



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ

ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ



ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ:

***«Αξιολόγηση της αλληλεπίδρασης περιβαλλοντικών συνιστωσών
και γενετικής σύστασης σε δείκτες σκελετικής υγείας»***

ΕΛΕΝΗ Β. ΚΑΒΟΥΡΑ

(Α.Μ. 21111)

Επιβλέπων Καθηγητής: Δεδούσης Γεώργιος

Αθήνα 2016

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Δεδούσης Γεώργιος , Καθηγητής Κυτταρικής και Μοριακής Βιολογίας του Ανθρώπου

Γιαννακούρης Νικόλαος, Αναπληρωτής Καθηγητής Λειτουργικής Βιολογίας - Ορμονικός Έλεγχος Μεταβολισμού

Παπανικολάου Γεώργιος, Λέκτορας στην Παθοφυσιολογία - Γενετική του Ανθρώπου

*Στην οικογένεια μου,
την γενετική και την ευρύτερη...*

***Ευχαριστώ πολύ**, όλους όσους με κάθε τρόπο συντέλεσαν στην εκπόνηση αυτής της εργασίας. Συγκεκριμένα, ευχαριστώ τον επιβλέποντα καθηγητή μου, κ. Δεδούση για την ανάθεση της εργασίας και την επίβλεψη κατά την διεκπεραίωση της. Και τέλος, ευχαριστώ τα μέλη της ομάδας του εργαστηρίου «Βιολογίας Κυττάρου»: Χαρά Αμερικάνου, Έφη Κατσαρέλη, Έφη Γρηγορίου, Αλίνα Φαρμάκη και Νάνα Καλαφάτη , χωρίς την βοήθεια και καθοδήγηση των οποίων δεν θα ήταν δυνατόν να παραχθεί αυτό το αποτέλεσμα.*

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ.....	3
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	5
ABSTRACT.....	7
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	9
ΟΣΤΙΚΗ ΜΑΖΑ:	9
ΟΣΤΙΤΗΣ ΙΣΤΟΣ.....	9
ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΜΑΖΑΣ ΣΤΟΥΣ ΕΝΗΛΙΚΕΣ.....	11
ΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗΣ	12
ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΟΣΤΙΚΗ ΜΑΖΑ	14
ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ.....	14
ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΣΧΕΤΙΚΕΣ ΜΕ ΤΗΝ ΟΣΤΙΚΗ ΜΑΖΑ ΠΟΥ ΟΦΕΙΛΟΝΤΑΙ ΣΕ ΕΝΑ ΜΟΝΟ ΓΟΝΙΔΙΟ....	15
ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΜΣΟΙ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΚΑΙ Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΟΥ ΣΤΗΝ ΟΣΤΙΚΗ ΜΑΖΑ - ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗ...	16
ΓΟΝΙΔΙΟ ΤΑΧ1ΒΡ1 ΚΑΙ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ rs11520772 ΣΕ ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΟΣΤΙΚΗ ΜΑΖΑ	22
ΚΛΙΝΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ.....	26
ΒΙΤΑΜΙΝΗ D	26
ΟΣΤΙΚΗ ΕΝΑΛΛΑΓΗ (BONE TURNOVER).....	35
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ.....	36
ΦΥΣΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΟΣΤΙΚΗ ΜΑΖΑ	36
ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΟΣΤΙΚΗ ΜΑΖΑ.....	38
ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	40
ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	40
ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΑΠΟΚΛΕΙΣΜΟΥ	41
ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗΣ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑΣ	43
ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ.....	43
ΜΕΤΡΗΣΗ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΠΟΣΟΤΙΚΗΣ ΥΠΕΡΧΟΜΕΤΡΙΑΣ.....	44
ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ.....	45
ΜΕΤΡΗΣΗ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ	46
ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟ (DNA) ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΤΟΥ	46
ΓΟΝΟΤΥΠΙΚΗ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ ΑΛΥΣΙΔΩΤΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗΣ ΣΕ ΠΡΑΓΜΑΤΙΚΟ ΧΡΟΝΟ (REAL TIME-POLYMERASE CHAIN REACTION, RT-PCR)	47
ΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑΣ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ D	50
ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	51

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	53
1. ΠΕΡΙΓΡΑΦΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	53
2. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΣΧΕΣΗΣ ΤΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ, ΤΗΣ ΑΣΚΗΣΗΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ 25(OH)D ΜΕ ΤΟΥΣ ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΥΠΕΡΗΧΟΜΕΤΡΙΑΣ	60
3. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΣΚΗΣΗΣ ΜΕ ΤΟΝ ΔΕΙΚΤΗ ΟΣΤΙΚΗΣ ΥΠΕΡΗΧΟΜΕΤΡΙΑΣ SOS (Speed of Sound)	65
ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	67
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	72
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	74

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Περίληψη :

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι να αξιολογήσει την αλληλεπίδραση περιβαλλοντικών συνιστωσών και γενετικής σύστασης σε δείκτες σκελετικής υγείας σε συγκεκριμένο πληθυσμό ενήλικων από την Ελλάδα. Δείκτες σκελετικής υγείας αποτελούν τα επίπεδα της οστικής μάζας, όπως αυτή εκτιμάται με την μέθοδο της οστικής υπερηχομετρίας στην πτέρνα. Ο περιβαλλοντικός παράγοντας που αξιολογείται είναι η φυσική δραστηριότητα και ο γενετικός παράγοντας είναι ο πολυμορφισμός rs11520772 του γονιδίου TAC1BP1. Επιπλέον εξετάστηκε η σχέση των επιπέδων της 25-υδροξύ-βιταμίνηςD στο ορό με τους δείκτες οστικής υπερηχομετρίας.

Μεθοδολογία:

Η παρούσα εργασία είναι μέρος μίας επιδημιολογικής μελέτης που πραγματοποιήθηκε σε 887 ενήλικες ελληνικής καταγωγής, 18-86 ετών. Στην μελέτη αξιολογήθηκαν ανθρωπομετρικές παράμετροι, διατροφική κατάσταση, φυσική δραστηριότητα και αιματολογικές εξετάσεις. Επιπλέον έγινε αξιολόγηση της οστικής μάζας με χρήση της μεθόδου της οστικής υπερηχομετρίας στην πτέρνα από όπου και προέκυψαν οι δείκτες BUA (Broadband Ultrasound Attenuation) και SOS (Speed of Sound). Μετρήθηκαν το βάρος και το ύψος των ατόμων, η παραθορμόνη καθώς και τα επίπεδα 25-υδροξύ-βιταμίνης D ορού και έγινε ανάλυση γενετικής σύστασης για τον πολυμορφισμό rs11520772. Για την στατιστική ανάλυση των περιγραφικών χαρακτηριστικών χρησιμοποιήθηκε τόσο το χ^2 του Pearson όσο και το T-test ανάλογα με την φύση των μεταβλητών. Η διερεύνηση των εξεταζόμενων σχέσεων πραγματοποιήθηκε αρχικά με απλές γραμμικές παλινδρομήσεις και έπειτα για εκείνες που εμφάνισαν στατιστική σημαντικότητα πραγματοποιήθηκαν επιπλέον πολλαπλές παλινδρομήσεις, εξετάζοντας την ύπαρξη συγχυτικών παραγόντων στο μοντέλο. Τέλος εξετάστηκε η αλληλεπίδραση των στατιστικά σημαντικών γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων του μοντέλου ως προς τους δείκτες οστικής υπερηχομετρίας.

Αποτελέσματα:

Στο συνολικό δείγμα ο επιπολασμός της ανεπάρκειας βιταμίνης D βρέθηκε ίσος με 53,3 % (25-υδροξυ-βιταμίνη D ορού $<20\text{ng/ml}$ ή $<50\text{nmol/L}$). Δεν προέκυψε στατιστικά σημαντική συσχέτιση μεταξύ της 25-υδροξυ-βιταμίνης D και επιπέδων της στον ορό με τους δείκτες οστικής υπερηχομετρίας. Αναφορικά με την άσκηση, αναδείχθηκε στατιστικά σημαντική αρνητική συσχέτιση των ωρών καθιστικής δραστηριότητας με τον δείκτη SOS, λαμβάνοντας υπόψη και συγχυτικούς παράγοντες ($p=0,028$). Επιπλέον αναδείχθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση των γονοτύπων του πολυμορφισμού rs11520772 ($p=0,009$) με τον δείκτη SOS. Τελικώς φάνηκε πως ο δείκτης οστικής υπερηχομετρίας SOS στην πτέρνα, για κάθε ώρα καθιστικής δραστηριότητας που πραγματοποιείται υφίσταται επιπλέον μείωση, κατά 12,45 m/s, στο άτομο με ένα αλληλόμορφο κινδύνου (AT), σε σχέση με ένα άτομο που δεν φέρει αλληλόμορφο κινδύνου (AA) ($p=0,045$). Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε ως $p < 0,05$.

Συμπεράσματα:

Η καθιστική δραστηριότητα στους ετεροζυγώτες (AT) για τον πολυμορφισμό rs11520772, επιβαρύνει επιπλέον την οστική μάζα στην περιοχή της πτέρνας σε σύγκριση με αυτούς που δεν έχουν κανένα αλληλόμορφο κινδύνου (AA).

Λέξεις-Κλειδιά: BUA, SOS, φυσική δραστηριότητα, TAX1BP1, 25-υδροξυ-βιταμίνη D

ABSTRACT

Abstract:

The objective of this study is to evaluate the interaction of environmental and genetic components in skeletal health indicators in adult population from Greece. As skeletal health indicators are considered the levels of bone mass, as estimated by the method of calcaneal quantitative ultrasound (QUS) measurements. The physical activity and the genetic polymorphism rs11520772, were evaluated, as environmental and genetic factors, respectively. Furthermore, the levels of 25-OH-vitamin D in serum were examined in relation to QUS measurements.

Methods:

The present study is an epidemiological study conducted in 887 Greek adults, 18-86 years old. This study examine anthropometric, dietary, physical activity, and other lifestyle factors. Calcaneal QUS measurements were performed with device, which measures broadband ultrasound attenuation (BUA) and speed of sound (SOS). Weight, height, PTH levels and 25-hydroxy vitamin D serum and genotyping for polymorphism rs11520772 were evaluated. For descriptive statistics analysis both Pearson's χ^2 and the T-test were performed, depending on the nature of the variables. The investigation of the examined relationships originally performed by simple linear regressions and then to those who reached the statistical significance were performed additional multiple regressions, considering the existence of confounding factors in the model. Finally the interaction of statistically significant genetic and environmental factors were performed, for the bone QUS measurements.

Results:

In the overall sample, the prevalence of vitamin D deficiency was equal to 53.3% (25-hydroxy-vitamin serum D <20ng / ml or <50nmol / L). There was no statistically significant correlation between the 25-OH-vitamin D and serum levels of the serum and QUS indices. Regarding exercise, was significantly negative correlated, as daily hours of sedentary activity with SOS indicator, taking into consideration confounding factors ($p = 0,028$). Furthermore

the genotypes of polymorphism rs11520772 was significantly negative correlated with SOS indicator, taking into consideration confounding factors ($p = 0,009$). Finally, it was found statistically significant interaction between the hours of sedentary activity and the rs11520772 polymorphism in the bone mass indicator SOS ($p=0,045$), Statistical significance level was settled in all cases $p < 0,05$.

Conclusions:

In the sample of this study the sedentary activities of the heterozygotes (AT) for the polymorphism rs11520772, aggravate their bone mass in the heel region, compared to those who carry none risk allele.

Key-words : BUA, SOS, physical activity, TAX1BP1, 25(OH)D₃

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΟΣΤΙΚΗ ΜΑΖΑ:

ΟΣΤΙΤΗΣ ΙΣΤΟΣ

Το οστό αποτελείται από ένα είδος συνδετικού ιστού, τον οστίτη ιστό. Ο οστίτης ιστός, μικροσκοπικά, αποτελείται από τρεις κύριους τύπους κυττάρων και την θεμέλια εξωκυττάρια ουσία. Οι τύποι των κυττάρων είναι οι οστεοβλάστες, οι οστεοκλάστες και τα οστεοκύτταρα, ενώ η θεμέλια ουσία αποτελείται από την οργανική εξωκυττάρια ουσία (οστεοειδές) και τα ανόργανα άλατα με την μορφή κρυστάλλων υδροξυαπατίτη [1].

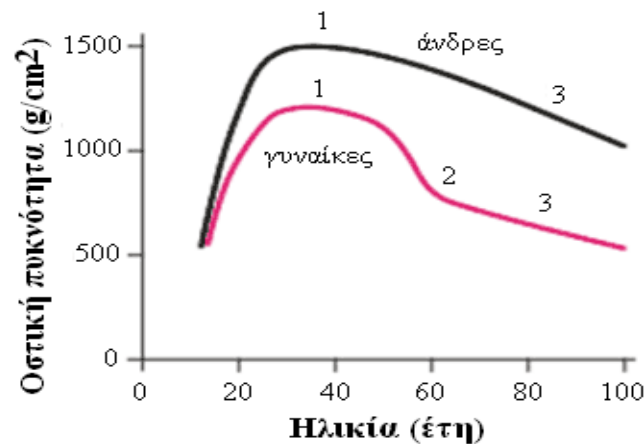
Ανάλογα με το πως διατάσσεται η θεμέλια ουσία διακρίνονται δύο τύποι οστίτη ιστού, ο φλοιώδης και ο σπογγώδης σε ποσοστιαία αναλογία 80% και 20% αντιστοίχως του συνολικού οστίτη ιστού. Τα τμήματα αυτά διαφέρουν τόσο δομικά όσο και λειτουργικά, με την κυριότερη δομική διαφορά του να είναι η πυκνότητα καθώς από μηχανικής άποψης είναι το ίδιο υλικό. Επιπλέον το σπογγώδες οστό παρουσιάζει ετήσιο ρυθμό ανακατασκευής περί το 25%, σε σχέση με το 2-3% που παρουσιάζει το φλοιώδες. Ο συνδυασμός των ειδών του οστίτη ιστού οδηγεί σε αυξημένη αντοχή του οστού, σημαντικά μεγαλύτερη από αυτή που θα είχε μεμονωμένα κάθε τύπος [2].

Τα οστά αποτελούν το 12-15% του σωματικού βάρους και στην σύστασή τους, κατά 25% αποτελούνται από πρωτεΐνη (κολλαγόνο), 65% μεταλλικά άλατα (υδροξυαπατίτης) και 10% νερό. Επιπλέον στον ανθρώπινο σκελετό περιέχεται το 99% του συνολικού ασβεστίου του σώματος, το 35% του νατρίου και περίπου το 60% του μαγνησίου [1].

ΟΣΤΙΚΗ ΜΑΖΑ

Η σκελετός είναι ένας ιστός που παραμένει ενεργός και δυναμικός σε όλη τη διάρκεια της ζωής του ανθρώπου, επιτελώντας πολλαπλό έργο για τον οργανισμό. Η συνεχής μεταβολική διεργασία που υφίσταται είναι απαραίτητη τόσο για την αύξηση ή την ανανέωσή του, όσο και την επίτευξη των λειτουργιών του σκελετού που σχετίζονται με την

διατήρηση της ομοιοστασίας του ασβεστίου και του φωσφόρου στην συστηματική κυκλοφορία. Για την ομαλή διεξαγωγή της μεταβολικής διαδικασίας σε όλα τα ηλικιακά στάδια είναι απαραίτητος ο συντονισμός των λειτουργιών των διαφορετικών κυττάρων του οστού. Υπάρχουν διάφοροι παράγοντες που ρυθμίζουν τις λειτουργίες και τον συντονισμό των λειτουργιών των κυττάρων του οστού, που θα αναφερθούν αναλυτικότερα παρακάτω .



Εικόνα Α1. Οστική πυκνότητα κατά τη διάρκεια της ζωής. 1) Κορυφαία οστική πυκνότητα, 2) Μετεμμηνοπαυσιακή οστική απώλεια, 3) Οστική απώλεια στους ηλικιωμένους. [1]

Χρονολογικά, η οστική μάζα αρχίζει να σχηματίζεται από το προγεννητικό εμβρυικό στάδιο (3η βδομάδα κύησης) μέχρι και την ηλικία των 20-25 ετών, όπου επιτυγχάνεται η λεγόμενη κορυφαία οστική μάζα ή στην διεθνή βιβλιογραφία Bone Peak Mass. Όπως περιγράφεται και από τον ισχύοντα ορισμό, κορυφαία οστική μάζα είναι «η μάζα που αποκτούν τα οστά ενός ατόμου μετά το πέρας της σκελετικής ανάπτυξης». Η αύξηση της οστικής μάζας κατά αυτήν την περίοδο είναι αποτέλεσμα εντατικής οστικής κατασκευής και ανακατασκευής που υπερτερούν της οστικής απορρόφησης. Μετά το πέρας της σκελετικής ανάπτυξης, ο ρυθμός ανακατασκευής του οστού ελαττώνεται σταδιακά με αποτέλεσμα η οστική μάζα να διατηρείται σταθερή ή να παρουσιάζει μία μικρή μείωση (Εικόνα Α1) . Οι άνδρες υπόκεινται σε μείωση της οστικής πυκνότητας της τάξης 4% ανά δεκαετία από τη τρίτη δεκαετία της ζωής τους και έπειτα. Αντίθετα, οι γυναίκες δεν παρουσιάζουν μείωση της οστικής πυκνότητας μέχρι την έναρξη της εμμηνόπαυσης. Με την έναρξη της εμμηνόπαυσης σημειώνεται ένας γρήγορος ρυθμός απώλειας που κυμαίνεται από 0,5-1,5% ανά χρόνο και παραμένει σταθερός για 5-10 χρόνια, ενώ έπειτα σταδιακά αυτοπεριορίζεται [3]. Αν και όπως δηλώνεται η σταδιακή απώλεια της οστικής μάζας στους

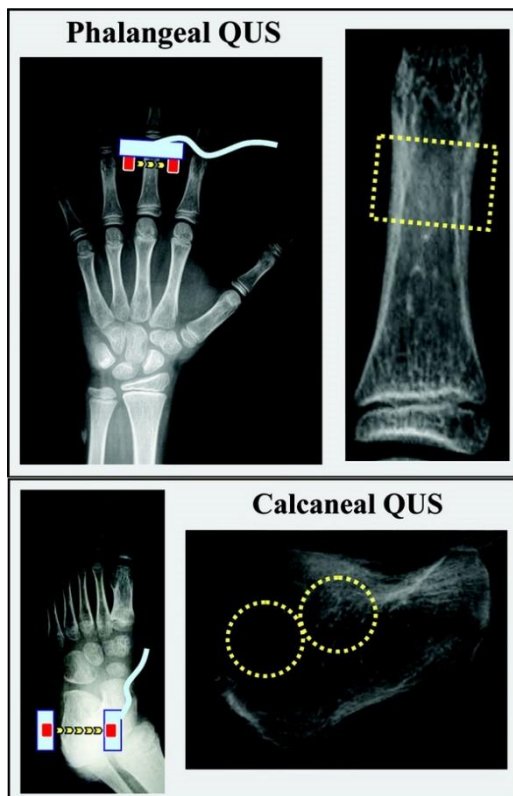
ενήλικες μετά την ηλικία των 40 ετών είναι μία φυσιολογική διαδικασία, υπάρχει περίπτωση ο ρυθμός της απώλειας να είναι μεγαλύτερος ή παρατεταμένος σε σχέση με τον αυτόν που παρατηρείται φυσιολογικά, και μπορεί να οδηγήσει στην εμφάνιση της νόσου της οστεοπόρωσης [1].

ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΗΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΜΑΖΑΣ ΣΤΟΥΣ ΕΝΗΛΙΚΕΣ

Για την μέτρηση της οστικής πυκνότητας (Bone Mineral Density, BMD) στην κοινή πρακτική χρησιμοποιείται η μέθοδος διπλής απορροφησιμετρίας ακτίνων Χ (dual-energy x-ray absorptiometry, DEXA). Η μέθοδος αυτή αποτελεί τη μέθοδο αναφοράς (Gold Standard Method) και επιτρέπει την ακριβή μέτρηση της οστικής πυκνότητας, χωρίς όμως να παρέχει πληροφορίες για τα δομικά και ποιοτικά χαρακτηριστικά του οστού, τα οποία αποτελούν σημαντικές πληροφορίες για τον καθορισμό του καταγματικού κινδύνου [4].

Η μέθοδος της ποσοτικής υπερηχομετρίας (Quantitative Ultrasound method, QUS) χρησιμοποιείται επίσης τις τελευταίες δεκαετίες για τον έλεγχο της οστεοπόρωσης στηριζόμενη στην αρχή της παραγωγής και ανίχνευσης δέσμης υπερήχων, μέσω μετατροπών ενέργειας υψηλής διακριτικής ικανότητας, που ονομάζονται ηχοβολείς. Οι μετρήσεις γίνονται στο οπίσθιο τμήμα της πτέρνας και στην άπω μετάφυση των εγγύς φαλάγγων [5]. Με την μέτρηση στο οπίσθιο τμήμα της πτέρνας, η μέθοδος παρέχει πληροφορίες που αφορούν την μέση τιμή οστικής πυκνότητας (BMD) και το QUS T-score, δηλαδή τις σταθερές αποκλίσεις από τις οποίες διαφέρει η BMD του εξεταζόμενου από την BMD υγιών νεαρών ατόμων. Επίσης η μέθοδος μας δίνει τις τιμές εξασθένησης της δέσμης ηχητικών κυμάτων (Broad Ultrasound Attenuation, BUA) που εκφράζεται σε Db/MHz και εκτιμά κατά προσέγγιση τον κίνδυνο κατάγματος, και τις τιμές της ταχύτητας μετάδοσης του ήχου (Speed of Sound, SOS). Η BUA και η SOS φαίνεται ότι σχετίζονται άμεσα με την ποσότητα της οστικής μάζας (Bone Mineral Content, BMC), την BMD και έμμεσα με στοιχεία αρχιτεκτονικής και μηχανικών ιδιοτήτων των οστών (πaráμετρος BUA), την ελαστικότητα και την ακαμψία (πaráμετρος, SOS). Οι εν λόγω δείκτες έχουν υψηλότερες τιμές σε υγιή οστά, από ότι σε οστεοπορωτικά. Βάση των δύο αυτών παραμέτρων, από τον κατασκευαστικό οίκο του μηχανήματος μέτρησης, παρέχεται ο δείκτης ακαμψίας (Stiffness

Index, SI), ο οποίος σχετίζεται με τον κίνδυνο κατάγματος και έχει αποδειχθεί ότι είναι καλύτερος δείκτης οστικής αντοχής από τις παραμέτρους BUA και SOS ανεξάρτητα. Ο δείκτης αυτός προκύπτει από τον μαθηματικό τύπο: $SI = (0,67 \times BUA) + (0,28 \times SOS) - 420$ [6].



