The authors would like to declare that the study was funded with a research grand from Friesland Foods. The study sponsor had no role in the study design; the collection, analysis, or interpretation of the data; the writing of the manuscript; or the revision and submission of the manuscript.

Contributors and their role in the paper

The authors declare that their responsibilities were as follows Yannis Manios, Moschonis George, and Kanellakis Spyridon designed the study; Kanellakis Spyridon, Moschonis George and Vandorou Anastasia collected the data; Kourlaba Georgia and Kanellakis Spyridon conducted the literature review and performed the statistical analyses; Kanellakis Spyridon and Kourlaba Georgia writing the manuscript.

Acknowledgements

This study was funded with a research grant from Friesland Foods. The authors would like to thank, Evangelia Grammatikaki, Sofia Tanagra, Vasiliki Dede, Aikaterini Kyriakou, Maria Petrogianni, Odysseas Androutsos, Kostantina Maragkopoulou, Angeliki Giannopoulou, Efstathoula Argyri, Christina Maurogianni, Vasiliki Iatridi, Anthi Naoumi, Victoria Maskini, and Sofia Komninou, for their precious contribution.

References

[1] Bjorntorp P. Abdominal fat distribution and disease: an overview of epidemiological data. Ann Med 1992;24(February (1)):15–8.
[2] Schindler AE. Obesity and risk of cancer in the woman. Zentralbl Gynakol 1998;120(5):235–40.
[3] Macinnis RJ, English DR, Gertig DM, Hopper JL, Giles GG. Body size and composition and risk of postmenopausal breast cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2004;13(December (12)):2117–25.
[4] Thomson R, Brinkworth GD, Buckley JD, Noakes M, Clifton PM. Good agreement between bioelectrical impedance and dual-energy X-ray absorptiometry for estimating changes in body composition during weight loss in overweight young women. Clin Nutr 2007;26(December (6)):771–7.
[5] Woo J, Kwok T, Lau E, Li M, Yu LM. Body composition in Chinese subjects: relationship with age and disease. Arch Gerontol Geriatr 1998;26(January–February (1)):23–32.
[6] Jonnalagadda SS, Skinner R, Moore L. Overweight athlete: fact or fiction? Curr Sports Med Rep 2004;3(August (4)):198–205.
[7] Kontogianni MD, Panagiotakos DB, Skopouli FN. Does body mass index reflect adequately the body fat content in perimenopausal women? Maturitas 2005;51(July (3)):307–13.
[8] Simon T. Why is cardiovascular health important in menopausal women? Climacteric 2006;9(September (Suppl. 1)):13–8.
[9] Bergman RN, Kim SP, Hsu IR, Catalano KJ, Chiu JD, Kabir M, et al. Abdominal obesity: role in the pathophysiology of metabolic disease and cardiovascular risk. Am J Med 2007;120(February (2 Suppl. 1)):S3–8 [discussion S29–32].
[10] Despres JP. Cardiovascular disease under the influence of excess visceral fat. Crit Pathw Cardiol 2007;6(June (2)):51–9.
[11] Das UN. Obesity, metabolic syndrome X, and inflammation. Nutrition 2002;18(May (5)):430–2.
[12] Segal KR, Van Loan M, Fitzgerald PI, Hodgdon JA, Van Itallie TB. Lean body mass estimation by bioelectrical impedance analysis: a four-site cross-validation study. Am J Clin Nutr 1988;47(January (1)):7–14.
[13] Gray DS, Bray GA, Gemayel N, Kaplan K. Effect of obesity on bioelectrical impedance. Am J Clin Nutr 1989;50(August (2)):255–60.
[14] Deurenberg P, van der Kooij K, Evers P, Hulshof T. Assessment of body composition by bioelectrical impedance in a population aged greater than 60 y. Am J Clin Nutr 1990;51(January (1)):3–6.
[15] Heitmann BL. Evaluation of body fat estimated from body mass index, skinfolds and impedance. A comparative study. Eur J Clin Nutr 1990;44(November (11)):831–7.
[16] Svendsen OL, Haarbo J, Heitmann BL, Gotfredsen A, Christiansen C. Measurement of body fat in elderly subjects by dual-energy X-ray absorptiometry, bioelectrical impedance, and anthropometry. Am J Clin Nutr 1991;53(May (5)):1117–23.
[17] Lohman TG. Advances in body composition assessment. Champaign, IL: Human Kinetics Publishers; 1992.
[18] Roubenoff R, Baumgartner RN, Harris TB, Dallal GE, Hannan MT, Economos CD, et al. Application of bioelectrical impedance analysis to elderly populations. J Gerontol A Biol Sci Med Sci 1997;52(May (3)):M129–36.
[19] Piers LS, Soares MJ, Frandsen SL, O'Dea K. Indirect estimates of body composition are useful for groups but unreliable in individuals. Int J Obes Relat Metab Disord 2000;24(September (9)):1145–52.
[20] Kyle UG, Genton L, Karsegard L, Slosman DO, Pichard C. Single prediction equation for bioelectrical impedance analysis in adults aged 20–94 years. Nutrition 2001;17(March (3)):248–53.
[21] Haapala I, Hirvonen A, Niskanen L, Uusitupa M, Kroger H, Alhava E, et al. Anthropometry, bioelectrical impedance and dual-energy X-ray absorptiometry in the assessment of body composition in elderly Finnish women. Clin Physiol Funct Imaging 2002;22(November (6)):383–91.
[22] Frisancho AR. New norms of upper limb fat and muscle areas for assessment of nutritional status. Am J Clin Nutr 1981;34(November (11)):2540–5.
[23] Gerber LM, Goerres G, Uebelhart D, Suter PM. Measurement of body composition in daily practice. Praxis (Bern 1994) 2007;96(October (44)):1717–25.
[24] Kuczmarski RJ, Fanelli MT, Koch GG. Ultrasonic assessment of body composition in obese adults: overcoming the limitations of the skinfold caliper. Am J Clin Nutr 1987;45(April (4)):717–24.

nature publishing group

SHORT COMMUNICATIONS
METHODS AND TECHNIQUES

Validation of Five Simple Models Estimating Body Fat in White Postmenopausal Women: Use in Clinical Practice and Research

Spyridon Kanellakis[1] and Yannis Manios[1]

The aim of this study was to validate noninvasive models, retrieved from the literature, estimating body fat in white women. The cohort used for the validation consisted of 277 postmenopausal women, and the reference method was dual-energy X-ray absorptiometry (DXA). Five models were retrieved containing anthropometric measurements such as bicep and tricep skinfolds, waist circumference (WC), height, and body weight. Models including only BMI were found to be less biased and more valid than others including skinfolds and circumferences. The model by Visser *et al.*, estimating body density (BD = 0.0226 × sex − 0.0022 × BMI + 1.0605) with the subsequent use of Brozek's (and not Siri's) equation to estimate body fat percentage (%BF), was found to be more valid than the other models for this cohort. In conclusion, it seems that Visser's *et al.* model, including only BMI, with Brozek's equation, is a fast, noninvasive, and valid method to assess body composition in white potmenopausal women in clinical practice and research.

Obesity (2012) doi:10.1038/oby.2011.403

Excess body fat has been strongly linked to cardiovascular disease and other chronic diseases such as metabolic syndrome, diabetes mellitus, cancer, etc (1). Furthermore, as it has been reviewed, women seem to be somehow protected from cardiovascular disease till menopause, but their risk increases after menopause because of several hormonal changes which result in body composition changes (2). Lots of research is being made lately regarding accurate estimation of total and abdominal fat mass (3,4), as well as comparing methods accuracy on measurements (4).

Therefore, assessing body fat percentage in clinical practice for this specific group with adequate accuracy is of critical importance for estimating the risk for all these obesity-related diseases. "Gold standard methods" such as underwater weighing, dual-energy X-ray absorptiometry (DXA), deuterium oxide dilution, and Bod Pod are not always feasible to perform, even in research, because they are labor-intensive, of high-cost, laboratory-based, not easily transferred in other sites, and they can cause volunteer discomfort. The most widely used method for estimating body composition is anthropometric measurements, such as skinfolds, circumferences, height, and body weight. A large number of models estimating body composition based on anthropometry are available in the literature; yet most of them are still quite complicated, invasive, time-consuming, need experienced personnel, and require exposure of the body of the patient causing her discomfort. Furthermore, some of these are validated to subcohorts in the same study, and some others are not. Therefore, it is logical that the choice of a model would be more accurate after comparing these models in the same cohort.

Therefore, the aim of this study was to validate and compare, using DXA as gold standard method, in the same population cohort of white postmenopausal women, existing models estimating body fat using simple anthropometric measurements such us weight, height, biceps or triceps skinfolds, and waist circumference (WC), which are fast and easy to obtain without causing discomfort to the patient, making them most appropriate to use in daily clinical practice and research.

METHODS AND PROCEDURES

The sample size was 277 white postmenopausal women, aged 50–75 years old, with BMI range from 20.5 to 42.4 kg/m^2. All subjects were more than 2 years after their last menstruation (12.4 ± 6.9 years). None of the subjects had a disease that might affect body composition (i.e., end-stage renal failure, cancer, edema, askitis, etc). All participants signed written consent form prior entering the intervention. The study was approved by the Ethical Committee of Harokopio University of Athens and was conducted in accordance with the code of ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans.

Body weight and standing height were measured in light clothing, with no shoes using a digital scale (Seca 861; Seca, Vogel & Halke,

[1]Department of Nutrition & Dietetics, Harokopio University of Athens, Athens, Greece. Correspondence: Yannis Manios (manios@hua.gr)

Received 23 January 2011; accepted 18 December 2011; advance online publication 00 Month 2012. doi:10.1038/oby.2011.403

Table 1 Validation of the models in our cohort ($n = 277$)

Model	Bias (%BF)	Limits of agreement (%BF)	SEE from current work	SEE from literature	ICC	r′	r
% BF Martarelli *et al.* (BMI)	−1.95*	±9.72	4.86	—	0.823	0.288*	0.715*
% BF Visser *et al.* (SKF, Siri equation)	8.49*	±9.62	4.81	5.6	0.651	−0.217*	0.526*
% BF Visser *et al.* (BMI, Siri equation)	3.55*	±6.84	3.42	4.8	0.883	−0.181*	0.796*
% BF Visser *et al.* (SKF, Brozek equation)	5.76*	±9.54	4.77	—	0.636	−0.359*	0.526*
% BF Visser *et al.* (BMI, Brozek equation)	1.21*	±6.76	3.38	—	0.878	−0.303*	0.796*
% BF Lean *et al.* (WC)	4.29*	±11.52	5.76	4.0	0.718	0.209*	0.569*
% BF Lean *et al.* (BMI)	4.42*	±10.40	2.60	3.9	0.789	0.256*	0.664*

r′, Pearson correlation coefficient between the mean of methods and difference of methods at the Bland–Altman Plot. r, Pearson correlation coefficient between body fat percentage estimated from DXA and each equation.
BF, percent body fat; DXA, dual-energy X-ray absorptiometry; ICC, intraclass correlation; WC, waist circumference.
*$P < 0.001$.

Hamburg, Germany) with an accuracy of 0.1 kg and a stadiometer (Seca Leicester Height Measure; Seca, Vogel & Halke) to the nearest 0.1 cm. BMI was calculated as weight (kg) divided by height squared (m^2). Waist circumference was measured with an inelastic plastic tape measure midway between the inferior margin of the last rib and the crest of the ilium at the level of the umbilicus and hip circumference at the level of the greater trochanters and pubic symphisis to the nearest 0.1 cm. Right triceps and biceps skinfolds were measured with a Lange skinfold caliper. All procedures were performed by one well-trained researcher. All measurements were taken thrice, and average was used in the analysis.

Fat mass, fat-free mass, bone mineral content, and fat mass percentage were determined by DXA (Lunar DPX-MD, Madison, WI) according to manufacturer's guidelines. A daily quality assurance check was performed, using an aluminum phantom provided by the manufacturer. The scans were performed in the morning by an experienced technician. DXA was used as reference method.

A literature review was conducted so as to derive simple body composition models for white women. Criteria of "simplicity" were no requirement of expensive equipment such as bioelectrical impedance analyzers, infrared devices, etc.; no requirement of measuring skinfolds other than biceps or triceps minimizing exposure of subjects' body that might cause discomfort; and finally to be fast and noninvasive. Therefore, they could only contain elements measured with weight scales and stadiometer (body weight and height, respectively, and derived BMI), skinfold caliper (biceps and triceps skinfolds), and measuring tape (WC and hip circumference).

The models identified and tested were:

Model 1. FM = 1.9337 × BMI − 26.422 (SEE ± 4.84 kg) by Marterelli *et al.* (5) converted to percent body fat by the equation %BF = (FM/weight) × 100

Model 2. BD = 0.0226 × sex − 0.0022 × BMI + 1.0605 (SEE ± 4.8 %BF) by Visser *et al.* (♀:0, ♂:1) converted to %BF using the both the Siri (6) and Brozek (7) equations

Model 3. BD = 0.0186 × sex − 0.030 × log(biceps + triceps) + 1.0481 (SEE ± 5.6 %BF) by Visser *et al.* (8). (♀:0, ♂:1) converted to %BF using the both the Siri and Brozek equations

Model 4. %BF = 0.232 × waist + 0.657 × triceps + 0.215 × age − 5.5 (SEE ± 4%BF) by Lean *et al.* (9).

Model 5. %BF = 0.730 × BMI + 0.548 × triceps + 0.270 × age − 5.9 (SEE ± 3.9 %BF) by Lean *et al.* (7,9).

where FM = fat mass (kg), %BF = percent body fat, BD = body density (g/cm^2), SEE = standard error of the estimate.

Normality of continuous variables was evaluated through the Kolmogorov–Smirnov test. Continuous variables are presented as mean ± s.d. Bland–Altman technique (10) and Intraclass correlation (**Figure 1**) were used so as to validate and compare the selected models. Bias and limits of agreement were calculated with Bland–Altman technique. Differences between methods, bias, and its statistical significance were checked with paired samples *t*-test. A probability value of 5% was considered as statistically significant. All statistical calculations were performed on the SPSS version 14.0 software (SPSS, Chicago, Il).