Εικόνα Α2. Οστική μέτρηση με υπερήχους α) στις φάλαγγες των χεριών β) στην πτέρνα [7]

ΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗΣ

Η οστεοπόρωση όπως περιγράφεται από το 1993 είναι ένα συστηματικό νόσημα του σκελετού που χαρακτηρίζεται από μείωση της οστικής μάζας και επιδείνωση της μικροαρχιτεκτονικής οστικής δομής που συνεπάγεται αυξημένη ευθραυστότητα των οστών και πρόκληση αναίτιων καταγμάτων [8]. Απλούστερα η οστεοπόρωση θα μπορούσε να οριστεί ως συστηματικό νόσημα που χαρακτηρίζεται από αυξημένο κίνδυνο κατάγματος χωρίς να συμπεριληφθεί η χαμηλή οστική μάζα, και θεωρώντας την οστική μάζα ως ένα ισχυρό παράγοντα κινδύνου για πρόκληση κατάγματος [9].

Η οστεοπόρωση ως μία αναγνωρισμένη και καλά καθορισμένη ασθένεια, επηρεάζει πάνω από 75 εκατ. ανθρώπους σε Αμερική, Ευρώπη και Ιαπωνία. Η επίπτωση

της νόσου είναι υψηλότερη στο γυναικείο πληθυσμό και κυρίως στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ) είχε προβλεφτεί πως το 2010 το 6% των ανδρών και 21% των γυναικών ηλικίας 50-84 ετών πάσχουν από οστεοπόρωση με 27,6 εκατ. γυναίκες και άνδρες που νοσούν στην Ευρωπαϊκή Ένωση. Όσον αφορά την εκδήλωση της νόσου, η οστεοπόρωση προκαλεί 8,9 εκατ. κατάγματα ετησίως, εκ των οποίων το 1/3 συμβαίνουν στην Ευρώπη. Στην Ελλάδα το 2007 πάνω από 14.055 ασθενείς ηλικίας άνω των 50 ετών, υπέστησαν κάταγμα ισχίου, 70,1% γυναίκες και 29,9% άνδρες. Συγκρίνοντας τα δεδομένα με το 1997 η αύξηση των καταγμάτων ήταν της τάξεως του 175,5% [10].

Η νόσος της οστεοπόρωσης λειτουργικά καθορίζεται βάση της αξιολόγησης της οστικής πυκνότητας (BMD). Η οστεοπόρωση ορίζεται ως BMD που βρίσκεται 2,5 τυπικές αποκλίσεις ή περισσότερο, κάτω από τη μέση τιμή των νεαρών υγιών γυναικών (T-score του $<-2,5$ SD) μετρημένη με τη DXA. Το παραπάνω κριτήριο που έχει οριστεί από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ), αναφέρεται σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες της Καυκάσιας φυλής [11]. Σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες η διάγνωση της νόσου γίνεται με την χρήση της μέσης τιμής της BMD για γυναίκες αντίστοιχης ηλικίας (Z-score) και απαιτείται έλεγχος για αίτια δευτερογενούς οστεοπόρωσης. Στους άνδρες, από τα 65 χρόνια ζωής και πάνω διαγιγνώσκεται όμοια με τις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, ενώ πριν τα 65 έτη χρειάζεται η ύπαρξη τουλάχιστον ενός παράγοντα κινδύνου για την διάγνωση [12].

Πίνακας Α1. Διαγνωστική κατηγορία κατάστασης οστικής μάζα σε σχέση με την μέτρηση της οστικής πυκνότητας

Διαγνωστική κατηγορία	Μέτρηση οστικής πυκνότητας
Φυσιολογική	T-score $> -1SD$
Οστεοπενία	$-1SD \geq T\text{-score} > -2.5SD$
Οστεοπόρωση	T-score $\leq -2.5SD$
Εγκατεστημένη οστεοπόρωση	T-score $\leq -2.5SD + 1$ τουλάχιστον κάταγμα ευθραυστότητας

ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ ΤΗΝ ΟΣΤΙΚΗ ΜΑΖΑ

(Παράγοντες κινδύνου για οστεοπόρωση)

Η σκελετική μάζα είναι συνιστώσα διαφόρων παραγόντων. Κατά την επίτευξη της μέγιστης οστικής μάζας στην ήβη, πρωτεύων ρόλο διαδραματίζουν γενετικοί παράγοντες και συμπεριφοριστικοί-περιβαλλοντικοί παράγοντες όπως η άσκηση. Κατά την έκπτωση της οστικής μάζας στην ενήλικη ζωή σημαντικό πρωτεύων ρόλο αναλαμβάνουν η λειτουργική κατάσταση των ορμονών του φύλλου, η διατροφή μέσω συγκεκριμένων θρεπτικών συστατικών και η σωματική δραστηριότητα [13]. Παρακάτω αναλύονται οι επιμέρους παράγοντες που επηρεάζουν την οστική μάζα ως παράγοντες κινδύνου και την πολυπαραγοντική νόσο της οστεοπόρωσης.

ΓΕΝΕΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

Οι γενετικοί παράγοντες κινδύνου αφορούν σε διαφορές στο γενετικό υπόβαθρο των ατόμων του συντελούν στην εμφάνιση διαταραγμένης οστικής πυκνότητας. Οι γενετικές μεταλλάξεις στο ανθρώπινο γονιδίωμα χωρίζονται σε 2 κύριες κατηγορίες ανάλογα με τη συχνότητα τους στον πληθυσμό και τα λειτουργικά αποτελέσματα που έχουν στο γονίδιο στόχο.

- 1) **Μεταλλάξεις.** Ο όρος χρησιμοποιείται για να περιγράψει σπάνιες γενετικές αλλαγές (πολύ μικρής συχνότητας <1%), οι οποίες τροποποιούν τη λειτουργία του γονιδίου. Οι περισσότερες μεταλλάξεις επηρεάζουν άμεσα την αλληλουχία που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη στο γονίδιο στόχο, προκαλώντας αλλαγές στην δομή και τη λειτουργία της. Οι μεταλλάξεις προκαλούν μονογονιδιακές μενδελιανές διαταραχές οι οποίες κληρονομούνται στις οικογένειες με προβλέψιμο μοντέλο, όπως η ατελής οστεογένεση.
- 2) **Πολυμορφισμοί.** Ο όρος χρησιμοποιείται για να εκφράσει κοινές γενετικές αλλαγές που συμβαίνουν με πολύ μεγαλύτερη συχνότητα στο πληθυσμό (>1%). Ο πιο κοινός τύπος πολυμορφισμού είναι ο πολυμορφισμός ενός μόνο νουκλεοτιδίου (single nucleotide polymorphism, SNP) στον οποίο ένα μόνο νουκλεοτίδιο του DNA

υποκαθίσταται από ένα άλλο. Συμβαίνουν επίσης διαγραφές ή διπλασιασμοί. Άλλο είδος πολυμορφισμού είναι ο αριθμός των επαναλαμβανόμενων αλληλουχιών (CNVs), στον οποίο συμβαίνουν διαγραφές ή πολλαπλασιασμοί. Οι πολυμορφισμοί έχει φανεί ότι έχουν ήπιες δράσεις στη λειτουργία του γονιδίου. Δρουν αλλάζοντας τη δομή της πρωτεΐνης που κωδικοποιεί το συγκεκριμένο γονίδιο όταν ο πολυμορφισμός βρίσκεται στο εσωτερικό του γονιδίου, είτε επηρεάζοντας την έκφραση του γονιδίου, όταν ο πολυμορφισμός εντοπίζεται στις ρυθμιστικές περιοχές ή στον εκκινιτή [14].

Παρά το γεγονός ότι οι αλλαγές στην έκφραση ή στη λειτουργία ενός μόνο γονιδίου είναι μικρές, παθήσεις όπως η οστεοπόρωση, αποδίδονται στην αθροιστική δράση εκατοντάδων πολυμορφισμών. Η ρύθμιση της οστικής πυκνότητας και άλλων φαινοτύπων που σχετίζονται με την υγεία των οστών, καθορίζονται από τους πολυμορφισμούς σε πολλά γονίδια, όπου ο κάθε ένας έχει σχετικά μικρή έκφραση, παρά από τα αποτελέσματα των μεταλλάξεων σε λίγα γονίδια. Αυτό επαληθεύεται και από πρόσφατες μελέτες σάρωσης του γονιδιώματος (GWAS), όπου παρατηρούνται μικρές επιδράσεις από δεκάδες μεταλλάξεις κοντά ή πάνω σε γονίδια [14].

ΔΙΑΤΑΡΑΧΕΣ ΣΧΕΤΙΚΕΣ ΜΕ ΤΗΝ ΟΣΤΙΚΗ ΜΑΖΑ ΠΟΥ ΟΦΕΙΛΟΝΤΑΙ ΣΕ ΕΝΑ ΜΟΝΟ ΓΟΝΙΔΙΟ

Έχει διαπιστωθεί ότι κάποιες σπάνιες ασθένειες που έχουν σοβαρές επιπτώσεις στην οστική μάζα, την ευθραυστότητα των οστών και τον οστικό μεταβολισμό, είναι κληρονομούμενες και οφείλονται σε σπάνιες μεταλλάξεις ενός μόνο γονιδίου. Η σοβαρή οστεοπόρωση, η ευθραυστότητα των οστών, ή υπερβολικά υψηλή οστική μάζα, ονομάζονται διαταραχές ενός μόνο γονιδίου (single gene disorders) που σχετίζονται με την οστεοπόρωση. Αυτές οι ασθένειες παρέχουν σημαντικές πληροφορίες για μοριακά μονοπάτια που ρυθμίζουν την οστική μάζα, την λειτουργία των οστεοκυττάρων και την οστική ποιότητα. Παραδείγματα διαταραχών είναι η ατελής οστεογένεση, σύνδρομο

μενδελιανής οστεοπόρωσης, σύνδρομα υψηλής οστικής μάζας, νόσος Camurati-Engelmann και η οστεοπέτρωση [14].

Όλες οι παραπάνω ασθένειες είναι οι συνέπειες της μετάλλαξης ενός μόνο γονιδίου στην λειτουργία των οστεοκυττάρων ή και της θεμέλιας ουσίας των οστών. Οι συνέπειες αυτές είναι τόσο σημαντικές, που καλύπτουν τα αποτελέσματα όλων των άλλων γονιδίων που συμβάλουν στην ρύθμιση της οστικής μάζας και ευθραυστότητας. Μολονότι οι παραπάνω διαταραχές οφείλονται σε σπάνιες μεταλλάξεις που προκαλούν αλλαγές στη λειτουργία των γονιδίων, οι κοινοί πολυμορφισμοί σε αυτά τα γονίδια έχει επίσης βρεθεί ότι ρυθμίζουν την οστική πυκνότητα στον κοινό πληθυσμό, παρότι έχουν πολύ μικρότερες συνέπειες [14].

ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΙ ΓΟΝΙΔΙΩΝ ΚΑΙ Η ΣΥΜΒΟΛΗ ΤΟΥΣ ΣΤΗΝ ΟΣΤΙΚΗ ΜΑΖΑ - ΟΣΤΕΟΠΩΡΩΣΗ.

Έχει ταυτοποιηθεί ένα πλήθος γονιδίων και πολυμορφισμών που συσχετίζονται με σκελετικές παραμέτρους όπως η οστική πυκνότητα, το μέγεθος των οστών, τον κίνδυνο καταγμάτων [15-17]. Η μελέτη των γενετικών παραγόντων κινδύνου στοχεύει στην ταυτοποίηση γενετικών πολυμορφισμών που συσχετίζονται με διάφορους σκελετικούς φαινοτύπους (κορυφαία οστική πυκνότητα, οστική μάζα, εμφάνιση οστεοπόρωσης και καταγμάτων, δείκτες οστικού μεταβολισμού, οστική απώλεια). Οι μελέτες αυτές αποσκοπούν στον εντοπισμός αλληλομόρφων κινδύνου ή προστατευτικών αλληλομόρφων μεταξύ των ατόμων ενός συγκεκριμένου πληθυσμού που πιθανόν να μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη κλινική πράξη για την ανίχνευση των ατόμων που έχουν αυξημένο γενετικό κίνδυνο να εμφανίσουν τη νόσο [18].

Στο πίνακα A2 Αναφέρονται τα γονίδια και οι πολυμορφικές τους θέσεις που έχουν βρεθεί μέσα από μελέτες συσχέτισης γονιδιωματικής σάρωσης (GWAS) να σχετίζονται με την οστική μάζα (BMD), την σπονδυλική στήλη ή/και τον αυχένα του μηριαίου και με την πιθανότητα κατάγματος. Τα γονίδια προκύπτουν από τα αποτελέσματα μέτα-αναλύσεων GWAS [19-27].

Πίνακας Α2: Γονίδια που σχετίζονται με την BMD και την πιθανότητα κατάγματος .

Γονίδιο	Πολυμορφισμός (SNP)	Αλληλόμορφο κινδύνου/ συχνότητα	β/ συσχετιζόμενη οστική πυκνότητα	Βιοχημικό μονοπάτι
DNM3	rs479336	G/ 0.3727	-0,04/ AM	Αδιευκρίνιστος Μηχανισμός
GPR177 (WLS)	rs1430742	C/ 0.1951	0,100/ AM 0,105/ ΣΣ	WNT-β-κατενίνης
GPR177 (WLS)	rs2566755	C/ 0.1978	0,100/ AM 0,104/ ΣΣ	WNT-β-κατενίνης
ZBTB40/ WNT4	rs6426749	T/ 0.1804	0,082/ AM 0,107/ ΣΣ	WNT-β-κατενίνης
ZBTB40	rs7524102	G/ 0.2253	0,079/ AM 0,094/ ΣΣ	WNT-β-κατενίνης
ANAPC1	rs17040773	C/ 0.1543	0,03/ AM	Αδιευκρίνιστος Μηχανισμός
INSIG2	rs1878526	A/ 0.2605	0,04/ ΣΣ	Αδιευκρίνιστος Μηχανισμός
SPTBN1	rs11898505	A/ 0.1987	0,067/ ΣΣ	Κωδικοποιεί πρωτεΐνη των οστών
PKDCC	rs7584262	T/ 0.1841	0,03/ AM	Αδιευκρίνιστος Μηχανισμός
GALNT3	rs6710518	T/ 0.3599	-0,064/ AM	Αδιευκρίνιστος Μηχανισμός
KIAA2018	rs1026364	T/ 0.391	0,03/ AM	Αδιευκρίνιστος Μηχανισμός
CTNNB1	rs87938	A/ 0.4652	-0,07/ AM	WNT-β-κατενίνης
LEKR1	rs344081	C/ 0.1905	0,06/ ΣΣ	Αδιευκρίνιστος Μηχανισμός
IDUA	rs3755955	A/ 0.1502	-0,05/ AM -0,05/ ΣΣ	Αδιευκρίνιστος Μηχανισμός
MEPE (BNSP2)	rs1471403	T/ 0.3425	0,068/ ΣΣ	Ενδοχονδρική

				οστεοποίηση
MEPE (BNSP2)/ SPP1 (OPN)	rs6532023	T/ 0.3411		Ενδοχονδρική οστεοποίηση
MEF2C	rs1366594	A/ 0.3745	-0,085/ AM	WNT (ρύθμιση SOST)
ALDH7A1	rs13182402	G/ 0.1094		Αναστολή διαφοροποίησης οστεοβλαστών, μείωση οστικού σχηματισμού
SUPT3H /RUNX2	rs11755164	T/ 0.3329	-0,03/ ΣΣ	Ενδοχονδρική οστεοποίηση
RSPO3	rs13204965	C/ 0.1108	-0,067/ AM	WNT-β-κατενίνης
ESR1	rs2504063	G/ 0.4199	-0,066/ AM -0,078/ ΣΣ	Έκφραση του υποδοχέα οιστρογόνων τύπου 1
C6orf97	rs2941740	G/ 0.57	0,073/ AM 0,070/ ΣΣ	Αδιευκρίνιστος Μηχανισμός
SOX4	rs9466056	A/ 0.4006	-0,03/ AM -0,03 /ΣΣ	Ενδοχονδρική οστεοποίηση
STARD3NL	rs1524058	T/ 0.418	-0,07/ ΣΣ	Αδιευκρίνιστος Μηχανισμός
FLJ42280	rs4729260	G/0.2495	-0,085/ AM -0,081/ ΣΣ	Αδιευκρίνιστος Μηχανισμός
FLJ42280	rs7781370	C/ 0.1978	-0,083/ AM -0,074/ ΣΣ	Αδιευκρίνιστος Μηχανισμός
SLC25A13	rs4727338	G/0.32		
WNT16	rs3801387	G/ 0.2514	-0,08/ AM -0,10/ΣΣ	WNT-β-κατενίνης
C7orf58	rs13245690	G/ 0.2546	0,03/ ΣΣ	Αδιευκρίνιστος Μηχανισμός
ABCF2	rs7812088	A/0.0609	0,04/ AM	Αδιευκρίνιστος Μηχανισμός
XKR9/ LACTB2	rs7017914	G/ 0.3013	0,02/ AM	Αδιευκρίνιστος Μηχανισμός
TNFRSF11B	rs2062377	T/ 0.3091	0,094/ ΣΣ	RANK-RANKL-OPG

(OPG)				
TNFRSF11B (OPG)	rs4355801	A/ 0.53	-0.09/ ΣΣ (effect)	RANK-RANKL-OPG
TNFRSF11B (OPG)	rs11995824	C/ 0.3503	-0,06/ AM -0,093/ ΣΣ	RANK-RANKL-OPG
FUBP3	rs7851693	G/ 0.37	0,05/ AM	Αδιευκρίνιστος Μηχανισμός
MPP7	rs3905706	T/0.3887	0,05/ ΣΣ	Αδιευκρίνιστος Μηχανισμός
MBL2/ DKK1	rs1373004	T/ 0.251	-0,04/ AM -0,05/ ΣΣ	WNT-β-κατενίνης (αναστολέας)
KCNMA1	rs7071206	C/ 0.2669	-0,05/ ΣΣ	Αδιευκρίνιστος Μηχανισμός
CPN1	rs7084921	T/ 0.3974	0,03/ AM	Αδιευκρίνιστος Μηχανισμός
LRP4/ ARHGAP	rs7932354	C/ 0.451	0.073/ AM	WNT-β-κατενίνης
LRP5	rs599083	G/ 0.3429	-0,067/ ΣΣ	WNT-β-κατενίνης αλληλεπίδραση με Dkk1
LRP5	rs3736228	T/ 0.14	0,13/ ΣΣ	WNT-β-κατενίνης
LIN7C	rs10835187	T/ 0.3951	-0,02/ ΣΣ	Αδιευκρίνιστος Μηχανισμός
DCDC5	rs16921914	A/ 0.2308	0,077/ ΣΣ	Αδιευκρίνιστος Μηχανισμός
SOX6	rs7117858	G/ 0.261	0,088/ AM	Ενδοχονδρική οστεοποίηση
KLHDC5 /PTHLH (κωδικοποιεί την PTHRP)	rs7953528	A/ 0.1456	0,04/ AM	Ενδοχονδρική οστεοποίηση
SP7 (osterix)	rs2016266	G/ 0.3626	0,012/ ΣΣ	Ενδοχονδρική οστεοποίηση Διαφοροποίηση οστεοβλαστών
DHH	rs12281008	A/ 0.0751	0,05/ ΣΣ	ΑδιευκρίνιστοςΜηχανισ

				μός
ERC1/ WNT5B	rs2887571	G/ 0.2129	-0,03/ AM -0,04/ ΣΣ	WNT-β-κατενίνης
C12orf23	rs1053051	T/ 0.4066	-0,03/ AM	Αδιευκρίνιστος Μηχανισμός
TNFSF11 (RUNKL)	rs9533090	T/ 0.3178	-0,120/ ΣΣ	RANK-RANKL-OPG
RPS6KA5	rs1286083	C/ 0.2418	-0,05/ AM -0,04/ ΣΣ	Αδιευκρίνιστος Μηχανισμός
CYLD	rs1564981	G/ 0.3338	-0,03/ ΣΣ	Αδιευκρίνιστος Μηχανισμός
SALL1/ CYLD	rs1566045	C/ 0.1415	-0,06/ AM	Αδιευκρίνιστος Μηχανισμός
AXIN1	rs9921222	T/ 0.418	-0,03/ AM -0,04/ ΣΣ	WNT-β-κατενίνης
C16orf38/ CLCN7	rs13336428	G/ 0.4176	-0,04/ AM -0,04/ ΣΣ	Αδιευκρίνιστος Μηχανισμός
NTAN1	rs4985155	G/ 0.4116	-0,03/ AM -0,03/ ΣΣ	Αδιευκρίνιστος Μηχανισμός
ADAMTS18	rs16945612 rs11859065 rs11864477	C/ 0.1168 A/ 0.1163 C/ 0.1021	0,04 /ΙΣ* 0,04/ ΙΣ 0,04/ ΙΣ	Διαφοροποίηση οστεοβλαστών, οστική ανακατασκευή
FOX L1	rs10048146	G/ 0.1914	-0,193/ ΣΣ	Διαφοροποίηση οστεοβλαστών μέσω WNT-β-κατενίνης
CRHR1	rs9303521	G/ 0.4849	-0,068/ ΣΣ	Ενεργοποίηση NFκB
SMG6	rs4790881	C/ 0.315	0,05/ AM 0,04/ ΣΣ	Αδιευκρίνιστος Μηχανισμός
HDAC5	rs228769	G/ 0.4185	0,081/ AM	Μεταγραφική ρύθμιση, ρόλο στον κυτταρικό κύκλο
SOST	rs4792909	T/ 0.4881		WNT
SOX9	rs7217932	A/ 0.456	0,03/ AM	Ενδοχονδρική οστεοποίηση

C18orf19/ FA M210A	rs4796995	G/ 0.4551	0,02/ AM	Αδιευκρίνιστος Μηχανισμός
TNFRS11A (RUNK)	rs884205	A/ 0.1882	-0,078/ΣΣ	RANK-RANKL-OPG
GPATCH1	rs10416218	C/ 0.4331	-0,03/ ΣΣ	Αδιευκρίνιστος Μηχανισμός
JAG1	rs2273061	G/ 0.4831	0,072/ ΣΣ	WNT-β-κατενίνης
FAM9B/ KAL1	rs5934507	G/ 0.2712	-0,09/ ΣΣ	Αδιευκρίνιστος Μηχανισμός

Οι μελέτες που συσχετίζουν γονίδια και πολυμορφισμούς με τις τιμές της QUS στην περιοχή της πτέρνας είναι περιορισμένες. Τα γονίδια που έχουν συσχετιστεί με τους δείκτες ποσοτικής υπερηχομετρίας σε επίπεδο μελετών GWAs αναφέρονται στον πίνακα A3 [21, 28-29].

Πίνακας A3: Γονίδια που σχετίζονται με τις παραμέτρους QUS.

ΓΟΝΙΔΙΟ	ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ (SNP)	ΧΡΩΜΟΣΩΜΑ	ΦΑΙΝΟΤΥΠΟΣ
CNTNSP2	rs2214681	7	BUA
ZCCHC6	rs700760	9	BUA
WPR77	rs3754032	1	SOS
ESR1	rs2234693	6	BUA
PPARG	rs10510418	3	BUA
PPARG	rs2938392	3	BUA
IL1RL1	rs953934	2	BUA

Οι μελέτες της επίδρασης γενετικών δεικτών στην οστική μάζα σε ελληνικό πληθυσμό είναι λίγες και αφορούν μικρό αριθμό γονιδίων και πολυμορφισμών,

συγκεκριμένες ηλικιακές ομάδες και περιλαμβάνουν μικρό αριθμό εθελοντών [30-36]. Οι πλειοψηφία των γενετικών τόπων που έχουν αναδεχθεί από τις μελέτες GWAs, κωδικοποιούν πρωτεΐνες που συμμετέχουν σε βιοχημικά μονοπάτια γνωστής λειτουργίας όπως το WNT, το ρυθμιστικό σύστημα RANK- RANKL- OPG και το σύστημα ενδοχονδρικής οστεοποίησης.

ΓΟΝΙΔΙΟ TAX1BP1 ΚΑΙ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ rs11520772 ΣΕ ΣΧΕΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΟΣΤΙΚΗ ΜΑΖΑ

Το γονίδιο Tax1 (human T-cell leukemia virus type I) binding protein 1 ή εν συντομία TAX1BP1 βρίσκεται στο μέσο του μικρό βραχίονα του χρωμοσώματος 7 (7p15) και κωδικοποιεί την πρωτεΐνη “Tax1 δεσμευτική πρωτεΐνη”. Η εν λόγω πρωτεΐνη είναι μια κυτταροπλασματική πρωτεΐνη δακτυλίου του ψευδαργύρου που δεσμεύει την ΐική ογκοπρωτεΐνη Tax. Η Tax κωδικοποιείται από ιό της λευχαιμίας των ανθρώπινων T-κυττάρων τύπου-I (HTLV-I) και είναι ένας ισχυρός ενεργοποιητής του NF-κβ σε μολυσμένα από τον ιό T-λεμφοκύτταρα [37]. Λόγω αυτή της δράσης της TAX1BP1 της έχει αποδοθεί αυτό το όνομα. Επιπλέον γνωρίζουμε ότι η TAX1BP1 αλληλεπιδρώντας με μία ακόμα πρωτεΐνη, την TNFAIP3 ρυθμίζει την απόπτωση του Tumor necrosis factor (TNF). Υπάρχουν στοιχεία που αποδεικνύουν ότι η TAX1BP1, αναστέλλει την μεταγωγή σημάτων φλεγμονωδών μονοπατιών. Συγκεκριμένα μέχρι στιγμής έχει φανεί πως η εμπλοκή της TAX1BP1 στην φλεγμονή επιτυγχάνεται με αρνητική ρύθμιση του TNF-α και της επαγόμενης από τον IL-1R ενεργοποίησης του παράγοντα NF-κβ [38-39]. Προς υποστήριξη των προηγούμενων, σε ποντίκια που επιτεύχθηκε παντελής έλλειψη της TAX1BP1, ανέπτυξαν σοβαρή φλεγμονή λόγω υπερευαισθησίας σε φλεγμονώδη μόρια, όπως TNF-α, Ιντερλευκίνη-1β (IL1 β) και άλλες προ-φλεγμονώδεις κυτοκίνες και πεθαίνουν πρόωρα [40] .

Είναι γνωστό ότι φλεγμονώδεις καταστάσεις συνδέονται με υψηλούς ρυθμούς απορρόφησης του οστίτη ιστού και με απώλεια οστικής μάζας. Η οστεοπόρωση και τα κατάγματα ευθραυστότητας είναι πιο συχνά σε άτομα που πάσχουν από ρευματοειδή αρθρίτιδα, το συστηματικό ερυθηματώδη λύκο, φλεγμονώδη νόσο του εντέρου, χρόνια

αποφρακτική πνευμονοπάθεια και σε άλλα φλεγμονώδη νοσήματα σε σύγκριση με υγιή πληθυσμό. Αυτά τα ευρήματα οδηγούν σε σύνδεση της δράσης των οστεοκλαστών, τα μοναδικά κύτταρα υπεύθυνα για την απώλεια οστού, και της παρουσίας προ-φλεγμονωδών κυτοκινών.

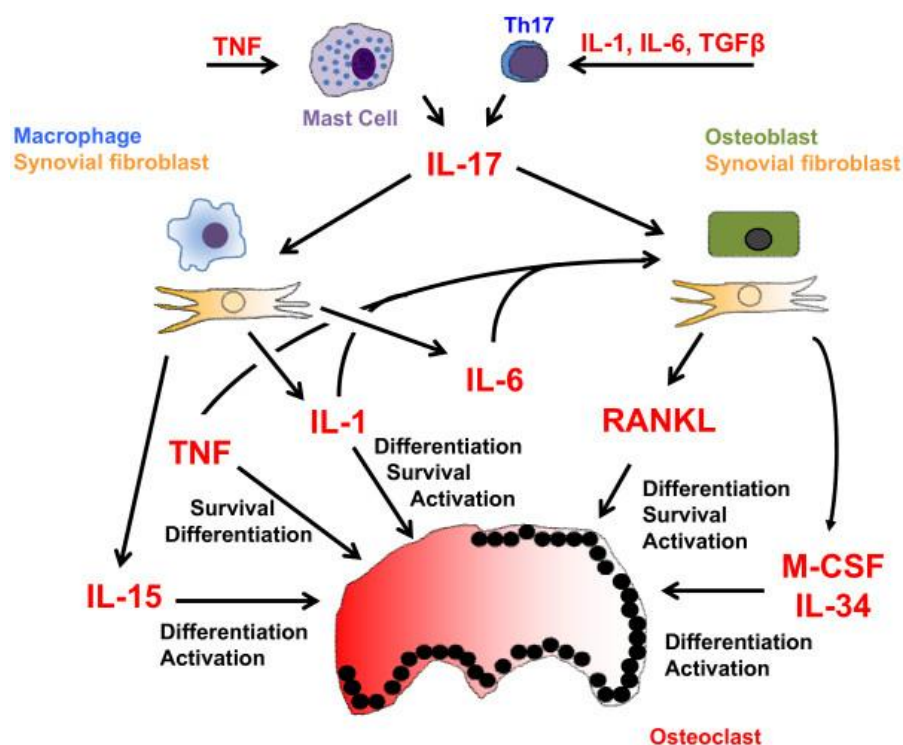
Όσον αφορά τον TNF-α του οποίου η δράση επηρεάζεται από την TAX1BP1, εκφράζεται από T-λεμφοκύτταρα [41], και προάγει την οστική απώλεια σε συνθήκες όπως η μετεμμηνοπαυσιακή οστεοπόρωση, η φλεγμονώδης οστεόλυση, η φατνιακή οστική απώλεια σε περιοδοντική φλεγμονή. Βιβλιογραφικά αναφέρεται πως ίσως είναι η κυτοκίνη-κλειδί που μεσολαβεί στην περιαρθρική απώλεια οστού στην ρευματοειδή αρθρίτιδα [42], [43]. Ειδικότερα ο TNF-α επιδρά στους οστεοκλάστες με δύο τρόπους, πρώτον μέσω της δράσης του στα κύτταρα του μυελού των οστών και δεύτερον στα πρόδρομα κύτταρα των οστεοκλαστών, που και τα δύο εκφράζουν υποδοχείς για τον TNF-α [44].

1. Η κύρια διαδικασία λαμβάνει χώρα όταν τα στρωματικά κύτταρα εκτίθενται στον TNF-α με αποτέλεσμα την παραγωγή RANKL, M-CSF, και IL-1, κυτοκίνες που προωθούν το σχηματισμό και την ενεργοποίηση των οστεοκλαστών. Ο TNF-α και το RANKL δρουν συνεργιστικά, και ελάχιστα επίπεδα του ενός ενισχύουν σημαντικά την ικανότητα παραγωγής οστεοκλαστών του άλλου [42]. Ο TNF-α έχει επίσης ισχυρή αντιαποπρωτική δράση επί των οστεοκλαστών, παρατείνοντας συνεπώς τη διάρκεια ζωής τους [45].
2. Ο δεύτερος μηχανισμός παρουσιάζεται όταν η φλεγμονή είναι πιο επιθετική και TNF-α μπορεί να προάγει τον σχηματισμό οστεοκλαστών από την άμεση τόνωση των προδρόμων κυττάρων του, χωρίς να χρειάζεται να μεσολαβήσει η δράση του στα στρωματικά κύτταρα, και αυτό προτείνεται ότι συμβαίνει μέσω της ενεργοποίησης του μετασχηματιστικού αυξητικού παράγοντα (TGF) -β [42].

Η ιντερλευκίνη (IL-1), όπως ενεργοποιείται με την σύνδεση του TNF-α στους υποδοχείς των στρωματικών κυττάρων και η παραγωγή της αποτελεί ένα σημαντικό συστατικό του

οστεοκλαστογεννητικού αποτελέσματος της δράσης του TNF-α . Η στενή σχέση μεταξύ των δύο αυτών κυτοκινών αντικατοπτρίζεται από το γεγονός ότι η βέλτιστη αποτροπή της φλεγμονώδους οστεοκλαστογένεσης και της καταστροφή των οστών απαιτεί αποκλεισμό και των δύο [42].

Ο NF-κβ είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας με πλειοτροπική δράση στη ρύθμιση, τον σχηματισμό, τη λειτουργία και την επιβίωση των οστεοκλαστών . Το εύρημα ότι η διαγραφή υπο-μονάδων του NF-κβ οδήγησε σε οστεοπέτρωση λόγω της απουσίας των οστεοκλαστών ακολουθήθηκε από την παρατήρηση ότι ο NF-κβ είναι ουσιώδης για την έκφραση του RANK στους προ-οστεοκλάστες ώστε να διαφοροποιούνται σε οστεοβλάστες, με απόκριση στον RANKL και άλλες κυτοκίνες που προάγουν την οστεοκλαστογένεση. Έτσι, οι αναστολείς του NF-κβ θα πρέπει να εμποδίζουν τον σχηματισμό οστεοκλαστών που προκαλείται άμεσα ή έμμεσα από τον RANKL ή τον TNF [46].

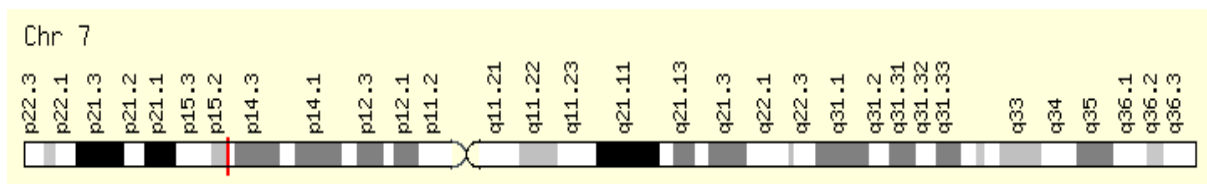


Εικόνα Α3. Κυτοκίνες ενεργοποιούν την οστεοκλαστογένεση[47] .

Στο παραπάνω σχήμα συμβαίνει ενεργοποίηση της οστεοκλαστογένεσης με τους εξής τρόπους: ο TNF, IL-1, IL-6 και IL-17 ακούν θετική ρύθμιση στην έκφραση του RANKL

(ενεργοποιητής υποδοχέα του παράγοντα NP-κβ) σε οστεοβλάστες και οστεοκλάστες του αρθρικού υμένα. Ο RANKL μεσολαβεί στην διαφοροποίηση, την επιβίωση και την ενεργοποίηση των οστεοκλαστών. Ο TNF, που παράγεται από τα μακροφάγα, προάγει τη διαφοροποίηση και την επιβίωση των οστεοκλαστών. IL-1 υποστηρίζει τη διαφοροποίηση, την επιβίωση και την ενεργοποίηση των οστεοκλαστών. Οι IL-6 και IL-17 προωθούν την οστεοκλαστογένεση έμμεσα. Ο IL-6 σε μεγάλο βαθμό παράγεται από ινοβλάστες και μακροφάγα και ενισχύει την έκφραση του RANKL ενώ συμβάλλει στην επαγωγή των κυττάρων Th17. Τα κύτταρα Th17 εκκρίνουν IL-17, η οποία επάγει την έκφραση του RANKL σε οστεοβλάστες και ινοβλάστες και ενισχύει την έκκριση των προ-φλεγμονωδών κυτοκινών από τα μακροφάγα. Ο M-CSF και η IL-34 προάγουν τη διαφοροποίηση και την ενεργοποίηση των οστεοκλαστών, η IL-33 υποστηρίζει τη διαφοροποίηση των οστεοκλαστών. Ο TGF αποτελεί αυξητικό παράγοντα μετασχηματισμού[47].

Μέσω αυτών των δύο στενά συνεργαζόμενων μορίων η πρωτεΐνη TAX1BP1, ασκεί την έμμεση οστεοκλαστική της δράση σας και όταν απουσιάζει ή προκαλείται αυξημένη οστική απώλεια, λόγω σοβαρής φλεγμονής, με τους τρόπους που αναπτύχθηκαν προηγουμένως.



Εικόνα A4. Χρωμόσωμα 7 και θέση του πολυμορφισμού *rs11520772*

Ο πολυμορφισμός *rs11520772* βρίσκεται στην νουκλεοτιδική θέση 27740857, στην ρυθμιστική περιοχή του γονιδίου TAX1BP1, στο μέσο του μικρό βραχίονα του χρωμοσώματος 7. Πρόκειται για μονονουκλεοτιδικό πολυμορφισμό (SNP), όπου η βάση της αδενοσίνης (A) αντικαθίσταται από την θυμίνη (T). Το αλληλόμορφο με την βάση A είναι το φυσιολογικό αλληλόμορφο ενώ η βάση T είναι το αλληλόμορφο κινδύνου (risk allele). Στην Καυκάσια φυλή το 79% των αλληλομόρφων είναι φυσιολογικά ενώ το 21% είναι αλληλόμορφα κινδύνου. Συνώνυμος πολυμορφισμός στην βιβλιογραφία είναι ο *rs12374786*.

Σε μια GWAS μετα-ανάλυση που πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια της σύμπραξης Genomos/Gefos (consortium) που δημοσιεύτηκε το 2014 ο συγκεκριμένος πολυμορφισμός συσχετίστηκε με τις μετρήσεις QUS στην περιοχή της πτέρνας. Στο πρώτο μέρος το οποίο περιλάμβανε 11 μελέτες η πολυμορφική θέση rs11520772, μαζί με άλλες 41 πολυμορφικές θέσεις, εμφάνισαν στατιστικά σημαντική σχέση με τις μετρήσεις της QUS στην πτέρνα. Κατά το δεύτερο μέρος της σύμπραξης, στην τελική μετα-ανάλυση που περιλάμβανε 13 μελέτες, το rs11520772 συσχετίστηκε στατιστικά σημαντικά ($p < 5 \times 10^{-6}$) με τις μετρήσεις QUS στην πτέρνα. Στο τελικό στάδιο (replication) πραγματοποιήθηκε de novo genotyping σε 15 μελέτες της σύμπραξης Gefos/Genomos σε 9 πολυμορφισμούς από τους παραπάνω, ανάμεσα στους οποίους ήταν και ο εν λόγω πολυμορφισμός [48].

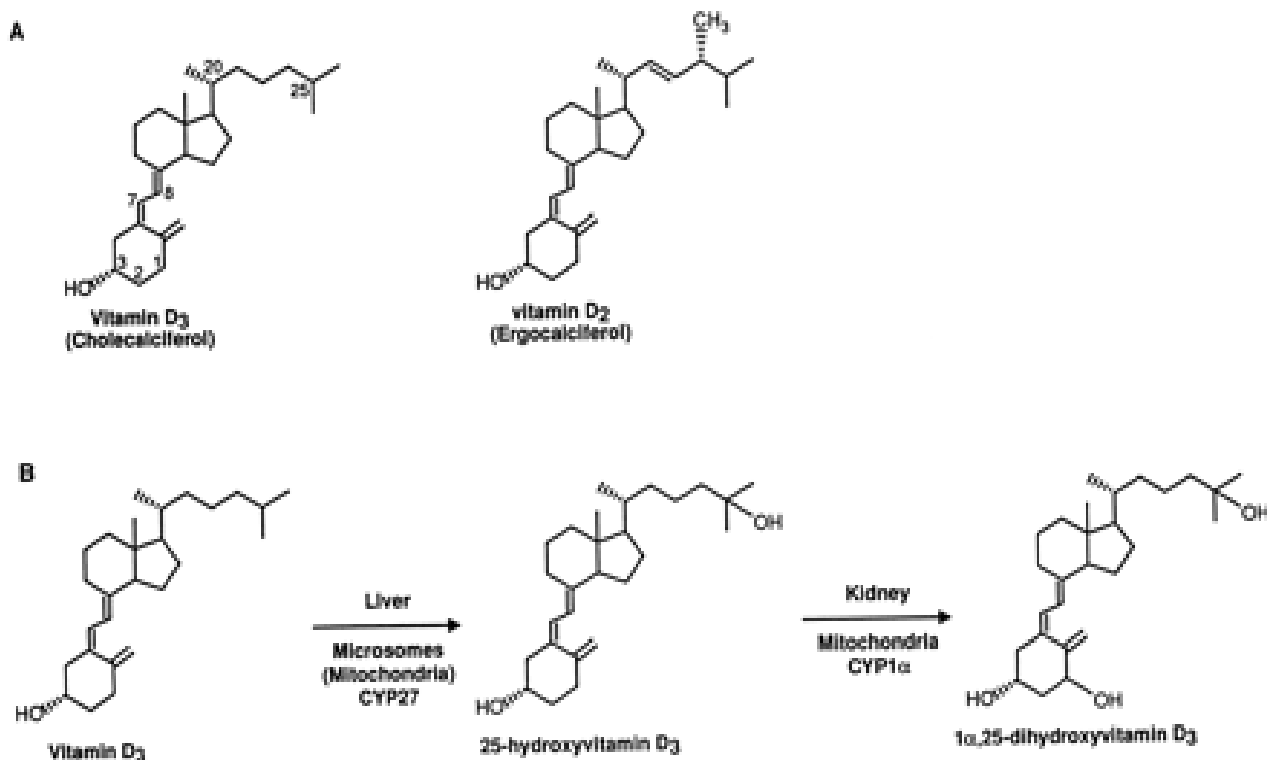
ΚΛΙΝΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

Υπάρχουν αρκετοί κλινικοί παράγοντες από τους οποίους εξαρτάται η διατήρηση της οστικής μάζας στην ενήλικη ζωή. Ένας κρίσιμος παράγοντας είναι η επίτευξη της μέγιστης οστικής πυκνότητας που ολοκληρώνεται τα πρώτα χρόνια της ενήλικης ζωής. Έπειτα από αυτόν τον παράγοντα η ηλικία αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα που σχετίζεται θετικά με έκπτωση της οστικής πυκνότητας όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως. Στους προηγούμενους παράγοντες προστίθενται και η έλλειψη βιταμίνης D, το χαμηλό σωματικό βάρος, απώλεια μεγαλύτερη από το 10% του σωματικού βάρους σε ηλικία <25 ετών, η πρόωρη εμμηνόπαυση (<40 ετών), πρωτοπαθής ή δευτεροπαθής αμηνόρροια, πρωτοπαθής ή δευτεροπαθής υπογοναδισμός στους άντρες, παθήσεις και φάρμακα που σχετίζονται με δευτεροπαθή οστεοπόρωση (π.χ. τα κορτικοστεροειδή) [49-50].

BITAMINΗ D

Η βιταμίνη D δομικά πρόκειται για ένα στεροειδές μόριο που αποτελείται από 4 δακτυλίου, τρεις εκ των οποίων είναι άθικτοι και ένας είναι “σπασμένος” δηλαδή υπάρχει ένα άνοιγμα μεταξύ δύο μορίων άνθρακα του δακτυλίου (σεκοστερόλη). Η βιταμίνη D που υπάρχει στο ανθρώπινο σώμα προέρχεται είτε από την πρόσληψη του λιποδιαλυτού

παράγονται D από την διατροφή είτε από την έκθεση του δέρματος στην ηλιακή ακτινοβολία [51]. Ουσιαστικά ο όρος βιταμίνη D χρησιμοποιείται για να περιγράψει μια ομάδα μορίων, και κατατάσσεται τόσο ως βιταμίνη όσο και ως ορμόνη [52].



Εικόνα A5. Σύμπλεγμα βιταμινών D, A) Χολικαλσιφερόλη (αριστερά), εργοκαλσιφερόλη (δεξιά), B) προβιταμίνη D₃ (αριστερά), 25-υδροξύ-βιταμίνη D₃ (μέση), 1,25- υδροξύ-βιταμίνη D₃ (δεξιά) [53]

Διαιτητική Πρόσληψη Βιταμίνης D

Η βιταμίνη D βρίσκεται κυρίως στα τρόφιμα ζωικής προέλευσης όπως το συκώτι, το κόκκινο κρέας, το αυγό, τα γαλακτοκομικά προϊόντα, και κάποια ψάρια με υψηλή περιεκτικότητα σε λίπος όπως ο σολομός, η ρέγκα και οι σαρδέλες. Ωστόσο οι καλές πηγές της βιταμίνης είναι περιορισμένες για αυτό το σκοπό γίνεται εμπλουτισμός επιλεγμένων τροφίμων με βιταμίνη D κυρίως σε χώρες με λιγοστή ηλιοφάνεια. Για τον εμπλουτισμό των τροφίμων χρησιμοποιείται κυρίως η βιταμίνη D₂ ή εργοκαλσιφερόλη η οποία είναι φυτικής προέλευσης και ακολουθεί την ίδια μεταβολική πορεία με την χοληκαλσιφερόλη.