RESULTS

The 277 women had a mean age of 62 ± 6.2 years, a mean BMI of 29.2 ± 4.5 kg/m^2, and a mean body fat percentage estimated from DXA 43.4 ± 5.6%. Bias, limits of agreement, and intraclass correlation of the models tested are shown on **Table 1**. All biases were found to be statistically significant ($P < 0.001$). Pearson correlation coefficients between difference and mean in the Bland–Altman plot are on **Table 1**. Model 2 by Visser *et al.* tended to underestimate %BF as this increased in a significant manner ($r = -0.181$ and -0.303 for Siri's and Brozek's equations, respectively) yet Bland–Altman analysis showed that it had a much less bias using Brozek's equation (1.21 %BF), than the other models tested (ranging from −1.95 to 8.49 %BF). The narrower limits of agreement was shown for the equation of Visser et al. with BMI converted to %BF by Brozek's equation (±6.76 %BF compared to the others which ranged from ±6.8 to ±11.5 %BF) (**Table 1**).

DISCUSSION

This study compared and validated the five simpler, faster, and less invasive models that could be retrieved from the literature for the estimation of body composition in postmenopausal white women. The number of subjects participating in the study ($n = 277$) is considered to be adequate for this kind of validations.

The most interesting outcome as seen from the intraclass correlation's is that the Models 1, 2, and 5 that are based on BMI seem to perform better than models based on skinfolds and WC (i.e., Models 3 and 4). This finding is also supported by the Bland–Altman analysis which shows that they are less biased and have narrower limits of agreement (**Table 1**). This could be explained by the fact that measuring skinfolds in elderly subjects is quite difficult and can result in marginal results

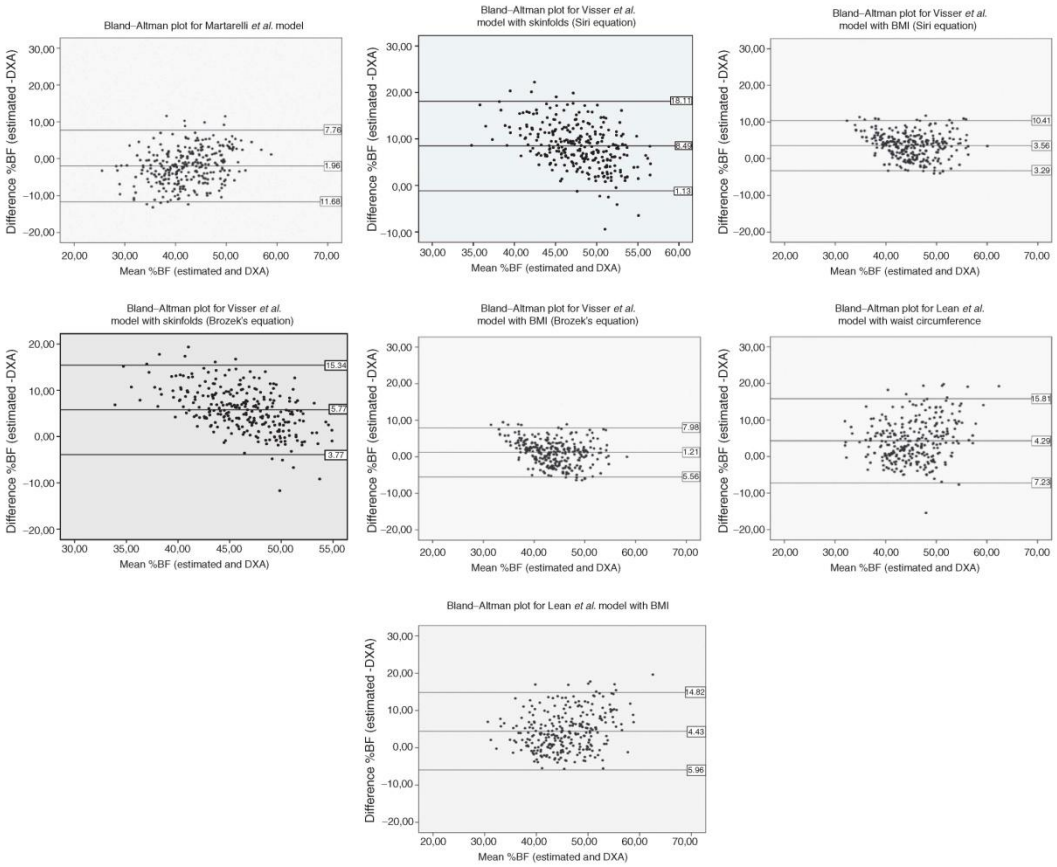


Figure 1 Bland–Altman plots.

even when obtained from experienced personnel due to several sources of error, while on the contrary measurements of height and weight are much more precise (11). Furthermore, since very few women at this age group have intense physical activity, it is less likely that they are of increased muscle mass, which is the biggest error factor of false correlation of BMI with fat mass. Visser's *et al.* models were found to underestimate %BF as this increases independently of the equation used (i.e., Siri's or Brozek's) while models of Martarelli *et al.* and Lean *et al.* were found to overestimate it.

Overall, Model 2 by Visser *et al.* was found, in the current study, to be the most valid in estimating %BF both from intraclass correlation and Bland–Altman analysis and to perform very well considering its simplicity and ease of use. The bias and limits of agreement are found to be comparable with other more complicated models available in the literature, that are based on anthropometry (12). This model's good performance could also be accounted to its specificity in elderly subjects. Furthermore, it has to be mentioned that Brozek's equation for transforming body density to %BF was shown to give more valid estimations than Siri's.

In conclusion, it could be stated that BMI seems to perform better in simple anthropometry models estimating body composition in rather sedentary postmenopausal women. Furthermore, Model 2—that uses BMI only—by Visser *et al.*, and subsequently Brozek's equation for estimating body fat percentage (%BF) is a fast, noninvasive, and valid method to assess body composition in white postmenopausal women in clinical practice and in research.

ACKNOWLEDGMENTS

This research has been co-financed by the European Union (European Social Fund – ESF) and Greek national funds through the Operational Program "Education and Lifelong Learning" of the National Strategic Reference Framework (NSRF) - Research Funding Program: Heracleitus II. Investing in knowledge society through the European Social Fund. The authors would like to thank Odysseas Androutsos, George Moschonis, Evaggelia Grammatikaki, Eystathoula Argyri, Konstantina Maragopoulou,

SHORT COMMUNICATIONS

METHODS AND TECHNIQUES

Vasiliki Iatridi, Christina Maurogianni, and Sofia Chondrou for their valuable contribution in data collection.

DISCLOSURE

The authors declared no conflict of interest.