Το νομοθετικό πλαίσιο που αφορά τον πλουτισμό με βιταμίνη D στα Ευρωπαϊκά κράτη δεν είναι κοινό αλλά κατά περίπτωση εφαρμόζεται διαφορετική πολιτική. Στις Σκανδιναβικές χώρες ο εμπλουτισμός γίνεται μόνο εφόσον υπάρχει αποδεδειγμένη ανάγκη δημόσιας υγείας, ενώ στο Ηνωμένο Βασίλειο παρότι δεν υπάρχει καμία διάταξη, και ο εμπλουτισμός κάποιων τροφίμων είναι ήδη επιβεβλημένος (μαργαρίνη). Ο εμπλουτισμός της μαργαρίνης με Βιταμίνη D είναι υποχρεωτικός και στην Ολλανδία, ενώ στην Φιλανδία προαιρετικά επιτρέπεται ο εμπλουτισμός του γάλακτος και της μαργαρίνης. Εκτός Ευρώπης, στο Καναδά τα ίδια τρόφιμα εμπλουτίζονται υποχρεωτικά με βιταμίνη D₂, και στις ΗΠΑ τα δημητριακά, το γάλα, είναι οι κυριότερες πηγές βιταμίνης D (98% του γάλακτος του εμπορίου είναι εμπλουτισμένο). Ανεξαρτήτως φυσικής προελεύσεως ή εμπλουτισμού η βιταμίνη D πρόκειται για μία σταθερή ένωση η οποία δεν επηρεάζεται σημαντικά από την επεξεργασία ή την αποθήκευση των τροφίμων.

Ηλιακή σύνθεση της βιταμίνης D

Στον άνθρωπο όπως και τα ζώα συναντάται το στεροειδές 5,7-χολιστραδιενόλη που κοινώς αποκαλείται ως 7-δευδρο-χοληστερόλη. Η 7-δευδρο-χοληστερόλη παράγεται από τους σμηγματογόνους αδένες του δέρματος από μόρια χοληστερόλης, και στην συνέχεια εκκρίνεται στην επιφάνεια της επιδερμίδας από όπου και απορροφάται στις διάφορες στιβάδες του δέρματος. Η εν λόγω ένωση κατανέμεται ομοιόμορφα στην επιφάνεια αλλά και το χορίο του δέρματος. Το εναπομείναν στην επιφάνεια ποσό της 7-δευδρο-χοληστερόλης με την επίδραση της ακτινοβολίας μετατρέπεται σε προβιταμίνη D₃. Η μετατροπή επιτυγχάνεται με την απορρόφηση ειδικών μικρών κυμάτων φωτός στο φάσμα του υπεριώδους (290-315 nm) από το συζευγμένο σύστημα διπλών δεσμών στο Β' δακτύλιο του στεροειδούς μορίου. Από την ίδια ακτινοβολία μπορεί να παραχθεί και το μόριο της λουμιστερόλης, ενώ με την περαιτέρω επίδραση της ακτινοβολίας στην προβιταμίνη D₃ παράγεται η ταχυστερόλη. Αλλά το μεγαλύτερο ποσοστό της προβιταμίνης D₃ ισομερίζεται με την επίδραση της θερμότητας σε δύο με τρεις ημέρες σε βιταμίνη D₃, ή χοληκαλσιφερόλη ή καλσιόλη [54].

Η χοληκαλσιφερόλη από το δέρμα όπου παράγεται διαχέεται στους ιστούς με την βοήθεια μιας μεταφορικής πρωτεΐνης που προσδένει την βιταμίνη D, (D-Binding protein, BDM) που ονομάζεται τρανσκαλσιφερίνη που συντίθεται στο ήπαρ. Μόνο η χοληκαλσιφερόλη εμφανίζει υψηλή συγγένεια με την BMD και έτσι εισέρχεται στην κυκλοφορία του αίματος σε αντίθεση με την λουμιστερόλη, την ταχυστερόλη, και την προβιταμίνη D3 που παραμένουν στο σημείο παραγωγής τους και απομακρύνονται με την ανανέωση των δερματικών κυττάρων [54].

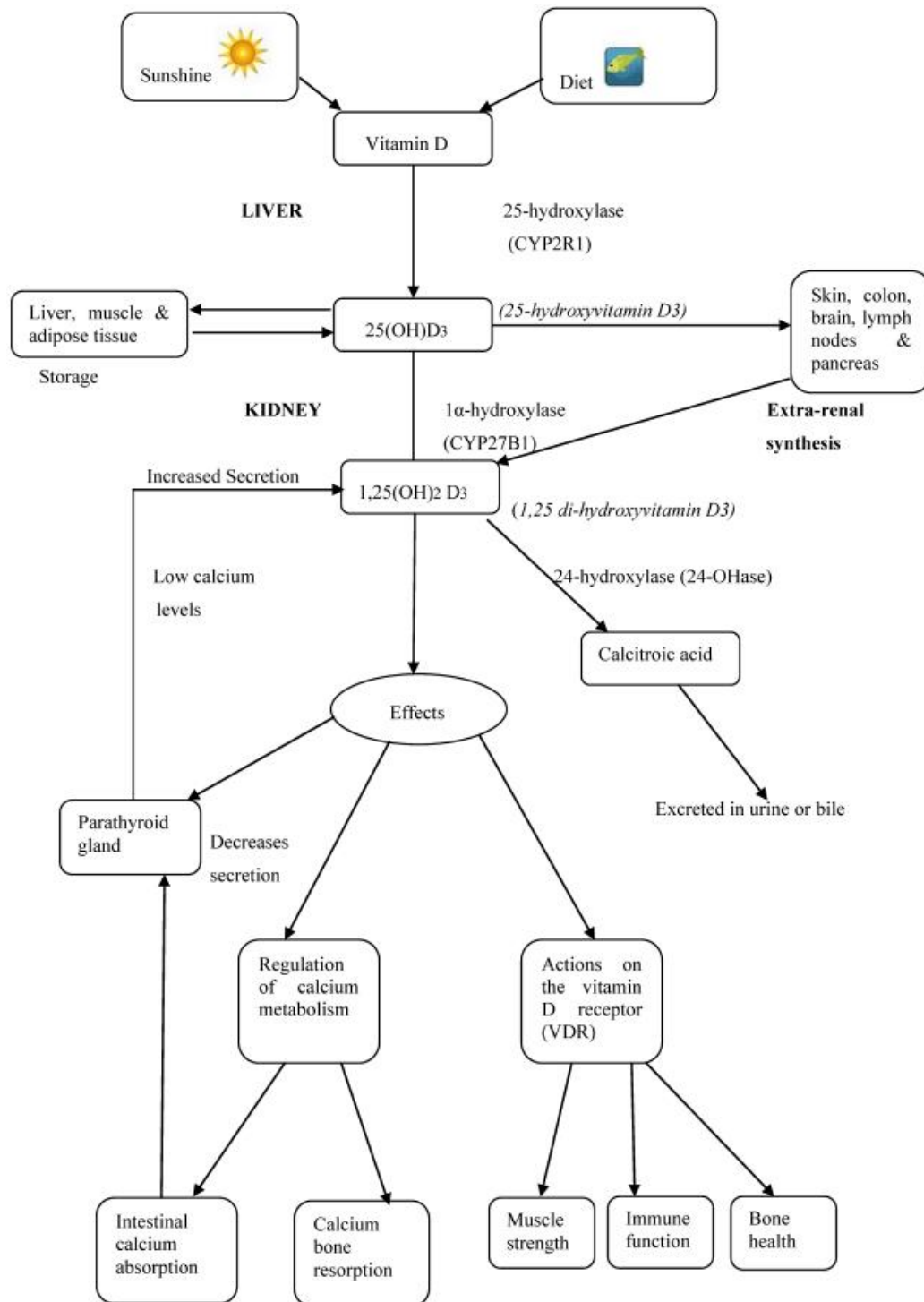
Απορρόφηση, Μεταφορά και Αποθήκευση της βιταμίνης D

Περίπου το 50% της βιταμίνης D που λαμβάνεται από την διατροφή απορροφάται και αυτό συμβαίνει με την βοήθεια των μικκυλίων που μαζί με το λίπος και τα χολικά άλατα διαχέονται στα εντεροκύτταρα. Στο εσωτερικό τους η βιταμίνη D εισέρχεται στα χυλομικρά που διαμέσου της λεμφικής οδού εισέρχονται στο αίμα. Στο αίμα το 40% της χοληκαλσιφερόλης μεταφέρεται με τα χυλομικρά και κατευθύνεται στο ήπαρ. Ορισμένη ποσότητα βιταμίνης D μεταφέρεται από τα χυλομικρά στην DBP και μεταφέρεται σε εξωηπατικούς ιστούς. Αναλόγως η χοληκαλσιφερόλη από την επιδερμίδα προσλαμβάνεται από την DBP και μεταφέρεται με συνδεδεμένη με αυτήν (60% της χολυκαλσιφερόλης του αίματος) μέσω της κυκλοφορίας του αίματος στους μύες και το λιπώδη ιστό προς εναπόθεση, πριν καταλήξει στο ήπαρ [55].

Η χοληκαλσιφερόλη που φτάνει στο ήπαρ μεταβολίζεται από υδροξυλάσες για την παραγωγή της ενεργούς μορφής της βιταμίνης. Συγκεκριμένα υδροξυλιώνεται από την 25-υδροξυλάση στον ομώνυμα άνθρακα προς τον σχηματισμό 25-OH-D3 ή καλσιδιόλης. Η ενεργότητα του ενζύμου 25-υδροξυλάση σχετίζεται με την διατροφική κατάσταση της βιταμίνης στο σώμα. Αναλυτικότερα το ένζυμο, που εξαρτάται από το NADPH, είναι περισσότερο ενεργό σε περιόδους στέρσης της βιταμίνης, ενώ λιγότερο ενεργό σε περιόδους εντοπισμού φυσιολογικής ποσότητας χοληκαλσιφερόλης. Σε κάθε περίπτωση η 25-OH-D3 μετά την παραγωγή της απελευθερώνεται στο αίμα και εκπροσωπεί την κύρια μορφή της βιταμίνης D. Η ποσότητα τη 25-OH-D3 στο αίμα είναι αντίκρισμα της διαιτητικής πρόσληψης και της ηλιακής έκθεσης και θεωρείται ότι αντιπροσωπεύει την κατάσταση της

βιταμίνης D3 στο σώμα. Η καλσιδιόλη κυκλοφορεί στο αίμα συνδεδεμένη επίσης με την BDP και έχει χρόνο ημισείας ζωής περίπου 3 εβδομάδες. Όταν τα αποθέματα της βιταμίνης στο αίμα μειωθούν κινητοποιείται χοληκαλσιφερόλη από τα σημεία αποθήκευσής της για την ανάταξη των επιπέδων καλσιδιόλης στο αίμα. Αποθηκευτικοί χώροι για την χοληκαλσιφερόλη είναι ο λιπώδης ιστός ενώ για την καλσιδιόλη το αίμα και οι μύες [55].

Μετά τους νεφρούς η συνδεδεμένη 25-OH-D3 με την BDP μεταφέρεται με την κυκλοφορία του αίματος στους νεφρούς, όπου υφίσταται ακόμη μία υδροξυλίωση και μετατρέπεται σε 1,25-(OH)₂-D3 ή καλσιτριόλη, επίσης ενεργή μορφή της βιταμίνης D. Η δεύτερη υδροξυλίωση γίνεται με την βοήθεια του ενζύμου 1-υδροξυλάση και εξαρτάται επίσης από το NADPH. Η ενεργότητα αυτού του ενζύμου επηρεάζεται θετικά από την παραθυρεοειδή ορμόνη και τα επίπεδα του ασβεστίου στο αίμα. Ενώ η αύξηση της συγκέντρωσης του προϊόντος της υδροξυλίωσης, της καλσιτριόλης, δρα ως αρνητική ανατροφοδότηση στην δράση του ενζύμου. Η καλσιτριόλη μόλις συντεθεί απελευθερώνεται από τους νεφρούς και μεταφέρεται με την BDP ξανά στο αίμα και έχει χρόνο ημισείας ζωής 4-6 ώρες. Όταν με την κυκλοφορία φτάσει στους ιστούς-στόχους απελευθερώνεται με ευκολία από την DBP και προσδένεται άμεσα στον υποδοχέα της βιταμίνης D (Vitamin D Receptor, VDR) [55].



Εικόνα Α6. Απορρόφηση, Μεταφορά, Αποθήκευση, Διανομή και δράση της βιταμίνης .

Λειτουργίες της Βιταμίνης D

Η καλσιτριόλη - η ενεργή μορφή της βιταμίνης D- λειτουργεί ως στεροειδής ορμόνη, με γνωστή δράση αρκετά χρόνια τώρα, στο έντερο, τα οστά, τους νεφρούς, και όπως

αποδείχτηκε μεταγενέστερα στην καρδιά, τους μύες, το πάγκρεας, το δέρμα, τους ιστούς του ανοσοποιητικού συστήματος, όπως υποδεικνύεται με την παρουσία μεμβρανικών υποδοχέων για την βιταμίνη.

Δυο είναι οι κύριοι μηχανισμοί με τους οποίους η βιταμίνη D εκδηλώνει την δράση της στα όργανα και κύτταρα στόχους:

1. Μέσω ουδών μεταγωγής σημάτων από τους μεμβρανικούς υποδοχείς της VDR της κυτταρικής μεμβράνης
2. Μέσω αλληλεπίδρασης με τους πυρηνικούς υποδοχείς της βιταμίνης, επιδρώντας στην μεταγραφή γονιδίων

Ως ορμόνη η καλσιτριόλη κυρίως, δρα μαζί με την ορμόνη του παραθυρεοειδούς (Parathyroid Hormone, PTH), για την ρύθμιση της ομοιοστασίας του ασβεστίου στο αίμα. Αρχικά πρέπει να αναφερθεί ότι η σύνθεση της καλσιτριόλης -που παρουσιάζει σύντομο χρόνο ημισείας ζωής- με την καρβοξυλίωση της καλσιδιόλης στα νεφρά, ενεργοποιείται ως απάντηση στις μεταβολές της συγκέντρωσης του ασβεστίου στο αίμα και στην απελευθέρωση της PTH στο αίμα. Συγκεκριμένα όταν η συγκέντρωση του ασβεστίου στο αίμα είναι χαμηλή διεγείρεται η έκκριση PTH, η οποία με τη σειρά της διεγείρει την 1-υδροξυλάση στους νεφρούς με αποτέλεσμα την παραγωγή καλσιτριόλης . Για την ρύθμιση αυτή οι παραπάνω ορμόνες δρουν στους ιστούς του εντέρου ,στα οστά και τους νεφρούς με τρόπο που θα αναπτυχθεί αμέσως μετά [56].

1. Δράση της Καλσιτριόλης στο έντερο

Το έντερο έχει μελετηθεί περισσότερο ως ιστός στόχο της καλσιτριόλης, και η κύρια λειτουργία της είναι η αύξηση της απορρόφησης του ασβεστίου και του φωσφόρου, που είναι βασικά συστατικά των οστών. Αυτό επιτυγχάνεται και με τους δύο μηχανισμούς δράσης που αναφέρθηκαν προηγουμένως. Αναλυτικότερα η καλσιτριόλη αλληλεπιδρά με υποδοχείς υψηλής συγγένειας στην μεμβράνη του εντεροκυττάρου του και μεταφέρεται στο εσωτερικό του πυρήνα όπου επιδρά στην μεταγραφή γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες υπεύθυνες για την απορρόφηση του ασβεστίου. Συγκεκριμένα επάγει επιλεκτικά την βιοσύνθεση νέων μορίων mRNA που μεταφράζονται σε ειδικές πρωτεΐνες που εδράζουν στην ψηκτροειδή παρυφή, το κυτταρόπλασμα και τη βασικοπλευρική μεμβράνη των εντεροκυττάρων

και αυξάνουν την απορρόφηση του ασβεστίου. Μια πρωτεΐνη που φαίνεται ότι συντίθεται από την επίδραση της βιταμίνης D είναι η καλβιδίνη. Επιπλέον η βιταμίνη D συμβάλει στην ομοιοστάση του ασβεστίου με την μεταβολή της σύστασης και της τοπολογίας της ψυκτροειδούς παρυφής των κυττάρων του εντέρου. Προκαλεί άμεση και ταχεία απορρόφηση του ασβεστίου με την διαδικασία transcalcachia. Κατά την διαδικασία αυτή με την βοήθεια των λυσοσωμάτων συμβαίνει ενδοκύττωση του ασβεστίου κατά μήκος της παρυφής και έπειτα απελευθέρωση του ασβεστίου στο εσωτερικό των κυττάρων. Το ασβέστιο καταλήγει στην βασικοπλευρική μεμβράνη με ενδοκύττωση. Τέλος η καλσιτριόλη με δευτερεύοντες αγγελιοφόρους συνεργιστικά συμβάλει στην ταχεία απορρόφηση του ασβεστίου με άνοιγμα των διαύλων ασβεστίου. Σε σχέση με τον φώσφορο, η καλσιτριόλη πιθανόν δρα αυξάνοντας την ενεργότητα της αλκαλικής φωσφατάσης στην ψυκτρωειδή παρυφή , ένζυμο που επάγει την απορρόφησή που αφού υδρολύει τους φωσφορικούς δεσμούς και καθιστά τον φωσφόρο διαθέσιμο [57].

2. Δράση της Καλσιτριόλης στους Νεφρούς

Η δράση της ενεργούς βιταμίνης D στους νεφρούς αφορά την επαναρρόφηση του ασβεστίου και του φωσφόρου στα άπω εσπειραμένα σωληνάκια από την ΡΤΗ. Επιπλέον, επαναρρόφηση του ασβεστίου στους νεφρούς συμβαίνει μέσω της καλβιδίνης (μεγαλύτερη της εντερικής καλβιδίνης) και πιστεύεται πως η σύνθεσή της ρυθμίζεται από τις γονιδιακές επιδράσεις της βιταμίνης D [57].

3. Δράση της Καλσιτριόλης στα Οστά

Η καλσιτριόλη έκτος από την ορμονική της δράση στα οστά έχει βρεθεί ότι παράγεται και απευθείας στο εσωτερικό τους. Η ΡΤΗ από μόνη ή μαζί με την καλσιτριόλη κινητοποιούν το ασβέστιο και το φώσφορο για την επίτευξη φυσιολογικής συγκέντρωσης ασβεστίου στο αίμα. Στην διαδικασία αυτή μεσολαβεί η διαφοροποίηση των αιμοποιητικών κυττάρων σε οστεοκλάστες, υστέρα από την επίδραση της βιταμίνης D, που πραγματώνουν την απορρόφηση του οστού και επομένως την απελευθέρωσή ασβεστίου και φωσφόρου. Όταν όμως τα επίπεδα του ασβεστίου ξεπεράσουν τις φυσιολογικές τιμές, τότε δρα η καλσιτονίνη, παράγωγο των ενδοκρινικών κυττάρων του συνδετικού ιστού του θυρεοειδούς αδένος,

προωθώντας την επιμετάλλωση του οστίτη ιστού με ασβέστιο και φώσφορο. Όμως και στην παρούσα διαδικασία εμπλέκεται η καλσιτριόλη, που όταν τα επίπεδα της ή τα επίπεδα του ασβεστίου είναι ανεβασμένα στον ορό, προκαλείται μείωση της παραγωγής PTH. η μείωση αυτή γίνεται άμεσα με την ρύθμιση μεταγραφής του γονιδίου της παραθυρεοειδούς ορμόνης από την καλσιτριόλη, και έμμεσα με την ανασταλτική δράση των αυξημένων επιπέδων ιονισμένου ασβεστίου στον ορό [58-59].

Ανεπάρκεια βιταμίνης D και οστική μάζα

Για την αξιολόγηση της επάρκειας ή ανεπάρκειας της βιταμίνης D χρησιμοποιείται η τιμή της καλσιδιόλης, της 25-OH-D3 που αποτελεί τον κύριο κυκλοφορούντα μεταβολίτη και έχει χρόνο ημισείας ζωής όπως αναφέρθηκε και παραπάνω 2-3 εβδομάδες καθώς είναι πιο αντιπροσωπευτικός δείκτης αποθεμάτων βιταμίνης D (όπως προκύπτουν από την ενδογενή παραγωγή και από την διαιτητική πρόσληψη) από την 1,25-(OH)₂-D3 η οποία έχει χρόνο ημισείας ζωής μόλις 4-5 ώρες [59]. Η έλλειψη της βιταμίνης D επηρεάζει την ομοιοστασία του ασβεστίου και του φωσφόρου, συνεπώς και την υγεία των οστών. Πρόκειται για την πιο συχνή διατροφική έλλειψη, παραμένει μια από της πιο συχνά μη διαγνωσμένες παθολογικές καταστάσεις. Δεν έχει οριστεί ακόμα ένα ορισμός έλλειψης της βιταμίνης D αποδεκτός από το σύνολο της επιστημονικής κοινότητας. Ωστόσο η κατωφλική τιμή των 50 nmol/L ή 25ng/ml έχει συσχετιστεί με αυξημένες συγκεντρώσεις παραθορμόνης στο ορό και συνεπώς αυξημένη οστική απορρόφηση, τιμή που με βάση το Ινστιτούτο Ιατρικής των ΗΠΑ (Institute of Medicine, IOM), καλύπτει τις ανάγκες τουλάχιστον του 97,5% του πληθυσμού σε όλα τα ηλικιακά στάδια.

Ο κύριος ρόλος της βιταμίνης D, όπως έχει αναδειχθεί και προηγουμένως, αφορά την διατήρηση της ομοιοστασίας του ασβεστίου και του φωσφόρου, και την εξασφάλιση επαρκούς επιμετάλλωσης των οστών [56]. Σε κάποιες μελέτες, τα επίπεδα της βιταμίνης D δεν έχουν άμεση συσχέτιση με τους δείκτες οστικής πυκνότητας, ενώ η παραθορμόνη είναι αυτή που αναγνωρίζεται ως ανεξάρτητος παράγοντας του οστικού δείκτη BMC [60]. Ο μηχανισμός που υποστηρίζεται από την βιβλιογραφία είναι ο εξής: όταν τα επίπεδα

25(OH)D είναι μειωμένα διεγείρεται η έκκριση της παραθορμόνης . Παρατεταμένα υψηλά επίπεδα παραθορμόνης έχουν ως αποτέλεσμα εκτός των άλλων, την κινητοποίηση του ασβεστίου από τα οστά (οστεόλυση) οδηγώντας σε μείωση της οστικής μάζας με στόχο την αύξηση των επιπέδων στο αίμα [61]. Μία πολύ πρόσφατη μελέτη στην Κίνα καθιέρωσε τιμή αναφοράς για την παραθορμόνη σε μεγάλο δείγμα υγείων ενήλικων (1436 άτομα) με βάση το φύλλο, την ηλικία, και το επίπεδα βιταμίνης D. Τα επίπεδα βιταμίνης D εμφάνισαν αρνητική γραμμική συσχέτιση με τα επίπεδα της PTH και μάλιστα κάτω από την τιμή βιταμίνης 18.21 ng/mL, τα επίπεδα της PTH αυξάνονταν ταχέως. Στην ίδια μελέτη η PTH συσχετίστηκε αρνητικά με την BMD στην οσφυϊκή σπονδυλική στήλη και τον αυχένα του μηριαίου οστού, και θετικά με δείκτες οστικής ανακατασκευής [61].