© 2012 The Obesity Society

REFERENCES

1. Guh DP, Zhang W, Bansback N *et al*. The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: a systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health* 2009;9:88.
2. Simon T. Why is cardiovascular health important in menopausal women? *Climacteric* 2006;9 Suppl 1:13–18.
3. Hill AM, LaForgia J, Coates AM, Buckley JD, Howe PR. Estimating abdominal adipose tissue with DXA and anthropometry. *Obesity (Silver Spring)* 2007;15:504–510.
4. LaForgia J, Dollman J, Dale MJ, Withers RT, Hill AM. Validation of DXA body composition estimates in obese men and women. *Obesity (Silver Spring)* 2009;17:821–826.
5. Martarelli D, Martarelli B, Pompei P. Body composition obtained from the body mass index: an Italian study. *Eur J Nutr* 2008;47:409–416.
6. Siri W. Body composition from fluid spaces and density: analysis of methods. In: Brozek J, Henzchel A (eds). Techniques for Measuring Body Composition. National Academy of Sciences: Washington, 1961, pp 224–244.
7. Brozek J, Grande F, Anderson JT, Keys A. densitometric analysis of body composition: revision of some quantitative assumptions. *Ann N Y Acad Sci* 1963;110:113–140.
8. Visser M, van den Heuvel E, Deurenberg P. Prediction equations for the estimation of body composition in the elderly using anthropometric data. *Br J Nutr* 1994;71:823–833.
9. Lean ME, Han TS, Deurenberg P. Predicting body composition by densitometry from simple anthropometric measurements. *Am J Clin Nutr* 1996;63:4–14.
10. Bland JM, Altman DG. Measuring agreement in method comparison studies. *Stat Methods Med Res* 1999;8:135–160.
11. Ulijaszek SJ, Kerr DA. Anthropometric measurement error and the assessment of nutritional status. *Br J Nutr* 1999;82:165–177.
12. Peterson MJ, Czerwinski SA, Siervogel RM. Development and validation of skinfold-thickness prediction equations with a 4-compartment model. *Am J Clin Nutr* 2003;77:1186–1191.

Menopause: The Journal of The North American Menopause Society
Vol. 19, No. 4, pp. 467-470
DOI: 10.1097/gme.0b013e31823110db
© 2012 by The North American Menopause Society

Brief Report

Development and validation of a simple model based on anthropometry: estimating fat mass for white postmenopausal women

Yannis Manios, PhD, Spyridon Kanellakis, MSc, Odysseas Androutsos, MSc (Med Sci), Konstantina Maragkopoulou, BSc, Aggeliki Giannopoulou, BSc, Efstathoula Argyri, BSc, and George Moschonis, MSc

Abstract

Objective: The aim of this study was to develop and validate a simple anthropometric model that estimates the fat mass of white postmenopausal women and compare it to other models available in the literature.

Methods: Anthropometric data such as height, weight, waist and gluteal circumferences, biceps, triceps, suprailiac, and subscapular skinfolds, which were incorporated for the development and validation of this model, were derived from 276 white postmenopausal women. Dual-energy x-ray absorptiometry was used as the reference method. Furthermore, a comparison with other models was made using Bland-Altman analysis and intraclass correlation coefficient.

Results: The model developed in the current study was: fat mass = 0.069 × biceps + 0.553 × weight − 14.655 × height + 0.218 × gluteal circumference − 9.830 ($r^2 = 0.934$, $P < 0.001$). The Bland-Altman reliability analysis on the validation cohort showed a non-statistically significant bias of 0.158 kg and limits of agreement of ±4.21 kg; the intraclass correlation coefficient was 0.983. Furthermore, the validity of the current model also remained significant in different levels of BMI, ranging from 20.5-42 kg/m^2. When other models available in the literature were tested in the current cohort, bias ranged from −1.239 to −6.996 kg, while the limits of agreement from ±5.25 to ±8.05 kg.

Conclusions: The model developed in the current work was found to be valid for the assessment of postmenopausal women's fat mass at normal, overweight and obese BMI ranges, and can be easily applied in clinical practice and research.

Key Words: Fat mass – Dual-energy x-ray absorptiometry – Skinfolds – Hip circumference – Waist circumference.

Many chronic diseases such as cardiovascular disease (CVD), metabolic syndrome, diabetes mellitus, and cancer have been strongly linked to excess body fat.[1] Furthermore, women seem not to be threatened by CVD until menopause, but the risk increases after menopause because of several hormonal changes, which result in body composition changes as well. The latter include loss of fat free mass (FFM) and increased central adiposity,[2] among others.

Therefore, the accurate assessment of fat mass (FM) in postmenopausal women, both in clinical practice and in research, is of critical importance for estimating the risk concerning the previously mentioned obesity-related diseases. All "gold standard methods," such as underwater weighing, dual-energy x-ray absorptiometry (DXA), deuterium oxide dilution, and Bod Pod, cannot always be applied, even in research. This is mostly due to the fact that they are labor-intensive, costly, time-consuming, and laboratory based and can cause discomfort among volunteers because of physical exposure. One of the most widely used methods for estimating body composition is anthropometry (skinfolds; waist, gluteal, and upper arm circumferences; etc). Therefore, a large number of anthropometry-based models are available in the literature. However, the majority are quite complicated, invasive, and time-consuming and require patients' physical exposure.

Received February 5, 2011; revised and accepted July 28, 2011.

From the Department of Nutrition and Dietetics, Harokopio University of Athens, Athens, Greece.

All authors who have made an important contribution to this study are included and are thoroughly familiar with the primary data. The authors declare that their responsibilities were as follows: Y.M., G.M., and S.K. designed the study; S.K., O.A., K.M., A.G., and E.A. collected the data; and Y.M. and S.K. conducted the literature review, performed the statistical analyses, and wrote the manuscript.

Funding/support: This research has been co-financed by the European Union (European Social Fund-ESF) and Greek national funds through the Operational Program "Education and Lifelong Learning" of the National Strategic Reference Framework (NSRF) - Research Funding Program: Heracleitus II. Investing in knowledge society through the European Social Fund.

Financial disclosure/conflicts of interest: None reported.

Address correspondence to: Yannis Manios, PhD, Harokopio University, Kallithea, El Venizelou 70, Athens 17671, Greece. E-mail: manios@hua.gr

Copyright © 2012 The North American Menopause Society. Unauthorized reproduction of this article is prohibited.

Furthermore, most of the models have resulted from populations with a wide age range or have accrued from samples of both sexes for sample-size reasons. The need for simple models based on target population groups with specific characteristics is generally acknowledged.

Therefore, the aim of the current study was to build and validate a model estimating the FM of white postmenopausal women based on simple and easily applied anthropometric measurements, using DXA as the reference method, and assess its accuracy compared with that of other models available in the literature that are potentially applicable to the same age and sex group.

METHODS

The sample size was 276 white postmenopausal women aged from 47 to 79 years (mean [SD] age, 62 [6.2] y) with a body mass index (BMI) range of 20.5 to 42 kg/m^2 and a mean (SD) waist-to-hip ratio of 84 (7.5) cm (mean [SD], 80 [6.2], 84 [7.7], and 86 [7] cm for those with BMI <25, 25-30, and >30 kg/m^2, respectively). Volunteers from the wider area of the city center of Athens were asked to attend our laboratory. Menopause was defined as the absence of menstruation for the last 2 years (mean [SD], 12.4 [6.9] y) and was assessed by means of questionnaires. None of the participants had any disease that might affect hydration status or body composition or needed clinical care. The population was randomly divided into two subsamples that did not differ significantly with reference to BMI, FM, age, weight, height, and physical activity. The first cohort consisted of 185 women (development cohort), whereas the second cohort had 91 participants (validation cohort), so that the equation could be, respectively, formed and validated. The study was approved by the ethics committee of Harokopio University and was conducted in accordance with the code of ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans.