Συγκεκριμένα τα επίπεδα βιταμίνης D έχουν μελετηθεί σε σχέση με την οστική πυκνότητα όπως αυτή μετράται με τις μετρήσεις QUS σε περισσότερες από 15 μελέτες, αλλά η σχέση δεν είναι σαφής. Για παράδειγμα σε μια μελέτη, που δημοσιεύτηκε το 2009, στην Φιλανδία με πολύ μεγάλο δείγμα (2736 άνδρες και 3299 γυναίκες), ηλικίας μεγαλύτερης ή ίσης των 30 ετών η 25(OH)D αποδείχθηκε ότι είναι ανεξάρτητος καθοριστικός παράγοντας των μετρήσεων BUA και SOS για άνδρες και γυναίκες [62] . Το 2002 σε μία μελέτη με μικρότερο δείγμα (294 άντρες και 899 γυναίκες) ηλικίας μεγαλύτερης των 65 ετών τα επίπεδα βιταμίνης D δεν συσχετίστηκαν με κάποια από τις μετρήσεις QUS [63]. Σε άλλη μελέτη όπου μετρήσεις βιταμίνης και QUS σε καλόγριες συγκρίθηκαν με ομάδα ελέγχου, βρέθηκε ότι τα επίπεδα της 25(OH)D ήταν 50% χαμηλότερα και οι τιμές της QUS στατιστικά σημαντικά χαμηλότερες στις καλόγριες [64].

ΟΣΤΙΚΗ ΕΝΑΛΛΑΓΗ (BONE TURNOVER)

Σημαντικό παράγοντα αποτελεί η αξιολόγηση του οστικού μεταβολισμού (οστική εναλλαγή ή «bone turnover» όπως αναφέρεται στην διεθνή βιβλιογραφία, καθώς η ανισορροπία μεταξύ οστικής απορρόφησης (οστεοκλαστική δραστηριότητα) και οστικής παραγωγής (οστεοβλαστική δραστηριότητα) αποτελούν βασικό παράγοντα για την εμφάνιση οστεοπόρωσης. Ο ρυθμός οστικής εναλλαγής αξιολογείται με τη χρήση δεικτών (δείκτες οστικού μεταβολισμού). Οι δείκτες αυτοί αφορούν προϊόντα ενζυματικής

δραστηριότητας των οστεοβλαστών είτε προϊόντα οστικής αποδόμησης (οστεοκλαστική δραστηριότητα) [65]. Χρησιμεύουν στην κλινική πράξη για τέσσερεις λόγους, πρώτον για τον εντοπισμό ατόμων με αυξημένο ρυθμό οστικής απώλειας και αυξημένο κίνδυνο κατάγματος [66], δεύτερον για την πρόβλεψη οφέλους από συγκεκριμένη θεραπεία [67], τρίτον για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της θεραπείας [68] και τέταρτον για την βελτίωση στη συμμόρφωση και στη θεραπεία [69]. Η χρησιμότητα των δεικτών οστικής εναλλαγής επιβάλλει τη διερεύνηση της σε μελέτες αξιολόγησης της επίδρασης κλινικών παραγόντων κινδύνου στην οστική πυκνότητα και στο κίνδυνο εμφάνισης οστεοπόρωσης.

ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ

Κατά την ενήλικη ζωή υπάρχουν πολλοί συμπεριφοριστικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες που συντελούν στην μείωση της σκελετικής μάζας και αποτελούν παράγοντες κινδύνου για την νόσο της οστεοπόρωσης. Σε αυτούς του παράγοντες συγκαταλέγονται: η σωματική αδράνεια και η μακροχρόνια ακινητοποίηση, η υψηλή πρόσληψη αλκοόλ και καφεΐνης, καπνιστικές συνήθειες, η χαμηλή πρόσληψη βιταμίνης D και ασβεστίου, χαμηλή πρόσληψη βιταμίνης K, υψηλή πρόσληψη φωσφόρου και νατρίου [19, 57].

ΦΥΣΙΚΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ ΚΑΙ ΟΣΤΙΚΗ ΜΑΖΑ

Η φυσική δραστηριότητα είναι ένας από τους συμπεριφοριστικούς παράγοντες που διαδραματίζει σπουδαίο ρόλο στην διαμόρφωση και την διατήρηση της οστικής μάζας. Ο ρόλος της οφείλεται στην μεταφορά φορτίου που συμβαίνει κατά την κίνηση. Με την άσκηση μεταφέρονται φορτία στον σκελετό με δύο κυρίως μηχανισμούς: άμεσα λόγω της άσκησης με βάρη και έμμεσα με την μυϊκή σύσπαση .

Η σχέση της φυσικής δραστηριότητας με την οστική μάζα ξεκινά ήδη από την παιδική ηλικία όπου είναι αποδεδειγμένα ένας από τους παράγοντες που συμβάλλουν θετικά στην αύξηση της οστικής μάζας και στην επίτευξη της μέγιστης κορυφαίας οστικής μάζας [70]. Το γεγονός αυτό αποτελεί προληπτικό μέτρο για την εμφάνιση οστεοπορωτικού

κατάγματος στην ενήλικη ζωή, καθώς αντιθέτως, η μη επίτευξη της μέγιστης οστικής μάζας που συμβαίνει την δεύτερη και τρίτη δεκαετία της ζωής, αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για οστεοπόρωση στην μετέπειτα ενήλικη ζωής [1]. Δεδομένα από μελέτες δείχνουν ότι οι παρεμβάσεις με άσκηση στα παιδιά δύναται να αυξήσουν την οστική τους πυκνότητα και μάζα κατά 1-5 %, και αυξάνουν επίσης την οστική περιοχή, πλάτος και περίμετρο, παράμετροι που όλοι συνεισφέρουν στην μεγαλύτερη οστική ισχύ. Αντιθέτως, όταν συμβεί μηχανική αποφόρτιση του οστού, για παράδειγμα σε συνθήκες όπως του διαστήματος ή σε ακινητοποίηση (πχ. παραμονή στο κρεβάτι) οδηγεί σε σημαντική οστική απώλεια. Σε κλινήρη άτομα, όπου γίνεται πλήρη ακινητοποίηση, η απώλεια της οστικής μάζας μπορεί να φτάσει το 40% [71].

Όσον αφορά την επίδραση της άσκησης κατά την ενήλικη ζωή τα δεδομένα δεν είναι ακόμα ξεκάθαρα. Σε πρόσφατη μετα-ανάλυση έξι μελετών παρέμβασης με αλτικές ασκήσεις σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, σημειώθηκε σημαντική αύξηση της BMD στο λαιμό και σε μικρότερο βαθμό στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης [72]. Μια παλαιότερη μετα-ανάλυση του 2000, είχε αναδείξει τον ευεργετικό ρόλο της φυσικής δραστηριότητας, αερόβιας και μη αερόβιας, στην οσφυϊκή μοίρα και πιθανώς στον λαιμό, επιτυγχάνοντας την αναχαίτιση της οστικής απώλειας σε προεμμηνοπαυσιακές και μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες [73].

Στην βιβλιογραφία η πλειοψηφία των βιβλιογραφικών αναφορών που συσχετίζουν την άσκηση με την οστική μάζα η μέτρηση αυτής γίνεται με την μέθοδο DEXA και αφορά την BMD. Η βιβλιογραφία που αναφέρεται σε χρήση των μετρήσεων QUS είναι αισθητά λιγότερη. Ωστόσο από μία μέτα-ανάλυση του 2012 σε άνδρες ευρέους ηλικιακού φάσματος υπήρξε σημαντική επίδραση της φυσικής δραστηριότητας στον δείκτη BUA όπως αυτός μετρήθηκε στην πτέρνα και από την μελέτη πιστοποιήθηκε η ευαισθησία των QUS στις επαγόμενες από την άσκηση αλλαγές στην σκελετική υγεία [74].

Η σωματική δραστηριότητα δεν επηρεάζει μόνο την υγεία των οστών άμεσα αλλά είναι και σημαντική για την διατήρηση της μυϊκής μάζας, και δύναται να μειώσει τον κίνδυνο πτώσεων στην μεγαλύτερη ηλικία και κατά επέκταση τον κίνδυνο κατάγματος. Αυτός είναι ένας άλλος τρόπος με τον οποίο η άσκηση συμβάλει στον περιορισμό

εκδήλωσης της νόσου Συγκεκριμένα από μελέτες παρέμβασης φάνηκε ότι η τακτική μεταφορά βάρους και η μυϊκή ενδυνάμωση μειώνει τον κίνδυνο των πτώσεων και των καταγμάτων κατά 17% σε συνολικό αριθμό 9603 ατόμων από 44 μελέτες όπου πρόληψη γινόταν μόνο μέσω της φυσικής δραστηριότητας [75], κατά 14% σε μετα-ανάλυση άλλων 17 μελετών με πολυπαραγοντική πρόληψη [76] και τέλος από μια μεγάλη μετα-ανάλυση με συνολικά 79,193 περιπτώσεις προς εξέταση φάνηκε πως διάφορα μοντέλα παρέμβασης με την συμμετοχή της φυσικής δραστηριότητας μπορεί να μειώσουν τον κίνδυνο κατάγματος [77].

ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΚΑΙ ΟΣΤΙΚΗ ΜΑΖΑ

Η διατροφή μέσω της πρόσληψη θρεπτικών συστατικών και κατέχει σημαντικό ρόλο στη σκελετική υγεία σε όλα τα στάδια της ζωής. Δύο είναι οι κύριοι άξονες της σκελετικής υγείας που επηρεάζει, πρώτον η επίτευξη της κορυφαίας οστικής πυκνότητας και δεύτερον η διατήρησή της κατά την ενήλικη ζωή. Τα θρεπτικά συστατικά που παρέχονται από την τροφή, μπορούν να έχουν ευεργετική ή επιβαρυντική δράση στο σκελετό [63]. Επιδρούν στα οστά με διάφορους τρόπους συμπεριλαμβανομένων πιθανών μεταβολών στη δομή των οστών, στο ρυθμό οστικού μεταβολισμού, στο ενδοκρινικό ή/και παρακρινικό σύστημα και στην ομοιόσταση του ασβεστίου και άλλων μετάλλων ή ιχνοστοιχείων [64].

Επικεντρώνοντας το ενδιαφέρον σε μικροθρεπτικά συστατικά, ιδιαίτερη θέση κατέχει το ασβέστιο, το μαγνήσιο, ο φωσφόρος, το νάτριο, οι βιταμίνες D, K και A αλλά και ιχνοστοιχεία όπως ο σίδηρος, ο ψευδάργυρος και ο χαλκός [65]. Η πρόσληψη των μακροθρεπτικών συστατικών και ιδιαίτερα των πρωτεϊνών και των λιπιδίων (ιδιαίτερα των πολυακόρεστων ω -3 και ω -6) σχετίζονται σημαντικά με την οστική πυκνότητα [66, 67]. Επιπλέον, συστατικά όπως το αλκοόλ, η καφεΐνη και τα φυτοοιστρογόνα είναι παράγοντες που έχουν συσχετιστεί με την σκελετική υγεία [68-70].

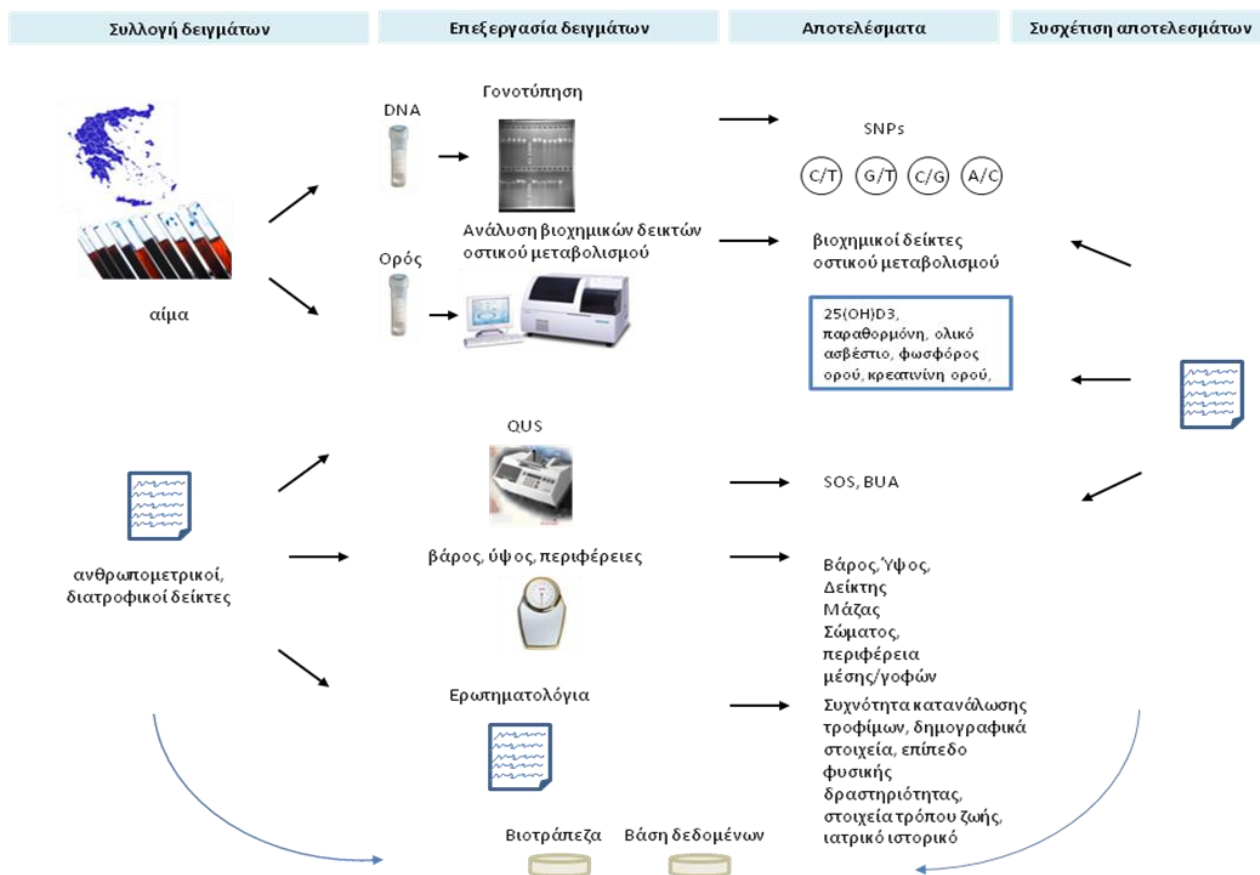
Εκτός όμως από τα μεμονωμένα θρεπτικά συστατικά, η επίδραση ομάδων τροφίμων και διατροφικών προτύπων φαίνεται να επιδρούν στη σκελετική υγεία. Για παράδειγμα, η αυξημένη κατανάλωση φρούτων και λαχανικών έχει συσχετιστεί με την

οστική μάζα και το μέγεθος των οστών και τον οστικό μεταβολισμό [71]. Επίσης διατροφικά σχήματα όπως η Μεσογειακή Διατροφή και το διατροφικό σχήμα DASH έχουν μελετηθεί αναφορικά με πιθανά οφέλη στη σκελετική υγεία.

ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Στην επιδημιολογική μελέτη OSTEOSII συγκεντρώθηκαν και αξιολογήθηκαν πληροφορίες από ένα μεγάλο δείγμα ατόμων Ελληνικής καταγωγής. Οι συμμετέχοντες ήταν άνδρες και γυναίκες μεγάλου ηλικιακού εύρους, (18-78 ετών) δεδομένου ότι η οστική πυκνότητα αλλά και οι παράγοντες κινδύνου που την επηρεάζουν μεταβάλλονται με την ηλικία, η συμμετοχή ατόμων μεγάλου εύρους ηλικιών στη μελέτη κρίνεται απαραίτητη ώστε η συσχέτιση μεταξύ οστικής πυκνότητας και παραγόντων κινδύνου να είναι ολοκληρωμένη. Οι συμμετέχοντες δεν διατηρούσαν συγγένεια εξ' αίματος γεγονός που διασφαλίζει ότι ο πληθυσμός είναι φυλετικά ομοιογενής. Ο πληθυσμός στρατολογήθηκε σε διάφορους δήμους και κοινότητες της ηπειρωτικής και νησιωτικής Ελλάδας. Συγκεκριμένα η συλλογή των δεδομένων ξεκίνησε 05/07/2010 και ολοκληρώθηκε στις 10/07/2013. Η συλλογή έγινε στα σημεία όπου ο Σύλλογος Υποστήριξης Ασθενών με Οστεοπόρωση οργανώνει εκδηλώσεις ενημέρωσης και ευαισθητοποίησης του κοινού σχετικά με το πρόβλημα της οστεοπόρωσης στο νομό Αττικής. Οι εκδηλώσεις αυτές γίνονται σε συνεργασία με τους αντίστοιχους Δήμους και Κοινότητες, η διάρκειά τους είναι 2 ημέρες και η συμμετοχή είναι ελεύθερη και δωρεάν. Οι εκδηλώσεις ανακοινώνονται και διαφημίζονται από το Σύλλογο και τις υπεύθυνες αρχές Τοπικής Αυτοδιοίκησης. Ο πληθυσμός αυτός ενημερώνεται για τους σκοπούς της μελέτης από τους αρμόδιους φορείς τοπικής αυτοδιοίκησης και οι ενδιαφερόμενοι δηλώνουν την εθελοντική τους συμμετοχή. Η μελέτη χρηματοδοτήθηκε από την Ελληνική Εταιρία Μελέτης Μεταβολισμού των Οστών.



Εικόνα Β1. Πρωτόκολλο της μελέτης OsteosII

ΚΡΙΤΗΡΙΑ ΑΠΟΚΛΕΙΣΜΟΥ

Άτομα με γνωστό ιστορικό μεταβολικών παθήσεων των οστών (όπως νόσο Paget, οστεομαλακία, ατελή οστεογένεση, νεφρική οστεοδυστροφία κ.λ.π.) αποκλείονται από τη μελέτη. Άτομα με ενδοκρινοπάθειες (πρωτοπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό, υποπαραθυρεοειδισμό, θυρεοτοξίκωση, παθήσεις υπόφυσης και επινεφριδίων όπως νόσο Cushing, νόσο Addison), κακοήθειες, παθήσεις του συνδετικού ιστού, σύνδρομο δυσαπορρόφησης, φλεγμονώδεις παθήσεις του εντέρου (ελκώδης κολίτιδα, νόσος Crohn), κίρρωση ήπατος, ηπατική ανεπάρκεια και νεφρική ανεπάρκεια αποκλείονται από τη μελέτη. Η πρόωρη εμμηνόπαυση (<40 ετών) και η αμηνόρροια >1 έτους αποτελούν κριτήρια αποκλεισμού. Επίσης, αποκλείονται από τη μελέτη άτομα που λαμβάνουν φαρμακευτική αγωγή η οποία επηρεάζει το μεταβολισμό των οστών όπως ορμονική θεραπεία υποκατάστασης, αναβολικά στεροειδή ή προγεστερόνη, διφωσφονικά,

τεριπαρατίδη, καλσιτονίνη, βιταμίνη D, τιβολόνη , γλυκοκορτικοειδή, αντιεπιληπτικά, τρικυκλικά αντικαταθλιπτικά, αντιπηκτικά. Τέλος, οι εθελοντές πρέπει να μην κάνουν κατάχρηση αλκοόλ και να μην έχουν νοητικές ή ψυχιατρικές διαταραχές που να εμποδίζουν τη συμμετοχή τους στη μελέτη. Εφόσον η μελέτη στοχεύει στην αξιολόγηση παραγόντων κινδύνου για ιδιοπαθή οστεοπόρωση, τα παραπάνω κριτήρια χρησιμοποιούνται με σκοπό τον αποκλεισμό ατόμων με άλλες παθήσεις των οστών ή με παράγοντες πρόκλησης δευτεροπαθούς οστεοπόρωσης [2].

Για τη συλλογή των δημογραφικών δεδομένων χρησιμοποιήθηκε ερωτηματολόγιο το οποίο παρέχει πληροφορίες σχετικά με την ημερομηνία γέννησης, την καταγωγή, το επίπεδο εκπαίδευσης, την οικογενειακή κατάσταση, την επαγγελματική κατάσταση, το τόπο κατοικίας και αναλυτικά στοιχεία επικοινωνίας (διεύθυνση κατοικίας, τηλέφωνο).

Επίσης, για τη λήψη πληροφοριών σχετικά με το ιατρικό ιστορικό χρησιμοποιήθηκε ερωτηματολόγιο που περιλαμβάνει ερωτήσεις σχετικά με: παθήσεις και ιστορικό παθήσεων (με έμφαση σε εκείνες που περιλαμβάνονται στα κριτήρια αποκλεισμού), την ηλικία εμμηναρχής και εμμηνόπαυσης, πιθανό ιστορικό αμηνόρροιας, χειρουργικές επεμβάσεις με έμφαση στις επεμβάσεις που οδηγούν σε εμμηνόπαυση (υστερεκτομή), κάπνισμα, αριθμό κυήσεων, μήνες θηλασμού, ιστορικό καταγμάτων του περιφερικού σκελετού, κληρονομικότητα για οστεοπόρωση, κατάγματα και για άλλες παθήσεις των οστών, λήψη φαρμάκων και ιστορικό λήψης φαρμάκων (με έμφαση σε εκείνα που περιλαμβάνονται στα κριτήρια αποκλεισμού) και πιθανό ιστορικό μακροχρόνιας ακινητοποίησης. Μεταξύ των αναφερόμενων καταγμάτων του περιφερικού σκελετού, καταγράφονται ξεχωριστά εκείνα που προέκυψαν από χαμηλής βίας τραύμα. Τα δεδομένα που συλλέγονται στοχεύουν στην αξιολόγηση παρουσίας κριτηρίων αποκλεισμού και στη καταγραφή κλινικών (κατάγματα, εμμηναρχή, εμμηνόπαυση), περιβαλλοντικών (κάπνισμα) και γενετικών (κληρονομικότητα) παραγόντων κινδύνου.

ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΗΣ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ ΚΑΙ ΦΥΣΙΚΗΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑΣ

Για την αξιολόγηση της διατροφικής πρόσληψης και των διατροφικών συνηθειών χρησιμοποιήθηκαν ανακλήσεις 24ώρου και έγκυρα ερωτηματολόγια συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων ή food frequency record (FFQ). Οι μέθοδοι της ανάκλησης 24ώρου και του FFQ είναι οι πιο έγκυρες μέθοδοι αξιολόγησης της διατροφικής πρόσληψης και των διατροφικών συνηθειών για ομάδες πληθυσμού [78]. Με την μέθοδο της ανάκλησης 24ώρου καταγράφονται πληροφορίες σχετικά με οποιοδήποτε τρόφιμο ή ποτό καταναλώθηκε τις προηγούμενες 24 ώρες. Η καταγραφή είναι αναλυτική και περιλαμβάνει το είδος του τροφίμου ή ποτού, την ποσότητα, τον τρόπο μαγειρέματος και το εμπορικό όνομα αν πρόκειται για συσκευασμένο προϊόν. Τα FFQ περιλαμβάνουν μεγάλο αριθμό τροφίμων. Ο καθορισμός των μερίδων γίνεται είτε με φωτογραφίες 3 μερίδων είτε με τη χρήση εργαλείων εκτίμησης όπως πχ. 1 φλιτζάνι τσαγιού (250ml). Η συχνότητα κατανάλωσης κατηγοριοποιείται σε ποτέ, σπάνια, 1-3 φορές το μήνα, 1-2 φορές την εβδομάδα, 3-4 φορές την εβδομάδα, 5-6 φορές την εβδομάδα, καθημερινά/φορές την ημέρα. Καταγράφεται η συχνότητα κατανάλωσης πρωινού, μεσημεριανού γεύματος, δείπνου, παραδοσιακών φαγητών, φρέσκων ή μη φαγητών (1-2/εβδομ. ή 3-4/εβδομ. ή 5-6/εβδομ. ή καθημερινά) και snacks (0-6/ημέρα).

Για την αξιολόγηση της φυσικής δραστηριότητας χρησιμοποιείται έγκυρο ερωτηματολόγιο για ενήλικες. Με τις μεθόδους αυτές αξιολογούνται οι δραστηριότητες κατά την εργασία και οι δραστηριότητες εκτός εργασίας (άθλησης, αναψυχής) ως προς το είδος, τη συχνότητα και τη διάρκεια αυτών.

ΜΕΤΡΗΣΗ ΑΝΘΡΩΠΟΜΕΤΡΙΚΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ

Οι ανθρωπομετρικές παράμετροι που επιλέχθηκαν είναι το ύψος, το βάρος και ο Δείκτης Μάζας Σώματος (Body Mass Index, BMI). Το ύψος επιλέγεται ως ένας χαρακτηριστικός φαινότυπος του μεγέθους του σκελετού. Το βάρος και ο BMI επιλέγονται ως παράγοντες που επηρεάζουν την οστική πυκνότητα σε όλα τα στάδια της ζωής.

Το σωματικό βάρος μετράται με μηχανικό ζυγό ακριβείας στο πλησιέστερο 0.5Kg με ελαφρύ ρουχισμό και χωρίς παπούτσια. Ο εξεταζόμενος τοποθετείται στο ζυγό όρθιος, ακίνητος στο κέντρο της πλατφόρμας του ζυγού. Ζητείται να κοιτάζει ευθεία χωρίς να στηρίζεται κάπου.

Το ύψος μετράται στο πλησιέστερο 0.5cm με σταθερό κατακόρυφο αναστημόμετρο. Μετράται από την κορυφή του κρανιακού θόλου μέχρι το επίπεδο των πελμάτων. Ο εξεταζόμενος τοποθετείται στο αναστημόμετρο όρθιος, χωρίς παπούτσια και κάλτσες, με τις πτέρνες ενωμένες, τα γόνατα ίσια, τους ώμους χαλαρούς και τις παλάμες να ακουμπούν στους μηρούς. Οι πτέρνες, οι γλουτοί, το θωρακικό κύρτωμα της σπονδυλικής στήλης και η οπίσθια επιφάνεια του κρανίου εφάπτονται στον κατακόρυφο άξονα του οργάνου. Ζητείται από τον εξεταζόμενο να τοποθετεί το κεφάλι του στη θέση Frankfort horizontal plane, δηλαδή σε θέση στην οποία η ευθεία γραμμή μεταξύ του χαμηλότερου σημείου του οφθαλμικού κόγχου και της χόνδρινης προβολής μπροστά από το εξωτερικό άνοιγμα του πτερυγίου του αυτιού να είναι οριζόντια. Σε αυτή τη θέση, ο εξεταζόμενος εισπνέει βαθιά ώστε να εκταθεί η σπονδυλική στήλη και λαμβάνεται η μέτρηση [93].

Ο δείκτης μάζας σώματος υπολογίζεται με τον τύπο: $BMI = \text{ΒΑΡΟΣ (Kg)} / \text{ΥΨΟΣ}^2 \text{ (m}^2\text{)}$

ΜΕΤΡΗΣΗ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ ΠΟΣΟΤΙΚΗΣ ΥΠΕΡΗΧΟΜΕΤΡΙΑΣ

Η μέτρηση γίνεται με τη μέθοδο ποσοτικής υπερηχομετρίας (Quantitative Ultrasound, QUS) στο οπίσθιο τμήμα της πτέρνας. Η μέθοδος αυτή μετράει την εξασθένιση της ηχητικής δέσμης (broadband ultrasound attenuation, BUA, μονάδα μέτρησης dB/MHz), την μεταβολή της ταχύτητας των κυμάτων (speed of sound, SOS, μονάδα μέτρησης m/s) και τον δείκτη δυσκαμψίας (Stiffness index) , ο οποίος είναι ένας συνδυασμός κανονικοποιημένης SOS και BUA και θεωρείται ότι βελτιώνει τον συντελεστή της ποικιλομορφίας των SOS και BUA. Η μέθοδος επιλέγεται επειδή δίνει πληροφορίες για την πυκνότητα αλλά και για την ποιότητα και αρχιτεκτονική του οστίτη ιστού. Επιπλέον, η μέθοδος είναι οικονομική και γρήγορη, ενώ η συσκευή μέτρησης είναι φορητή και δεν

εκθέτει τους εξεταζόμενους σε ιονίζουσα ακτινοβολία. Η μέτρηση γίνεται με τη τοποθέτηση του γυμνού δεξιού άκρου ποδός στην υποδοχή του μηχανήματος. Ο εξεταζόμενος ενημερώνεται για τα αποτελέσματα της οστικής πυκνότητας και των υπόλοιπων οστικών παραμέτρων.

ΑΙΜΟΛΗΨΙΑ

Για την αιμοληψία απαιτείται 12ώρη νηστεία. Γίνεται χωρίς εφαρμογή περίδεσης και από κάθε εξεταζόμενο λαμβάνονται συνολικά 15mL φλεβικού αίματος, σε 2 φιαλίδια. Το πρώτο δείγμα περιέχει 5mL σε φιαλίδιο με αντιπηκτικό EDTA (Ethylene diamine tetra-acetic acid) και το δεύτερο περιέχει 10mL σε φιαλίδιο χωρίς αντιπηκτικό. Το πρώτο δείγμα χρησιμοποιείται για απομόνωση DNA και αποθηκεύεται στους 4°C, έως ότου χρησιμοποιηθεί για την απομόνωση DNA και το δεύτερο δείγμα χρησιμοποιείται για άμεση απομόνωση ορού. Η απομόνωση ορού γίνεται με φυγοκέντρηση του δείγματος στις 3000rpm για 10 λεπτά και ο ορός παραλαμβάνεται με πιπέτα και αποθηκεύεται σε φιαλίδια στους -80°C.

Για την απομόνωση DNA χρησιμοποιείται συμπυκνωμένο παρασκεύασμα λευκοκυττάρων (buffy coat) το οποίο απομονώνεται με την εξής διαδικασία: το δείγμα αίματος στα φιαλίδια με το αντιπηκτικό φυγοκεντρείται στις 3000rpm για 10 λεπτά. Μετά την φυγοκέντρηση τα ερυθροκύτταρα καταβυθίζονται στον πυθμένα του φιαλιδίου ενώ το πλάσμα μεταφέρεται στο επάνω μέρος. Ενδιάμεσα από τα ερυθροκύτταρα και το πλάσμα υπάρχει μια λεπτή στοιβάδα η οποία περιέχει τα συμπυκνωμένα λευκά και τα αιμοπετάλια. Αυτή η στοιβάδα αποτελεί το buffy coat. Χρησιμοποιώντας αποστειρωμένη πιπέτα απομακρύνουμε το πλάσμα έως και 1-2 χιλιοστά πάνω από την στοιβάδα του buffy coat και στη συνέχεια λαμβάνουμε το buffy coat μαζί με το υπόλοιπο πλάσμα και μία μικρή ποσότητα ερυθροκυττάρων (1-2 χιλιοστά) και το αποθηκεύουμε σε φιαλίδιο στους -80°C έως ότου να χρησιμοποιηθεί για απομόνωση DNA.

ΜΕΤΡΗΣΗ ΒΙΟΧΗΜΙΚΩΝ ΔΕΙΚΤΩΝ

Στα δείγματα ορού που συλλέγονται έγινε μέτρηση των επιπέδων των ακόλουθων δεικτών σε εξωτερικό εργαστήριο:

- 25(OH)D
- Ολικό μόριο παραθορμόνης
- Ολικό ασβέστιο
- Φωσφόρος
- Οστικό κλάσμα αλκαλικής φωσφατάσης
- Κρεατινίνη

ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΥΛΙΚΟ (DNA) ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΤΟΥ

Η απομόνωση DNA έγινε με τη συσκευή απομόνωσης DNA iPrepTM, για την οποία χρησιμοποιήθηκε το iPrepTMPureLinkTMgDNA Blood Kit. Το συγκεκριμένο kit επιτρέπει την σύντομη και αυτοματοποιημένη απομόνωση γενωμικού DNA από φρέσκα ή συντηρημένα στην κατάψυξη δείγματα αίματος ή από συμπυκνωμένο παρασκεύασμα λευκοκυττάρων. Η συσκευή απομονώνει νουκλεϊκά οξέα από 13 δείγματα αίματος κάθε φορά, χρησιμοποιώντας την τεχνολογία που βασίζεται στα μαγνητικά μικροσφαιρίδια. 300 μl από το buffy coat του κάθε δείγματος μεταφέρονται σε μία από τις 13 ειδικές κεφαλές του μηχανήματος και το DNA απομονώνεται μέσα σε περίπου 30 λεπτά. Τα κύτταρα λύνονται με τη χρήση του ρυθμιστικού διαλύματος Lysis και οι πρωτεΐνες πέπτονται με πρωτεϊνάση K. Το προϊόν που προκύπτει αναμιγνύεται με τα μαγνητικά μικροσφαιρίδια (Dynabeads), τα οποία δεσμεύονται στο DNA και στη συνέχεια το δεσμευμένο με μικροσφαιρίδια DNA απομονώνεται από το διάλυμα με χρήση μαγνητικού διαχωρισμού. Τα μικροσφαιρίδια πλένονται πλήρως με το ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης για να απομακρυνθούν οι προσμείξεις. Το γενωμικό DNA στη συνέχεια εκλούεται στο διάλυμα έκλουσης, σε τελικό όγκο 200μL και αποθηκεύεται στους -20°C, με σκοπό να χρησιμοποιηθεί αργότερα για γονοτυπική ταυτοποίηση.

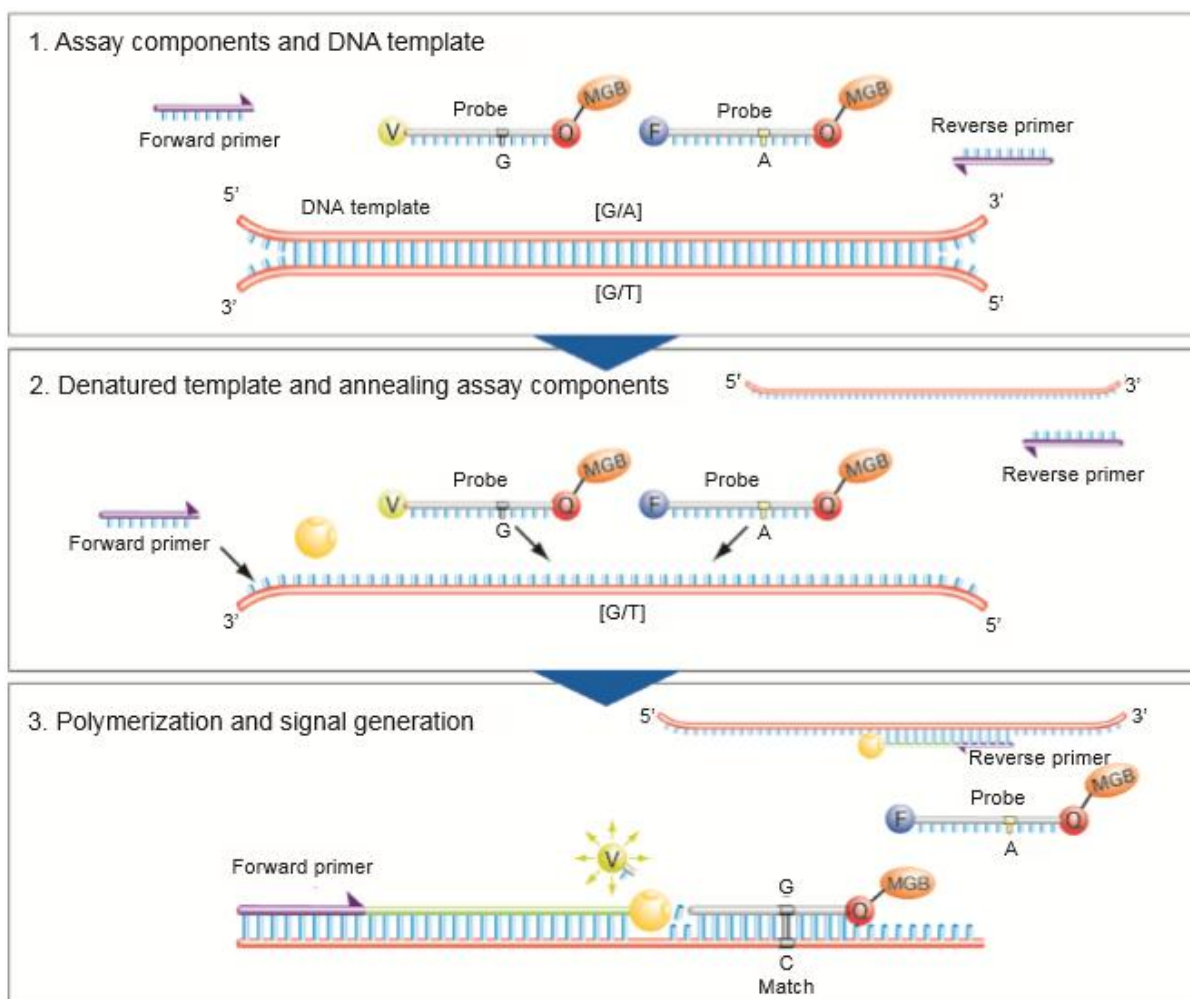
Η ποσοτικοποίηση του γενωμικού DNA έγινε με φωτομέτρηση με την χρήση του μηχανήματος IMPLEN nanophotometer.



Εικόνα B2. Στατό του iPrepTM «φορτωμένο» για να ξεκινήσει η απομόνωση του γενωμικού υλικού

ΓΟΝΟΤΥΠΙΚΗ ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ ΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟ ΤΗΣ ΑΛΥΣΙΔΩΤΗΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗΣ ΣΕ ΠΡΑΓΜΑΤΙΚΟ ΧΡΟΝΟ (REAL TIME-POLYMERASE CHAIN REACTION, RT-PCR)

Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο είναι μία παραλλαγή της κλασικής PCR με τη διαφορά να έγκειται στην παρακολούθηση της αύξησης των PCR προϊόντων κατά την διάρκεια της αντίδρασης (real time) σε οθόνη υπολογιστή. Δίνεται επίσης η δυνατότητα να σημανθούν τα προϊόντα της PCR με φθορίζουσα ουσία προσαρμοσμένη στους ειδικούς ανιχνευτές για την αλληλουχία στόχο. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, όταν ο ανιχνευτής ή ο εκκινητής συνδεθεί με την αλληλουχία στόχο, να αποσυνδέεται ο αδρονιοποιητής από το φθορόχρωμα, το οποίο και εκπέμπει σήμα.



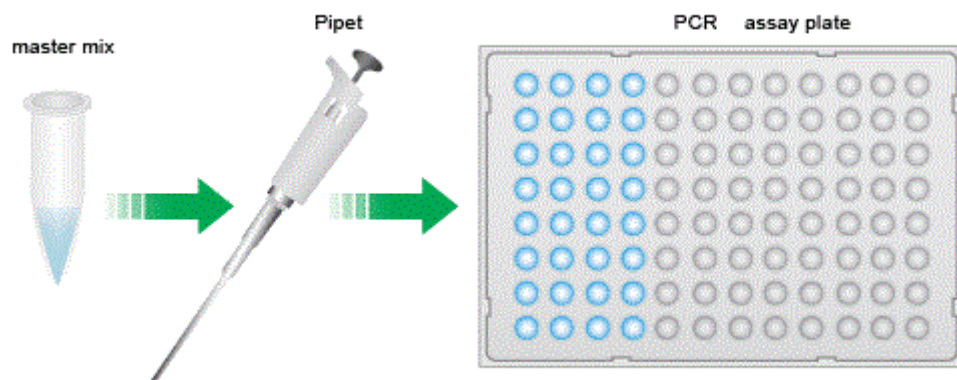
Εικόνα Β3. Σχηματική απεικόνιση της αρχή της Real time-PCR

Η γονοτυπική ταυτοποίηση έγινε με την χρήση του μηχανήματος StepOnePlus™ της εταιρίας Applied Biosystems StepOne™ με την βοήθεια της ανάλυσης TaqMan® SNP Genotyping. Πρόκειται για μία ολοκληρωμένη συλλογή αντιστοιχισμένων εκκινητών και ανιχνευτών που οδηγούν στον προσδιορισμό μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών σε ανθρώπινες δείγματα DNA. Χρησιμοποιείται ειδικό TaqMan® αντιδραστήριο για την ενίσχυση και την ανίχνευση συγκεκριμένων SNP σε καθαρισμένα δείγματα γονιδιωματικού DNA. Η δράση του αντιδραστήριου βελτιστοποιείται με την προσθήκη ειδικού Master mix. Για την γονοτύπηση με την χρήση του StepOnePlus™ χρησιμοποιείται το εξής πρωτόκολλο:

1. Πραγματοποιείται αραίωση του δείγματος του καθαρού γενωμικού DNA έτσι ώστε η περιεκτικότητα των νουκλεϊκών οξέων να κυμαίνεται μεταξύ των 1-20 mg στα 4,5

μl που θα προστεθούν. Αποφασίστηκε η ποσότητα των 9μg από όπου και προέκυψε η τελική συγκέντρωση των νουκλεϊκών οξέων να είναι 2μg/ml.

2. Προστίθεται 4,5μl DNA σε κάθε well.
3. Σε κάθε plate προστίθενται τουλάχιστον 2 αρνητικοί δείκτες, όπου αντί για προσθήκη DNA, προστίθεται καθαρό νερό.
4. Σε κάθε plate προστίθενται 2 θετικοί δείκτες, όπου ο καθένας περιέχει γενωμικό υλικό για τις δύο εκδοχές της πολυμορφικής θέσης.
5. Προστίθενται 5,5 μl reaction mix (αποτελείται από 5μl Master mix και 0,5μl Genotyping assay) σε κάθε well.
6. Το plate καλύπτεται με ειδικό πλαστικό κάλυμμα.
7. Πραγματοποιείται φυγοκέντρηση του plate για spin down.
8. Εισαγωγή στο StepOnePlus™



Εικόνα B4. *Plate της Real time-PCR*

Επιπλέον, ένα μέρος των δειγμάτων (300) αναλύθηκε στο εργαστήριο Kbioscience με την μέθοδο της PCR, με ταυτόχρονη ταυτοποίηση περισσότερων του ενός πολυμορφισμού. Εφαρμόζεται η δοκιμή iPlex Gold, η οποία ανήκει στη κατηγορία των μεθόδων πολλαπλών αλυσιδωτών αντιδράσεων πολυμεράσης (multiplex Polymerase Chain Reaction, PCR). Με τις multiplex PCR μεθόδους είναι δυνατή η ανίχνευση πολλαπλών πολυμορφισμών σε μια μόνο αντίδραση.

ΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑΣ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ D

Ως κατωφλική τιμή για τον ορισμό της ανεπάρκειας βιταμίνης D όπως αυτή υπολογίζεται από την στην παρούσα μελέτη ήταν η τιμή συγκέντρωσης στον ορό της 25-ΟΗ-βιταμίνης D $< 20 \text{ ng/ml}$ ($< 50 \text{ nmol/L}$) . Στα βιβλιογραφία οι ερευνητές στην πλειοψηφία τους χρησιμοποιούν για τον ορισμό της ανεπάρκειας της 25-ΟΗ βιταμίνης D την τιμή του IOM $< 20 \text{ ng/ml}$ ή $< 50 \text{ nmol/L}$.

ΔΙΑΧΕΙΡΗΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

Όπως αναφέρθηκε η μελέτη OsteosII είναι μια επιδημιολογική μελέτη που εξέτασε μεγάλο αριθμό ατόμων (1000) από πολλές περιοχές και σημεία της Ελλάδας (40) . για κάθε άτομο που συμμετείχε στην μελέτη συλλέχθηκε μεγάλος αριθμός δεδομένων από το ερωτηματολόγιο, τις ανθρωπομετρίες και την αιμοληψία.

Κατά την επεξεργασία των δεδομένων αποκλείστηκαν από την μελέτη επιπλέον 113 άτομα με βάση τα στοιχεία που είχαν δηλώσει στο ερωτηματολόγιο είτε διότι αποδείχτηκε ότι απαντούσαν κάποιο από τα κριτήρια αποκλεισμού, είτε για είχαν προκύψει σφάλματα υποκαταγραφής στο ερωτηματολόγιό τους.

Επιπλέον όσον αφορά τα δεδομένα τις γονοτύπησης, είναι διαθέσιμα για 598 από τους συμμετέχοντες στην μελέτη. Η διαδικασία για να καταλήξουμε στην ταυτοποίηση της γενετικής σύστασης των συμμετεχόντων ως προς τους πολυμορφισμούς που εξετάσαμε περιελάμβανε πολλά στάδια. Στο πίνακα B2 παρουσιάζονται οι απώλειες των δεδομένων ανά στάδιο.