Body weight and standing height were measured using a digital scale (Seca 861; Seca Ltd., Vogel & Halke, Hamburg, Germany) with an accuracy of 0.1 kg and a stadiometer (Seca Leicester Height Measure; Seca Ltd., Vogel & Halke) to the nearest 0.1 cm, respectively, with the participant in light clothing and with no shoes. BMI was calculated as weight (kg) divided by height squared (m^2). Waist circumference (WC) was measured using an inelastic plastic tape, which was applied in the area between the lower margin of the last rib and the crest of the ilium at the level of the umbilicus, and gluteal circumference (GC), at the level of the greater trochanters and pubic symphysis to the nearest 0.1 cm. Right triceps, biceps (BSKF), subscapular, and suprailiac skinfolds were measured using a Lange skinfold caliper. All these procedures were performed by a single, well-trained researcher.

Body composition (FM and FFM) was determined by DXA (Lunar DPX-MD, Madison, WI; coefficient of variation, 2% and 1.1% for FM and FFM, respectively) by means of the analysis version 4.6 software. Furthermore, a medium scan mode was used, unless a slower mode was suggested by the manufacturer, for obese participants. A daily quality assurance check was performed, as suggested by the manufacturer. The scans were performed in the morning by an experienced technician.

Physical activity was assessed by recording the number of daily steps for 1 week as measured by pedometers (Yamax, Digi-Walker, SW 200), as validated and described elsewhere.[3]

According to the data collected, seven models[4-7] were retrieved from the literature which can be applied to white postmenopausal women, as shown analytically in Table 1.

The normality of continuous variables was evaluated through the Kolmogorov-Smirnov test. Continuous variables are presented as mean (SD). Regarding the model rationale, a multiple linear regression was used to develop the models to estimate FM. In particular, the backward stepwise procedure was used to retain the more significant variables (P value for entering a variable was set to 0.05, and P value for removing a variable was set to 0.10). The variables entered in the initial model were WC, GC, all four skinfolds, weight, height, and BMI. Bland-Altman analysis and intraclass correlation coefficient (ICC) were used in the validation cohort to validate the formed model against DXA results and compare it to the retrieved models as they were validated to DXA as well. Any differences between the development and validation cohorts, methods, bias, and its statistical significance were checked with a paired-samples t test against DXA results. Statistical significance was set to $P = 0.05$. All statistical calculations were performed using SPSS version 14.0 software (SPSS Inc., Chicago, IL).

RESULTS

Physical activity was 6,499 (3,001) steps for the development cohort and 6,600 (3,394) steps for the validation cohort, with no significant difference ($P = 0.801$).

The multiple linear regression model consisted of the following variables: GC, BMI, and BSKF. In particular, the generated equation was as follows:

$$\mathrm{FM} = 0.069 \times \mathrm{BSKF} + 0.553 \times \mathrm{W} - 14.655 \times \mathrm{H} + 0.218 \times \mathrm{GC} - 9.830,$$

where FM is fat mass (kg), GC is gluteal circumference (cm), W is weight (kg), H is height (m), and BSKF is biceps skinfold (mm).

The model explained 93.4% of the variance ($r^2 = 0.934$, $P < 0.0001$, and SE of the estimate = 2.14). Then, it was applied to the validation cohort, and the Bland-Altman technique showed a nonstatistically significant bias of 0.158 kg ($P = 0.476$). The limits of agreement were ±4.21 kg (SD, ±2.1 kg), indicating acceptable validity. The model's validity was further checked upon BMI ranges and age groups of older and younger than 65 years. More specifically, BMI less than 25, 25-30, and more than 30 kg/m^2 yielded a nonstatistically significant bias of −0.379 kg ($P = 0.290$), −0.282 kg ($P = 0.383$), and −0.499 kg ($P = 0.232$), respectively, with limits of agreement of ±2.94, ±3.88, and ±4.92 kg and ICCs of

© 2012 The North American Menopause Society

Copyright © 2012 The North American Menopause Society. Unauthorized reproduction of this article is prohibited.

TABLE 1. *Validation and comparison of models in cohort 2 (n = 91)*

Study	Reference method	Model	Age, y	n	Bias	Limits of agreement	Significance of bias	ICC	r^a
Martarelli et al (2008)	BIA	FM = 1.9337 × BMI − 26.422	11-80	341	−1.239[b]	6.877	0.001	0.956	0.131
Noppa et al (1979)	Tritiated water, TBK	BF = 0.37 × W + 0.13 × WC + 0.10 × (BSKF + TSKF) − 21.1	44-66	227	−6.997[b]	6.197	0.001	0.951	−0.718[b]
Lean et al (1996)	Underwater weighing	%BF = 0.232 × WC + 0.657 × TSKF + 0.215 × AGE − 5.5	18-64	84	3.372[b]	8.052	0.001	0.945	0.307[c]
Lean et al (1996)	Underwater weighing	%BF = 0.73 × BMI + 0.548 × TSKF + 0.27 × AGE − 5.9	18-64	84	3.424[b]	7.405	0.001	0.955	0.374[b]
Visser et al (1994)	Underwater weighing	BD = 0.0186 × sex − 0.030 × log(BSKF + TSKF) + 1.0481 (♀: 0, ♂: 1)	60-87	128	1.621[b]	6.156	0.001	0.951	−0.729[b]
Visser et al (1994)	Underwater weighing	BD = 0.0226 × sex − 0.0022 × BMI + 1.0605 (♀: 0, ♂: 1)	60-87	128	2.748[b]	5.246	0.001	0.976	0.306[c]
Visser et al (1994)	Underwater weighing	BD = 0.0212 × sex − 0.0356 × log(BSKF + TSKF+ SupSKF + SubSKF) + 1.0688 (♀ :0, ♂: 1)	60-87	128	1.152[b]	6.233	0.001	0.951	−0.695[b]
Current study	DXA	FM = 0.069 × BSKF + 0.553 × W − 14.655 × H + 0.218 × GC − 9.830	47-79	185	0.158	4.206	0.476	0.983	0.033

ICC, intraclass correlation coefficient; BIA, bioelectrical impedance analysis; FM, fat mass; BMI, body mass index; TBK, total body potassium; BF, body fat; W, weight; WC, waist circumference; BSKF, biceps skinfold; TSKF, triceps skinfold; %BF, percentage body fat; BD, body density; SupSKF, suprailiac skinfold; SubSKF, subscapular skinfold; H, height; GC, gluteal circumference; DXA, dual-energy x-ray absorptiometry; ♀, female; ♂, male.

[a]Correlation coefficient of difference to mean from the Bland-Altman plot.

[b]$P < 0.001$.

[c]$P < 0.05$.

0.935, 0.892, and 0.957, respectively. Regarding the age bias, it amounted to −0.072 kg ($P = 0.762$) and −0.330 kg ($P = 0.482$), with limits of agreement of ±3.72 and ±5.06 kg and ICCs of 0.988 and 0.971, for women older and younger than 65 years, respectively. Furthermore, it was not shown to overestimate or underestimate FM in the range of FM. Finally, the correlation observed between the average and the difference was statistically insignificant ($P = 0.078$, $r = -0.130$). The Bland-Altman analysis is shown in Figure 1. Table 1 illustrates the models retrieved from the relevant bibliography and their validations of the validation cohort, as well as the validation of the model developed in the current study, in terms of bias, limits of agreement, and the correlations between mean and differences in the Bland-Altman analyses and ICCs.

DISCUSSION

In this study, a simple model was developed for predicting FM using simple anthropometric data in a sample of low to moderately active postmenopausal women and was found to be of acceptable validity and of very low bias. The model explained 93.4% of the variance ($r^2 = 0.934$), which is considered very high, probably due to the following reasons. First, the simple parameters taken into consideration in the model such as height, weight, BSKF, and GC are less susceptible to measurement error.[8] Second, the model was formed upon an adequate sample size and a homogeneous group with regard to age and sex compared with the other models tested (Table 1). More analytically, the models of Lean et al[6] and Martarelli et al[5] were structured on a sample with a wide age range, whereas the model of Visser et al[7] was derived from a sample consisting of volunteers of both sexes. On the other hand, the equation of Noppa et al,[4] despite being formed from a rather adequate sample size and being age and sex specific, significantly underestimated the FM parameter probably because it had been based on Swedish women of apple-shaped body type, thus applying WC as an independent variable. Furthermore, different reference

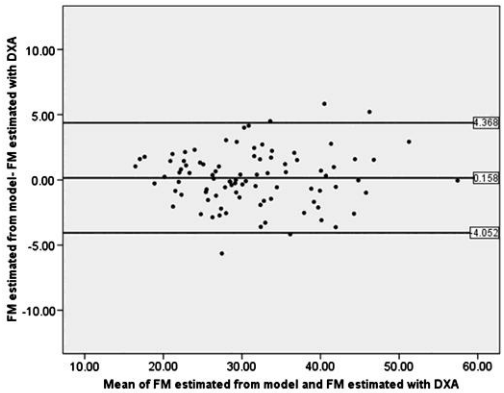


FIG. 1. Bland-Altman plot for the developed model. FM, fat mass; DXA, dual-energy x-ray absorptiometry.

Copyright © 2012 The North American Menopause Society. Unauthorized reproduction of this article is prohibited.

methods used for the development of the tested equations might have resulted in lower performance in this study.

The developed model performed well, compared with the retrieved models. It had the highest ICC (0.983), was found to be unbiased, and had the narrowest limits of agreement (±4.21 kg). All models were found to be quite precise according to ICC, yet they were found to have a significant bias varying from −1.239 to −6.996 kg and limits of agreement ranging from ±5.25 to ±8.05 kg. Furthermore, the models of Noppa et al and Visser et al, based on skinfolds, were found to significantly underestimate FM as this increased, with $r = -0.718$, -0.729, and -0.695, respectively (Table 1). The rest of the models significantly overestimated FM, except that of Martarelli et al, which had very low correlation coefficient.

An important limitation of skinfold measurement in this population is that not all sites of skinfold measurements are easily accessed because women at this age usually feel uncomfortable with the procedure of exposing specific body parts. Therefore, only a limited selection of four sites was made. Other sites, such as the thighs, could provide additional data and would allow the checking of the validity of an extended number of equations in this cohort. This limitation, though, also functions as an advantage for this target population because only the least invasive biceps skinfold is required.

CONCLUSIONS

In conclusion, it could be suggested that the model derived from the current work was found to be accurate, valid, and potentially applicable to clinical practice and research. The model's accuracy and reliability remained significant also when tested in different levels of BMI, ranging from 20.5-42 valid kg/m^2. Further validation of this model in similar and potentially larger populations is expected to provide stronger evidence concerning its accuracy. The validation of this model's accuracy to detect prospective changes in FM after an intervention period is considered to be the next step for further support of its use in clinical practice.

Acknowledgments: The authors would like to thank Alexandra Koumpitski, Paraskeui-Eirini Siatitsa, Aikaterini Kyriakou, Vasiliki Dede, and Anastasia Vandorou for their contributions to the data collection.

REFERENCES

1. Guh DP, Zhang W, Bansback N, Amarsi Z, Birmingham CL, Anis AH. The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: a systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health* 2009;9:88.
2. Simon T. Why is cardiovascular health important in menopausal women? *Climacteric* 2006;9(Suppl 1):13-18.
3. Crouter SE, Schneider PL, Karabulut M, Bassett DR Jr. Validity of 10 electronic pedometers for measuring steps, distance, and energy cost. *Med Sci Sports Exerc* 2003;35:1455-1460.
4. Noppa H, Andersson M, Bengtsson C, Bruce A, Isaksson B. Body composition in middle-aged women with special reference to the correlation between body fat mass and anthropometric data. *Am J Clin Nutr* 1979; 32:1388-1395.
5. Martarelli D, Martarelli B, Pompei P. Body composition obtained from the body mass index: an Italian study. *Eur J Nutr* 2008;47:409-416.
6. Lean ME, Han TS, Deurenberg P. Predicting body composition by densitometry from simple anthropometric measurements. *Am J Clin Nutr* 1996;63:4-14.
7. Visser M, van den Heuvel E, Deurenberg P. Prediction equations for the estimation of body composition in the elderly using anthropometric data. *Br J Nutr* 1994;71:823-833.
8. Ulijaszek SJ, Kerr DA. Anthropometric measurement error and the assessment of nutritional status. *Br J Nutr* 1999;82:165-177.

© 2012 The North American Menopause Society

Copyright © 2012 The North American Menopause Society. Unauthorized reproduction of this article is prohibited.

Menopause: The Journal of The North American Menopause Society
Vol. 20, No. 12, pp. 00-00
DOI: 10.1097/gme.0b013e31828f5cd8
© 2013 by The North American Menopause Society

Brief Report

Estimation of abdominal fat mass: validity of abdominal bioelectrical impedance analysis and a new model based on anthropometry compared with dual-energy x-ray absorptiometry

Yannis Manios, PhD,[1] Spyridon Kanellakis, MSc,[1] George Moschonis, MSc,[1] Ilias Pipidis, BSc,[2] Efstathios Skoufas, BSc,[2] and Vassilis Zafiropulos, PhD[2]

Abstract

Objective: Since abdominal adiposity has been associated with increased risk for chronic diseases, valid and low cost methods to estimate it are needed for clinical and research purposes. The aim of the current study was to develop and validate, using dual-energy x-ray absorptiometry (DXA) as reference method, a model that estimates abdominal fat mass percentage (AFM%) in white postmenopausal women based on simple and easy-to-apply anthropometric measurements. An additional aim was to validate an abdominal bioelectrical impedance analyzer (ViScan) for estimating waist circumference (WC) and AFM% in this group.

Methods: Ninety-one postmenopausal women (mean age, 61.5 y) with body mass index ranging from 20.9 to 42 kg/m^2 were randomly divided into one training set (n = 60) and one testing set (n = 31) to develop and validate a model based on anthropometric measurements estimating abdominal fat mass. Furthermore, in all 91 participants, ViScan estimations of WC and AFM% were validated against tape measurement and DXA results.

Results: The model developed was AFM% = 4.496 + (0.318 × WC) + 0.342 × suprailiac skinfold ($r = 0.834$, $P < 0.0001$). The model had no significant bias (0.25%) and ±7.5% limits of agreement. ViScan significantly overestimated WC by 7.04 cm and estimated AFM% with no significant bias (−0.13%) and ±7.6% limits of agreement.

Conclusions: Both the model and ViScan are equally valid against DXA in estimating AFM%. However, ViScan is not valid in estimating WC in white postmenopausal women.