Πίνακας B2. Αριθμός απολεσθέντων δεδομένων ανά στάδιο.

Στάδιο απώλειας	Αριθμός
Αιμοληψία	19
Απομόνωση	65
Γονοτύπηση	205

Η απώλεια κατά το στάδιο την αιμοληψίας οφείλεται στην μη λήψη δείγματος αίματος, στην αποτυχημένη φυγοκέντρωση, και στην προβληματική αποθήκευση του δείγματος που οδήγησε σε απόρριψή του. Η απώλεια στο στάδιο της απομόνωσης οφείλεται στην αποτυχημένη απομόνωση από το μηχάνημα, στην απομόνωση γενωμικού υλικού χαμηλής καθαρότητας ή πολύ χαμηλής περιεκτικότητας. Η απώλεια κατά το στάδιο της γονοτύπησης οφείλεται σε αποτυχημένο προσδιορισμό του γονοτύπου από το μηχάνημα StepOnePlus™ που μπορεί να οφείλεται σε διάφορους λόγους που σχετίζονται με την φόρτωση του plate της PCR είτε στις διαδικασίες που ακολουθούνται στο μηχάνημα λόγω ελλειπών συντήρησης. Η πλειοψηφία των αποτυχημένων γονοτυπώσεων επαναλήφθηκαν μέχρι εξάντλησης των διαθέσιμων υλικών.

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων έγινε με την χρήση του στατιστικού προγράμματος Pasw SPSS statistics, έκδοση 21.0. Έγινε αποκλεισμός των ακραίων τιμών που είχαν απόκλιση από το μέσο όρο μεγαλύτερη των ± 2 τυπικών αποκλίσεων και θεωρήθηκε ότι όλες οι μεταβλητές ακολουθούν την κανονική κατανομή λόγω του μεγάλου δείγματος της μελέτης. Οι μεταβλητές που χρησιμοποιήθηκαν ήταν κατηγορικές και συνεχείς (ποσοτικές). Οι κατηγορικές μεταβλητές εκφράστηκαν ως ποσοστά, δηλαδή συχνότητα (%), ενώ οι ποσοτικές μεταβλητές εκφράστηκαν ως μέσος όρος $\pm$ τυπική απόκλιση. Για τη συσχέτιση μεταξύ δύο κατηγορικών μεταβλητών χρησιμοποιήθηκε ο έλεγχος Pearson χ^2 . Διαπιστώσουμε τις διαφορές μεταξύ των ποσοστών δύο διαφορετικών υποομάδων του δείγματος δηλαδή μεταξύ ανδρών και γυναικών. Για τη συσχέτιση μιας ποσοτικής μεταβλητής, που ακολουθεί την κανονική κατανομή, με μια κατηγορική μεταβλητή με δύο κατηγορίες χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό κριτήριο T-test. Για την ανάλυση των περιγραφικών χαρακτηριστικών χρησιμοποιήθηκε τόσο το χ^2 του Pearson όσο και το T-test ανάλογα με την φύση των μεταβλητών. Η διερεύνηση των εξεταζόμενων σχέσεων πραγματοποιήθηκε αρχικά με απλές γραμμικές παλινδρομήσεις και έπειτα για εκείνες που εμφάνισαν στατιστική σημαντικότητα πραγματοποιήθηκαν επιπλέον

πολλαπλές παλινδρομήσεις, εξετάζοντας την ύπαρξη συγχυτικών παραγόντων στο μοντέλο. Πραγματοποιήθηκαν μονοπαραγοντικές (χωρίς διόρθωση για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες) γραμμικές παλινδρομήσεις για την εκτίμηση των Συντελεστών Συσχέτισης Β των υπό διερεύνηση συσχετίσεων. Έπειτα, προσδιορίστηκαν οι διορθωμένοι για διάφορους συγχυτικούς παράγοντες Συντελεστές Συσχέτισης Β από πολυπαραγοντικές γραμμικές παλινδρομήσεις αντίστοιχα. Τέλος για τους γενετικούς και περιβαλλοντικούς παράγοντες που αποδείχθηκαν στατιστικά σημαντικοί, έγινε έλεγχος της αλληλεπίδρασής τους στους δείκτες οστικής υπερηχομετρίας με την εφαρμογή λογιστικής παλινδρόμησης. Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας σε όλες τις αναλύσεις ορίστηκε ως $p < 0,05$.

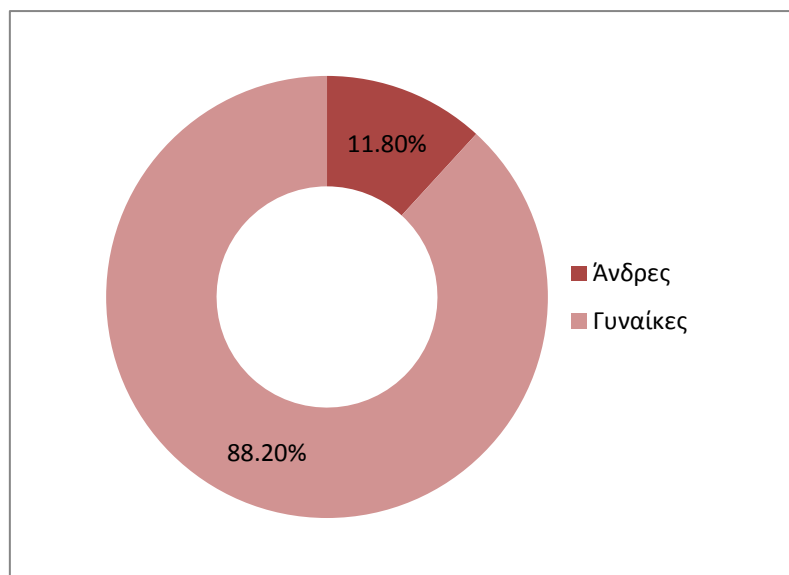
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. ΠΕΡΙΓΡΑΦΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Πίνακας Γ3. Φύλο ατόμων που συμμετείχαν στη μελέτη

	Σύνολο N= 887	%
Φύλο		
Άνδρες	135	11,8
Γυναίκες	752	88,2

Στον πίνακα Γ1 φαίνεται η κατανομή του φύλου των ατόμων που συμμετείχαν στη μελέτη. Συνολικά, συμμετείχαν 887 άτομα. Οι γυναίκες ήταν 752 αποτελώντας το 88,2% του δείγματος, και οι άντρες ήταν 135, αποτελώντας το 11,8% του δείγματος.



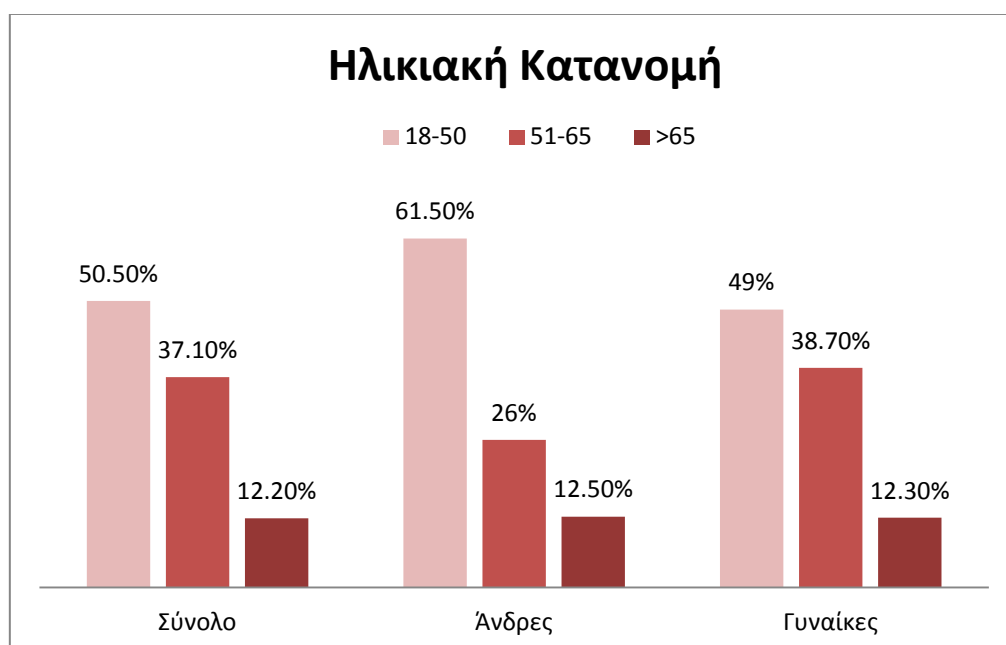
Εικόνα Γ1. Διάγραμμα ποσοστιαίας κατανομής του δείγματος της μελέτης ανά φύλο.

Πίνακας Γ4. Ηλικία των ατόμων που συμμετείχαν στη μελέτη στο σύνολο του δείγματος και ανά φύλο

	Σύνολο=876	Άνδρες=105	Γυναίκες=771	p-value
	Μέσος όρος ± ΤΑ	Μέσος όρος ± ΤΑ	Μέσος όρος ± ΤΑ	
Ηλικία	49,74 ± 13,37	45 ± 16,2	50 ± 12,82	0,002

Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε $p < 0,05$

Στον πίνακα φαίνεται ο μέσος όρος της ηλικίας (± τυπική απόκλιση) των ατόμων που συμμετείχαν στη μελέτη στο σύνολο του δείγματος και ανά φύλο. Ο μέσος όρος της ηλικίας των ατόμων στο σύνολο του δείγματος ήταν $20 \pm 12,82$ έτη. Μεταξύ των δύο φύλων παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($p = 0,002$).



Εικόνα Γ2. Διάγραμμα ηλικιακής κατανομής των ατόμων που συμμετείχαν στη μελέτη στο σύνολο του δείγματος και ανά φύλο για τις κατηγορίες 18-50, 51-60 και >65 ετών.

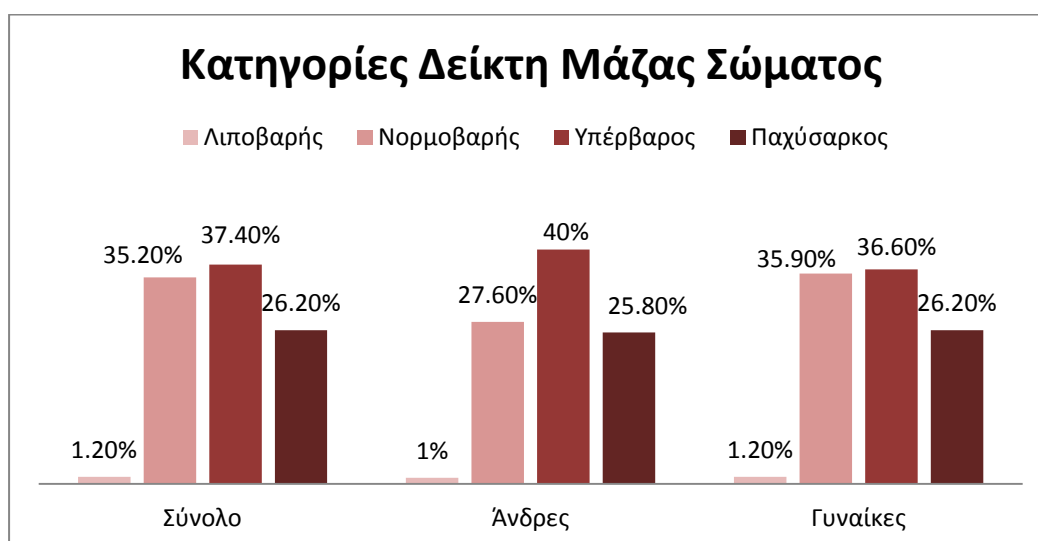
Πίνακας Γ5. Περιγραφικά ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά στο σύνολο του δείγματος και ανά φύλο

	Σύνολο=726	Άνδρες=97	Γυναίκες=629	p-value
	Μέσος όρος ± ΤΑ	Μέσος όρος ± ΤΑ	Μέσος όρος ± ΤΑ	
Βάρος (Kg)	72,93 ± 14,56	81 ± 14.1	71 ± 14.24	0.000
Ύψος (m)	1,62 ± 0,07	1.73 ± 0.07	1.61 ± 0.06	0.000
ΔΜΣ (kg/m2)	27,5 ± 5,5	27.99 ± 5.1	27.48 ± 5.56	0.395

Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε $p < 0,05$

Στον πίνακα παρουσιάζονται τα περιγραφικά ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά στο σύνολο του δείγματος και ανά φύλο. Πιο συγκεκριμένα, παρουσιάζεται ο μέσος όρος του βάρους, του ύψους και του Δείκτη Μάζας Σώματος.

Αναφορικά με το δείκτη μάζας σώματος (ΔΜΣ), ο μέσος όρος του στο σύνολο του δείγματος $27,5 \pm 5,5 \text{ kg/m}^2$ χωρίς να υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ ανδρών και γυναικών ($p = 0,395$). Ο μέσος όρος του ύψους στο σύνολο του δείγματος ήταν $1,62 \pm 0,07 \text{ m}$ και του βάρους ήταν $72,93 \pm 14,56 \text{ kg}$. Μεταξύ ανδρών και γυναικών παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές στο μέσο όρο τόσο του ύψους όσο και του βάρους ($p = 0,000$).



Εικόνα Γ3. Κατηγορίες Δείκτη Μάζας Σώματος των ατόμων που συμμετείχαν στη μελέτη στο σύνολο του δείγματος και ανά φύλο.

Πίνακας Γ6. Επίπεδα δεικτών φυσικής δραστηριότητας και καθιστικών δραστηριοτήτων στο σύνολο του δείγματος και ανά φύλο

	Σύνολο=835	Άνδρες=101	Γυναίκες=734	p-value
	Μέσος όρος $\pm$ TA	Μέσος όρος $\pm$ TA	Μέσος όρος $\pm$ TA	
PAL	1,38 $\pm$ 0,25	1,29 $\pm$ 0,22	1,39 $\pm$ 0,25	0,000
Μέτριας ως υψηλής έντασης (min/ημέρα)	12 $\pm$ 27,83	16,79 $\pm$ 30,56	12,08 $\pm$ 27,41	0,144
	Σύνολο=797	Άνδρες=101	Γυναίκες=696	p-value
	Μέσος όρος $\pm$ TA	Μέσος όρος $\pm$ TA	Μέσος όρος $\pm$ TA	
Καθιστικές Δραστηριότητες (ώρες/ημέρα)	3,03 $\pm$ 2,14	3,23 $\pm$ 2,34	3 $\pm$ 2,11	0,349

Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε $p < 0,05$

Στον πίνακα Γ5 παρουσιάζονται τα επίπεδα δεικτών φυσικής δραστηριότητας και καθιστικών δραστηριοτήτων στο σύνολο του δείγματος και ανά φύλο. Συγκεκριμένα, παρουσιάζεται ο μέσος όρος ($\pm$ τυπική απόκλιση), του δείκτη φυσικής δραστηριότητας PAL (Physical Activity Level) και του ημερήσιου χρόνου μέτριας έως υψηλής έντασης δραστηριότητας, καθώς και του ημερήσιου χρόνου ενασχόλησης με το υπολογιστή/παρακολούθηση τηλεόρασης.

Συγκεκριμένα, ο μέσος όρος στο σύνολο του δείγματος του ημερήσιου χρόνου μέτριας έως υψηλής έντασης φυσικής δραστηριότητας ήταν, 12 $\pm$ 27,8 λεπτά και δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ανάμεσα στους άνδρες και στις γυναίκες. Χωρίς στατιστικά σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των δύο φύλων, οι ώρες καθιστικές δραστηριότητες στο σύνολο του δείγματος ήταν κατά μέσο όρο 3,03 $\pm$ 2,14 . Το PAL βρέθηκε υψηλότερος στις γυναίκες (1,39 $\pm$ 0,25) και χαμηλότερος στους άνδρες (1,29 $\pm$ 0,22) .

Πίνακας Γ7. Επίπεδα βιοχημικών δεικτών στο σύνολο του δείγματος και ανά φύλο

	Σύνολο=877	Άνδρες=105	Γυναίκες=772	p-value
	Μέσος όρος ± TA	Μέσος όρος ± TA	Μέσος όρος ± TA	
25-OH- Βιταμίνη D ορού (ng/ml)	19,99 ± 7,97	22,55 ± 9,09	19,64 ± 7,75	0,002
	Σύνολο=844	Άνδρες=101	Γυναίκες=696	p-value
	Μέσος όρος ± TA	Μέσος όρος ± TA	Μέσος όρος ± TA	
Παραθορμόνη ορού (pg/ml)	40,02 ± 15,4	39,62 ± 16,15	40,08 ± 15,3	0,779

Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε $p < 0,05$

Όσον αφορά την 25-OH- βιταμίνης D ορού , στο σύνολο του δείγματος ο μέσος όρος της βρέθηκε ίσος με $19,99 \pm 7,97$ nmol/L. Μεταξύ των δύο φύλων παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($p = 0,002$). Αναφορικά με την παραθορμόνη ορού, στο σύνολο του δείγματος ο μέσος όρος ήταν $40,02 \pm 15,4$ pg/mL. Μεταξύ ανδρών και γυναικών δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($p = 0,779$).

Πίνακας Γ8. Ποσοστά φυσιολογικών επιπέδων 25-OH βιταμίνης D και ανεπάρκειας ή έλλειψης 25-OH βιταμίνης D , στο σύνολο του δείγματος και ανά φύλο .

	Σύνολο=870	Άνδρες=100	Γυναίκες=766	p-value
	Συχνότητα (%)	Συχνότητα (%)	Συχνότητα (%)	
Επίπεδα 25-OH-βιταμίνης D				
<10 ng/ml (έλλειψη)	69 7,8 %	7 6,7%	62 8%	0,624
>= 10 ng/ml	815 92,3%	98 93,3%	717 92%	
<20 ng/ml (ανεπάρκεια)	472 53,4%	42 40%	430 55,2%	0,003
>= 20 ng/ml	412 46,6%	63 60%	349 44,8%	

Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε $p < 0,05$

Στον πίνακα Γ7 εμφανίζονται τα ποσοστά των φυσιολογικών επιπέδων της 25-OH βιταμίνης D και ανεπάρκειας 25-OH βιταμίνης D με κατωφλικές τιμές τα 10 ng/ml και τα 20 ng/ml στο σύνολο του δείγματος και ανά φύλο. Για κατωφλική τιμή τα 10 ng/ml παρατηρούμε ότι στο σύνολο του δείγματος το 20,3% έχει επίπεδα κάτω από αυτή ενώ το 92,3 % έχει επίπεδα ίση ή πάνω από αυτή. Μεταξύ ανδρών και γυναικών δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0,624$). Για κατωφλική τιμή τα 20 ng/ml παρατηρούμε ότι στο σύνολο του δείγματος το 53,4% έχει επίπεδα κάτω από αυτή ενώ το 46,6% έχει επίπεδα ίση ή πάνω από αυτή. Μεταξύ ανδρών και γυναικών παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ($p=0,003$). Ειδικότερα, το ποσοστό των γυναικών που είχε επίπεδα 25-OH βιταμίνης D < 20 ng/ml ήταν υψηλότερο (55,2 %) και χαμηλότερο στους άνδρες (40 %). Αντίθετα το ποσοστό των ανδρών που είχε επίπεδα 25-OH βιταμίνης D > ή ίσο με 20 ng/ml ήταν υψηλότερο (60%) και χαμηλότερο στις γυναίκες (44,8%).

Πίνακας Γ9. Επίπεδα δεικτών οστικής υπερηχομετρίας (BUA-Broadband Ultrasound Attenuation , SOS - Speed of Sound) στο σύνολο του δείγματος και ανά φύλο.

	Σύνολο=683	Άνδρες=95	Γυναίκες=95	p-value
	Μέσος όρος $\pm$ TA	Μέσος όρος $\pm$ TA	Μέσος όρος $\pm$ TA	
BUA (db/MHz)	114,7 $\pm$ 16,39	119,69 $\pm$ 19,39	113 $\pm$ 15,67	0,007
SOS (m/s)	1553,14 $\pm$ 87,14	1558,34 $\pm$ 155,86	1552,23 $\pm$ 70,1	0,712

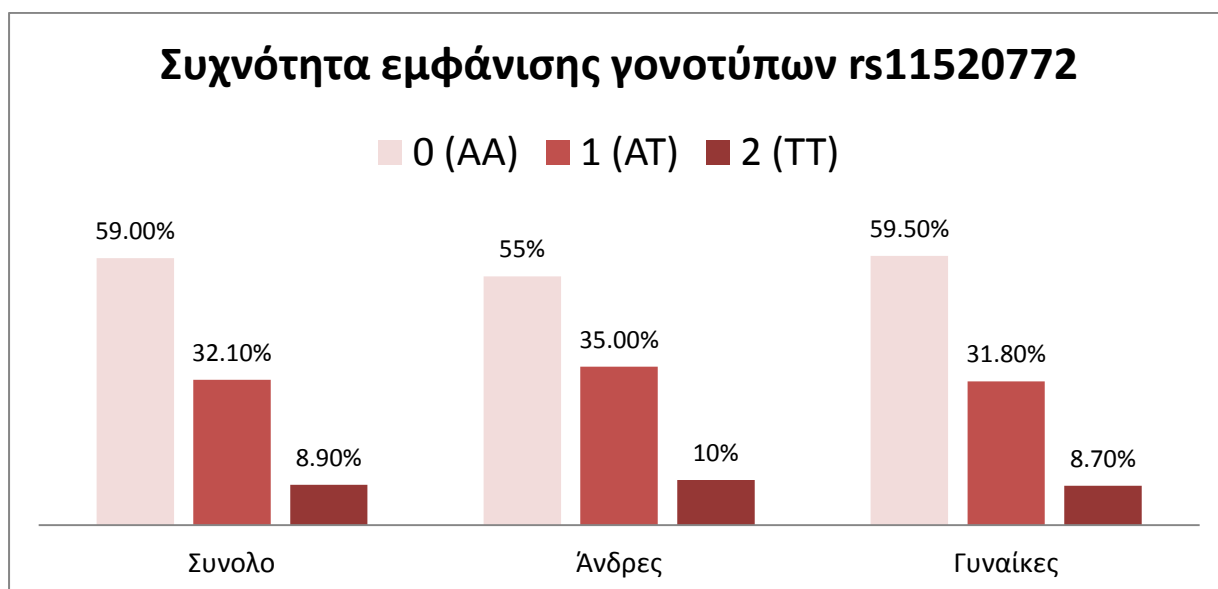
Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε $p<0,05$

Στον πίνακα Γ6 καταγράφονται ο μέσος όρος ($\pm$ τυπική απόκλιση) των δεικτών οστικής υπερηχομετρίας BUA (εξασθένιση ευρείας δέσμης υπερήχων), και SOS (μεταβολή της ταχύτητας διάδοσης του υπερήχου κατά την διέλευση του από το οστό) και της μεταβλητής SI (δείκτης ακαμψία) στο σύνολο του δείγματος και ανά φύλο. Στο συνολικό δείγμα παρατηρούμε ότι ο μέσος όρος του δείκτη BUA είναι 114,7 $\pm$ 16,39 db/MHz, του SOS 1553,14 $\pm$ 87,14 m/s. Μεταξύ ανδρών και γυναικών παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά στο μέσο όρο και του δείκτη οστική υπερηχομετρίας BUA ($p= 0,007$) και SI ($p=0,010$).