Key Words: Waist circumference – Skinfold – ViScan – Bioelectrical impedance analysis.

Cardiovascular disease, metabolic syndrome, diabetes mellitus, and cancer are chronic diseases that have been strongly linked to excess abdominal body fat.[1] Furthermore, cardiovascular disease risk in women increases after menopause owing to several hormonal changes that result in body composition changes, such as loss of fat free mass and increased accumulation of central abdominal fat.[2]

Therefore, assessment of abdominal fat mass percentage (AFM%) in postmenopausal women, both in clinical practice and in research, is very important in estimating risks for the abovementioned obesity-related diseases. All "gold-standard methods" for assessing abdominal fat mass, such as computerized tomography (CT), magnetic resonance imaging (MRI), and dual-energy x-ray absorptiometry (DXA), cannot be applied regularly for such assessment because these methods are labor-intensive, expensive, time-consuming, and mostly laboratory-based. Moreover, CT and DXA expose participants to x-ray radiation. An alternative moderate-cost method (ViScan; Tanita, Tokyo, Japan) based on bioelectrical impedance analysis (BIA) that estimates waist circumference (WC) and AFM% and provides visceral fat rating has become commercially available recently. Very few studies have validated this equipment, which shows a rather acceptable validity in predicting total AFM% and WC in the general population but has been found to be less valid in obese participants.[3,4] Furthermore, the validity of this method in specific populations—such as children, older persons, postmenopausal women, and others—remains unclear. Two needs arise: the need to develop a simple low-cost method for estimating AFM% based on simple anthropometric measurements (therefore easily applied by health professionals such as dietitians and medical doctors) and the need to validate this abdominal BIA equipment in specific groups of people.

Received September 21, 2012; revised and accepted February 26, 2013.

From the [1]Department of Nutrition and Dietetics, Harokopio University, Athens, Greece; and [2]Laboratory of Body Composition, Department of Human Nutrition and Dietetics, Technological Educational Institute of Crete, 72 300, Sitia, Greece.

Funding/support: This research was cofinanced by the European Union (European Social Fund) and Greek National Funds through the Operational Program "Education and Lifelong Learning" of the National Strategic Reference Framework Research Funding Program "Heracleitus II: investing in knowledge society through the European Social Fund."

Financial disclosure/conflicts of interest: None reported.

Address correspondence to: Yannis Manios, PhD, Harokopio University, 70, El. Venizelou, Kallithea 17671, Athens, Greece. E-mail: manios@hua.gr

The aim of the current study was to develop and validate, using DXA as reference method, an easy and simple-to-use protocol that estimates AFM% in white postmenopausal women based on simple and easy-to-apply anthropometric measurements. An additional aim was to validate an abdominal bioelectrical impedance analyzer (ViScan) for estimating WC and total abdominal fat in this group.

METHODS

The sample comprised 91 postmenopausal women with a mean (SD) age of 61.5 (6.5) years and with body mass index (BMI) ranging from 20.9 to 42 kg/m^2. Volunteers from the wider area of the city center of Athens were asked to attend our laboratory. Menopause was defined as the absence of menstruation for at least the last 2 years (mean [SD], 12.4 [6.9] y) and was assessed by means of questionnaires. None of the participants had any disease that might affect hydration status or body composition, or needed clinical care. The population was randomly divided into two subsamples that did not differ significantly in BMI, percent body fat, age, weight, height, and physical activity. The first cohort (for developing the equation) consisted of 60 participants (training set), whereas the second cohort (for validating the equation) was composed of 31 participants (testing set). The study was approved by the ethical committee of Harokopio University and was conducted in accordance with the code of ethics of the World Medical Association (Declaration of Helsinki) for experiments involving humans.

Body weight and standing height were measured with participants in light clothing and without shoes, using a digital scale (Seca 861; Seca, Vogel & Halke, Hamburg, Germany) with an accuracy of 0.1 kg and a stadiometer (Seca Leicester Height Measure; Seca, Vogel & Halke) measuring to the nearest 0.1 cm, respectively. BMI was calculated as weight (kg) divided by height squared (m^2). WC was measured using an inelastic plastic tape applied to the area between the lower margin of the last rib and the crest of the ilium at the level of the umbilicus, and gluteal circumference was measured to the nearest 0.1 cm at the level of the greater trochanters and pubic symphysis. Right triceps (TSKF), biceps (BSKF), subscapular skinfold (SubSKF), and suprailiac skinfold (SupSKF) were measured using a Lange skinfold caliper. Sagittal abdominal diameter was measured to the nearest 0.5 cm at supine position using Holtain, and at standing position 2 cm above the navel using Lafayette. A bioelectrical impedance abdominal fat analyzer (ViScan; Tanita) was used to estimate AFM% and WC, as directed by the manufacturer's manual. All procedures were performed by a well-trained researcher.

Abdominal fat was determined at a region of interest from the upper level of L2 to the lower level of L4, using DXA (DPX-MD; Lunar, Madison, WI; coefficients of variation of 2% and 1.1% for fat mass and fat free mass, respectively) with Analysis software version 4.6. This specific region of interest has been shown to correlate better with total visceral adipose tissue.[5] Furthermore, medium scan mode was used (unless a slower mode was suggested by the manufacturer) in obese participants. Daily quality assurance check was performed, as suggested by the manufacturer. The scans were performed in the morning by an experienced technician.

Physical activity was assessed with pedometers (Yamax Digi-Walker SW 200) by recording the number of steps for 1 week, as validated and described elsewhere.[6]

Normality of continuous variables was evaluated through the Kolmogorov-Smirnov test. Continuous variables are presented as mean (SD). Backward stepwise linear regression was used in participants in the training set to develop the model in estimating AFM% ($P = 0.05$ for entering a variable and $P = 0.10$ for removing a variable). The variables entered in the initial model were as follows: WC, gluteal circumference, suprailiac skinfold, weight, height, sagittal abdominal diameter, BMI, and age. Bland-Altman analysis and intraclass correlation coefficient (ICC) were used in the testing set to validate the developed model against DXA results. Regarding abdominal BIA validation against DXA, Bland-Altman analysis and ICC were performed in all participants (N = 91). Any differences between the training and testing sets, methods, bias, and statistical significance were checked against DXA results using paired-samples t test. Furthermore, the model's performance was validated in different ranges of BMI (normal weight/overweight and obese). Statistical significance was set to $P = 0.05$. All statistical calculations were performed using IBM SPSS statistics software version 19.0.

RESULTS

Results are summarized in Table 1. The means (SDs) of the variance are included. Table 1 presents the means (SDs) of WC, AFM% (as measured by tape and estimated by ViScan), sagittal abdominal diameter (as measured at supine and standing positions with Holtain and Lafayette, respectively), and suprailiac skinfold. The training and testing sets did not differ significantly in any characteristic. The model developed to predict AFM% was

$$\text{AFM\%} = 4.496 + (0.318 \times \text{WC}) + 0.342 \times \text{suprailiac skinfold} \quad (1)$$

The model in the testing set explained 68.9% of the variance ($r = 0.834$, $P < 0.0001$). Bland-Altman analysis in the testing set showed 0.25% nonsignificant bias with ±7.5% limits of agreement and an ICC of 0.868. Furthermore, it was found to have acceptable performance within BMI ranges (Table 2). On the other hand, WC was significantly overestimated by ViScan by 7.04 cm, with ±13.5 cm limits of agreement and an ICC of 0.889. AFM% was shown to be underestimated by 0.13%, with ±7.6% limits of agreement and an ICC of 0.889 compared with DXA (Table 2).

DISCUSSION

The model developed in this study is simple and low-cost, whereas its ability to estimate AFM% in postmenopausal women without significant bias and within acceptable limits

WC was measured in cm and Suprailic skinfold in mm.

© 2013 The North American Menopause Society

TABLE 1. *Anthropometric and descriptive characteristics of the study population (N = 91)*

Characteristics	Training set (n = 60)	Testing set (n = 31)	*P*
Age, y	61.9 (6.59)	60.5 (6.46)	0.328
BMI, kg/m^2	30.1 (4.44)	30.1 (4.74)	0.977
Years of education	10.9 (3.71)	9.5 (4.05)	0.101
Steps per day	7,008 (3,041)	7,715 (4,118)	0.421
Waist circumference, cm	95.8 (11.51)	97.0 (12.56)	0.649
Waist circumference estimated by ViScan, cm	111.7 (11.29)	109.2 (11.14)	0.369
% Trunk fat by DXA	44.1 (5.114)	44.7 (5.318)	0.610
% Abdominal fat by DXA	46.1 (5.532)	46.6 (5.286)	0.709
% Abdominal fat estimated by ViScan	46.1 (6.454)	46.2 (5.674)	0.913
Sagittal abdominal diameter (Holtain), cm	21.7 (3.20)	21.7 (2.99)	0.929
Sagittal abdominal diameter (Lafayette), cm	24.4 (3.75)	24.8 (3.93)	0.599
Suprailiac skinfold, mm	25.8 (7.36)	26.7 (7.87)	0.578

Values are presented as mean (SD).
BMI, body mass index; DXA, dual-energy x-ray absorptiometry.

of agreement makes it an easy-to-apply alternative in clinical practice and research when gold-standard methods are not available or easy to perform.

Regarding the estimation of ViScan, it has been suggested to have specific advantages against tape measurements of WC: it does not require highly trained personnel, limits interindividual reproducibility among field workers, and is always standardized in the same manner because it is automated.[4] Schutz et al[4] showed ViScan to be quite valid in estimating WC; still, limits of agreement seem to be quite large even in the general population. From the current analysis, a Bland-Altman plot of these 91 postmenopausal women showed a statistically significant bias of 7.04 cm overestimation and very wide limits of agreement (±13.5 cm)—findings that were also confirmed by Thomas et al.[3] However, in this study, the ViScan estimation of WC was found not to be valid owing to high bias and wide limits of agreement, yet was found to be reliable owing to high ICC (0.889). This could be attributed to the special sex- and age-related characteristics of WC, which might differ in standing and supine positions in this group. According to this result, WC estimation with ViScan cannot be used as an alternative for assessing central obesity or metabolic syndrome risk factors according to the International Diabetes Federation or the World Health Organization. Results for AFM% estimation were found to be quite valid with no statistical significant bias and rather acceptable limits of agreement (±7.6%; Table 2). Obviously, the manufacturer has developed a stable internal model that estimates AFM% from the bioelectrical impedance data obtained and from the nonvalid but reliable WC estimation. However, ViScan was found to have very low ICC for obese participants, in agreement with the literature.[3] ViScan also provides a visceral fat rating score. This valuable information could not be validated in the present study because the reference method used in this analysis provides information only on total abdominal fat. However, other studies have shown poor validity in estimating intra-abdominal adipose tissue in overweight and obese participants.[3]

The Bland-Altman analysis of ViScan and the model developed from the current study for comparison with DXA results showed that both methods predict AFM% without significant bias, giving similar limits of agreement (±7.58% vs ±7.52%; Table 2). This means that until further validation of ViScan for estimating intra-abdominal adipose tissue has been carried out, anthropometric measurements would seem to give estimations of total AFM% with similar validity.

Furthermore, abdominal bioelectrical impedance analyses require less training than anthropometric measurements and

TABLE 2. *Validation of the developed equation and ViScan estimations against measurements of dual-energy x-ray absorptiometry and tape-measured waist circumference*

	Bias	SD	Limits of agreement	Significance of bias	ICC
Waist circumference estimated by ViScan, cm (n = 91)	7.039	6.739	13.48	0.001	0.889
% Abdominal fat estimated by ViScan (n = 91)	−0.127	3.790	7.580	0.768	0.882
% Abdominal fat estimated by ViScan for normal-weight/overweight participants (n = 53)	−1.045	3.306	6.612	0.037	0.897
% Abdominal fat estimated by ViScan for obese participants (n = 37)	1.194	4.096	8.192	0.109	0.432
% Abdominal fat estimated by anthropometry in this study (n = 31)	0.247	3.760	7.520	0.726	0.868
% Abdominal fat estimated by anthropometry in this study for normal-weight/overweight participants (n=17)	0.437	3.125	6.250	0.584	0.717
% Abdominal fat estimated by anthropometry in this study for obese participants (n = 14)	1.089	4.409	8.818	0.391	0.538

ICC, intraclass correlation coefficient.

provides a visceral fat rating as well. However, from the findings of the current study, it was not found to estimate WC accurately. On the other hand, anthropometrical equipmnet costs significantly less and is easily transferable to the site of measurement. Both methods were found to be equally valid in estimating AFM% in postmenopausal women; therefore, it seems that both methods can be used in clinical practice, depending on the professional's choice after expanding the equations for wider sex and age groups.

CONCLUSIONS

The simple and low-cost model developed to assess AFM% is found to have no significant bias and acceptable limits of agreement and to be equally valid with bioelectrical impedance abdominal analysis in this regard. On the other hand, ViScan is found to be valid in estimating AFM% but not valid in estimating WC in white postmenopausal women. Future studies should attempt to form models for estimating abdominal fat mass based on anthropometry in more age- and sex-specific groups and to expand the use of anthropometry in estimating AFM%. Moreover, ViScan should be validated in other specific groups and analyzed for its ability to estimate visceral fat.

REFERENCES

1. Guh DP, Zhang W, Bansback N, Amarsi Z, Birmingham CL, Anis AH. The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: a systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health* 2009;9:88.
2. Simon T. Why is cardiovascular health important in menopausal women? *Climacteric* 2006;9(Suppl 1):13-18.
3. Thomas EL, Collins AL, McCarthy J, et al. Estimation of abdominal fat compartments by bioelectrical impedance: the validity of the ViScan measurement system in comparison with MRI. *Eur J Clin Nutr* 2010;64:525-533.
4. Schutz Y, Sarafian D, Miles JL, Montani JP, Dulloo AG. Non-contact assessment of waist circumference: will tape measurements become progressively obsolete? *Eur J Clin Nutr* 2012;66:269-272.
5. Park YW, Heymsfield SB, Gallagher D. Are dual-energy x-ray absorptiometry regional estimates associated with visceral adipose tissue mass? *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002;26:978-983.
6. Crouter SE, Schneider PL, Karabulut M, Bassett DR Jr. Validity of 10 electronic pedometers for measuring steps, distance, and energy cost. *Med Sci Sports Exerc* 2003;35:1455-1460.

© 2013 The North American Menopause Society