Πίνακας Γ10. Συχνότητα εμφάνισης αλληλομόρφων του πολυμορφισμού rs11520772 στο σύνολο του δείγματος και ανά φύλο.

	Σύνολο=598	Ανδρες=60	Γυναίκες= 538
	Συχνότητα (%)	Συχνότητα (%)	Συχνότητα (%)
Αλληλόμορφα κινδύνου rs11520772			
0	353 59%	33 55%	320 59,5%
1	192 32,1%	21 35%	171 31,8%
2	53 8,9%	10 10%	47 8,7%

Στο παραπάνω πίνακα φαίνεται η συχνότητα της γονοτυπικής έκφρασης του πολυμορφισμού rs11520772 στο σύνολο των ατόμων και ανά φύλο. Το ίδιο παριστάνεται και διαγραμματικά στον παρακάτω πίνακα.



Εικόνα Γ4. Διαγραμματική απεικόνιση της συχνότητας εμφάνισης των γονοτύπων του πολυμορφισμού rs11520772 στο σύνολο του δείγματος και ανά φύλο.

2. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΣΧΕΣΗΣ ΤΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΣΥΣΤΑΣΗΣ, ΤΗΣ ΑΣΚΗΣΗΣ ΚΑΙ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ 25(OH)D ΜΕ ΤΟΥΣ ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΥΠΕΡΗΧΟΜΕΤΡΙΑΣ

Πίνακας Γ11. Αδρές συσχετίσεις μεταξύ άσκησης/καθιστικών δραστηριοτήτων με τους δείκτες οστικής υπερηχομετρίας : απλές γραμμικές παλινδρομήσεις στο σύνολο του δείγματος.

	BUA (db/MHz)		SOS (m/s)	
	B	p-value	B	p-value
PAL	-0,49	0,841	-23,07	0,094
Μέτριας έως υψηλής έντασης (min/ ημέρα)	0,60	0,011	0,33	0,010
Καθιστικές Δραστηριότητες (ώρες/ημέρα)	-0,62	0,836	-3,03	0,020

Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε $p < 0,05$

Στον πίνακα Γ10 παρουσιάζεται η συσχέτιση μεταξύ των δεικτών οστικής υπερηχομετρίας ως εξαρτημένες μεταβλητές στο μοντέλο της παλινδρόμησης, με τις μεταβλητές της φυσικής δραστηριότητας, ως ανεξάρτητες μεταβλητές.

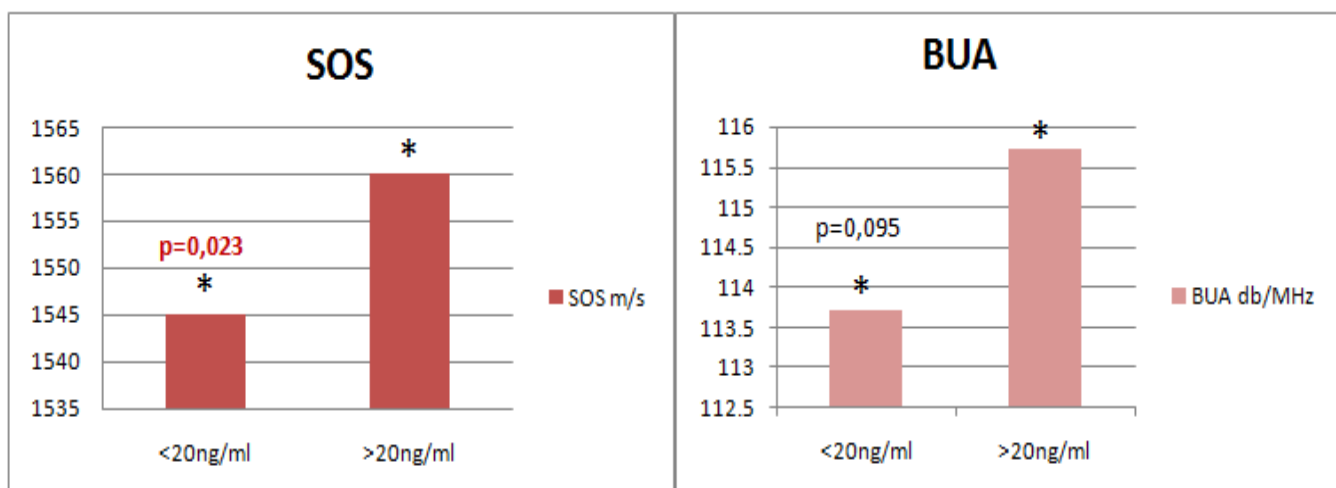
Χρησιμοποιώντας ως ανεξάρτητη μεταβλητή το PAL (physical activities level) δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική σχέση με κάποιον από τους δείκτες οστικής υπερηχομετρίας ($p > 0.005$). Η συσχέτιση της μέτριας έως υψηλής έντασης φυσική δραστηριότητα με τον δείκτη BUA και με τον SOS αποδείχτηκε ότι είναι στατιστικά σημαντική και θετική ($B=0,60$ με $p = 0,011$ και $\beta = 0,33$ με $p = 0,010$ αντίστοιχα). Τέλος οι ώρες που αφιερώνονται σε καθιστικές δραστηριότητες συσχετίστηκαν στατιστικά σημαντικά και αρνητικά με τον δείκτη SOS ($B=-3,03$ με $p=0,020$), ενώ δεν συσχετίστηκαν σημαντικά με το δείκτη BUA ($p > 0,005$).

Πίνακας Γ12. Αδρές συσχετίσεις μεταξύ των επιπέδων της 25(OH)βιταμίνης D του ορού με τους δείκτες οστικής υπερηχομετρίας : απλή γραμμική παλινδρόμηση στο σύνολο του δείγματος.

	BUA (db/MHz)		SOS (m/s)	
	B	p-value	B	p-value
Επίπεδα 25(OH) D₃	0,113	0,163	0,783	0,78

Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε $p < 0,05$

Χρησιμοποιώντας ως ανεξάρτητη μεταβλητή τα επίπεδα 25-OH-βιταμίνης D δεν παρατηρήθηκε καμία στατιστικά σημαντική σχέση με κάποιον από τους δείκτες οστικής υπερηχομετρίας ($p > 0,005$).



Εικόνα Γ5. Διαγραμματική απεικόνιση της μέσης τιμής των δεικτών BUA και SOS στις δύο κατηγορίες 25-υδροξυ-βιταμίνης D στον ορό.

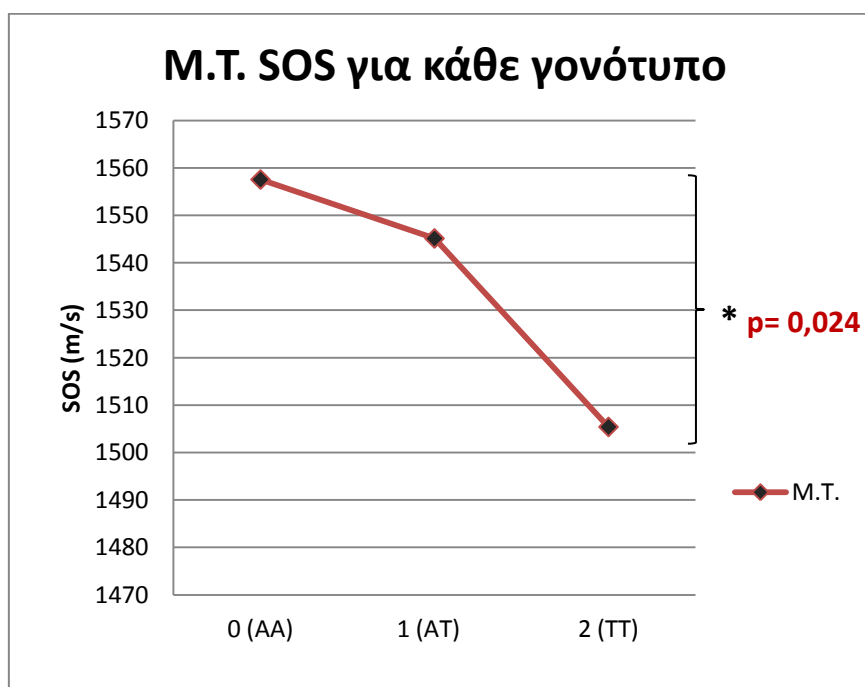
Στα παραπάνω διαγράμματα απεικονίζονται οι μέσοι όροι των δεικτών BUA και SOS για τις δύο κατηγορίες των επιπέδων 25-υδροξυ-βιταμίνης D στον ορό. Συγκεκριμένα η μέση τιμή του δείκτη SOS διαφέρει στατιστικά σημαντικά ($p = 0,023$) ανάμεσα στις κατηγορίες και συγκεκριμένα είναι ήταν μικρότερη κατά 15,03 m/s σε όσα άτομα είχαν 25-υδροξυ-βιταμίνης D ορού $> 20 \text{ ng/ml}$. Η μέση τιμή του δείκτη BUA δεν διέφερε στατιστικά σημαντικά στις δύο κατηγορίες ($p = 0,095$).

Πίνακας Γ13. Αδρές συσχετίσεις μεταξύ των γονοτύπων του πολυμορφισμού rs11520772 με τους δείκτες οστικής υπερηχομετρίας : απλή γραμμική παλινδρόμηση στο σύνολο του δείγματος.

	BUA (db/MHz)		SOS (m/s)	
	B	p-value	B	p-value
rs11520772	-0,86	0,492	-20,5	0,012

Το επίπεδο στατιστική σημαντικότητας ορίστηκε $p < 0,05$

Στον πίνακα Γ12 παρουσιάζεται η συσχέτιση μεταξύ των δεικτών οστικής υπερηχομετρίας ως εξαρτημένες μεταβλητές στο μοντέλο της παλινδρόμησης, με το γονότυπο του πολυμορφισμού rs11520772 ως εξαρτημένη μεταβλητή. Ο γονότυπος του rs11520772 δεν συσχετίστηκε σημαντικά με τον δείκτη BUA ($p=0,492$). Αλλά συσχετίστηκε στατιστικά σημαντικά και αρνητικά με τον δείκτη SOS ($B = -20,5$ και $p=0,012$).



Εικόνα Γ6. Διαγραμματική απεικόνιση των μέσων τιμών του δείκτη SOS για κάθε διαφορετικό γονότυπο του rs11520772.

Στο παραπάνω διάγραμμα παρουσιάζεται η μείωση που υφίσταται η μέση τιμή του δείκτη SOS για κάθε αλληλόμορφο κινδύνου που διαθέτουν τα άτομα του δείγματος. Συγκεκριμένα στατιστικά σημαντική διαφορά παρουσιάζεται μόνο μεταξύ των ατόμων που

φέρουν 0 αλληλόμορφα κινδύνου με αυτούς που φέρουν 2 ($p=0,024$) , ενώ δεν παρουσιάστηκε στατιστική σημαντικότητα, μεταξύ των ατόμων που φέρουν 0 και 1 αλληλόμορφα ($p=0,822$) και μεταξύ των ατόμων που φέρουν 2 και 1 ($p=0,160$).

Πίνακας Γ14. Διορθωμένες συσχετίσεις α) μεταξύ των παραμέτρων της φυσικής δραστηριότητας με τους δείκτες BUA και SOS οστικής υπερηχομετρίας β) μεταξύ των γονοτύπων του πολυμορφισμού rs11520772 και τον δείκτη SOS της οστικής υπερηχομετρίας : Αποτελέσματα από τις πολλαπλές γραμμικές παλινδρομήσεις για την κάθε μεταβλητή στο σύνολο του δείγματος (Διορθωμένοι παράμετροι B για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες *)

	BUA (db/MHz)		SOS (m/s)	
	Adjusted B	p-value	Adjusted B	p-value
Μέτριας έως υψηλής έντασης (min/ ημέρα)	0,037	0,091	0,25	0,055
Καθιστικές Δραστηριότητες (ώρες/ημέρα)	/		-3,50	0,038
rs11520772	/		-21,44	0,009

Adjusted B: διορθωμένη παράμετρος γραμμικής συσχέτισης

Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε $p<0,05$

*ΔΜΣ, ηλικία, φύλο

Στον πίνακα Γ12 παρουσιάζεται η συσχέτιση μεταξύ των παραμέτρων της φυσικής δραστηριότητας (μέτριας έως υψηλής έντασης, καθιστικές δραστηριότητες) με τους δείκτες BUA και SOS οστικής υπερηχομετρίας και μεταξύ των γονοτύπων του πολυμορφισμού rs11520772 και τον δείκτη SOS της οστικής υπερηχομετρίας. Σκοπός ήταν να εξεταστεί αν οι στατιστικά σημαντικές συσχετίσεις που βρέθηκαν από την απλή γραμμική παλινδρόμηση θα παρέμεναν, όταν ορισμένοι πιθανοί συγχυτικοί παράγοντες λαμβάνονταν υπόψη. Οι συγχυτικοί παράγοντες που προστέθηκαν στο μοντέλο ήταν το φύλο, η ηλικία, ο Δείκτης Μάζας Σώματος (ΔΜΣ).

Τα αποτελέσματα της πρώτης πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης έδειξαν ότι η θετική συσχέτιση μεταξύ των λεπτών μέτριας έως υψηλής έντασης φυσική δραστηριότητα και του δείκτη οστικής υπερηχομετρίας BUA παύει να υφίσταται στο πλήρες μοντέλο (φύλο, ηλικία, Δείκτης Μάζας Σώματος). Όμοια συμβαίνει και μεταξύ των λεπτών μέτριας έως υψηλής έντασης φυσική δραστηριότητα και του δείκτη οστικής υπερηχομετρίας SOS.

Τα αποτελέσματα της δεύτερης πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης έδειξαν ότι η αρνητική συσχέτιση της μεταβλητής, ώρες καθιστικών δραστηριοτήτων και του δείκτη οστικής υπερηχομετρίας SOS που φάνηκε από την απλή γραμμική παλινδρόμηση, διατηρεί τη στατιστική σημαντικότητά της ($p = 0,038$) όταν επιπλέον συγχυτικοί παράγοντες λαμβάνονται υπόψη (φύλο, ηλικία, Δείκτης Μάζας Σώματος).

Τα αποτελέσματα της τρίτης πολλαπλής γραμμικής παλινδρόμησης έδειξαν ότι η αρνητική συσχέτιση μεταξύ των γονοτύπων του πολυμορφισμού rs11520772 και του δείκτη SOS της οστικής υπερηχομετρίας, που προέκυψε από την απλή γραμμική παλινδρόμηση, διατηρεί την στατιστική σημαντικότητά της ($p = 0,009$) όταν λαμβάνονται υπόψη και οι πιθανοί συγχυτικοί παράγοντες (φύλο, ηλικία, δείκτης μάζας σώματος).

3. ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΓΕΝΕΤΙΚΟΥ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΥ ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΣΚΗΣΗΣ ΜΕ ΤΟΝ ΔΕΙΚΤΗ ΟΣΤΙΚΗΣ ΥΠΕΡΗΧΟΜΕΤΡΙΑΣ SOS (*Speed of Sound*)

Πίνακας Γ15. Διορθωμένη συσχέτιση μεταξύ των αλληλεπιδρώντων γονοτύπων του πολυμορφισμού rs11520772 και ωρών καθιστικής δραστηριότητας, με τον δείκτη SOS της οστικής υπερηχομετρίας: Πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση στο σύνολο του δείγματος (Διορθωμένοι παράμετροι B για πιθανούς συγχυτικούς παράγοντες *)

	SOS	
	Adjusted B	p-value
rs115207752*(ώρες καθιστικής δραστηριότητας) (κανένα αλληλόμορφο κινδύνου)	-	-
rs115207752*(ώρες καθιστικής δραστηριότητας) (1 αλληλόμορφο κινδύνου)	-12.45	0,045
rs115207752*(ώρες καθιστικής δραστηριότητας) (2 αλληλόμορφα κινδύνου)	-12.49	0.154

Adjusted B: διορθωμένη παράμετρος γραμμικής συσχέτισης

Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε $p < 0,05$

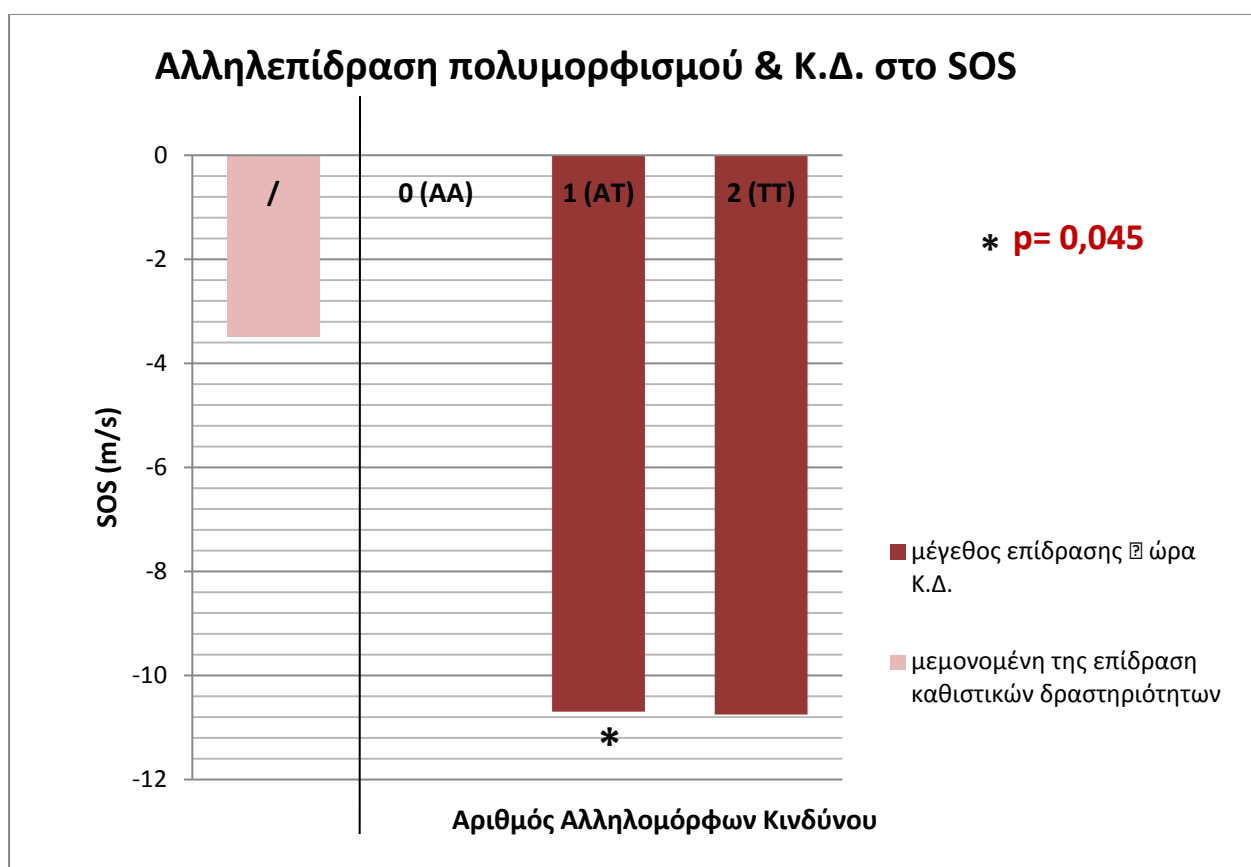
*ΔΜΣ, ηλικία, φύλο

Στον πίνακα Γ14 παρουσιάζεται η συσχέτιση μεταξύ της αλληλεπίδρασης του πολυμορφισμού rs11520772 του γονιδίου TAX1BP1 με τις καθιστικές δραστηριότητες που μετρούνται σε ώρες ανά ημέρα, με τον δείκτη SOS οστικής υπερηχομετρίας. Σκοπός ήταν να εξεταστεί αν υπάρχει διαφορά στην μεταβολή του δείκτη SOS σε άτομα που έχουν διαφορετικό αριθμό αλληλομόρφων κινδύνου, όταν υπάρξει η επίδραση του παράγοντα «ώρες καθιστικής δραστηριότητας». Το μοντέλο είναι διορθωμένο για τους συγχυτικούς παράγοντες: το φύλο, η ηλικία, ο Δείκτης Μάζας Σώματος (ΔΜΣ).

Στο μοντέλο γίνεται σύγκριση της μέσης τιμής της μεταβολής του δείκτη SOS που θα είχε ένα άτομο με κανένα αλληλόμορφο κινδύνου σε σχέση με 1) το άτομο που έχει ένα αλληλόμορφο κινδύνου και 2) το άτομο που έχει 2 αλληλόμορφα κινδύνου, για κάθε ώρα καθιστικής δραστηριότητας που πραγματοποιείται.

Στην πρώτη περίπτωση αποδείχτηκε πώς: Για κάθε ώρα καθιστικής δραστηριότητας που πραγματοποιείται, ο δείκτης SOS υφίσταται επιπλέον μείωση κατά 12,45 ($B = -12,45$) στο άτομο με ένα αλληλόμορφο κινδύνου, σε σχέση με ένα άτομο που δεν φέρει αλληλόμορφο κινδύνου, και το εύρημα είναι στατιστικά σημαντικό ($p=0,045$).

Στην δεύτερη περίπτωση αποδείχτηκε πώς: Για κάθε ώρα καθιστικής δραστηριότητας που πραγματοποιείται, ο δείκτης SOS υφίσταται επιπλέον μείωση κατά 12,49 ($B = -12,49$) στο άτομο με δύο αλληλόμορφα κινδύνου, σε σχέση με ένα άτομο που δεν φέρει αλληλόμορφο κινδύνου, αλλά το εύρημα δεν είναι στατιστικά σημαντικό ($p=0,154$).



Εικόνα Γ7. Διαγραμματική του μεγέθους της επίδρασης για κάθε ώρα καθιστικής δραστηριότητας στον δείκτη SOS για τους φορείς 1 και 2 αλληλομόρφων σε σχέση με τους φορείς 0 αλληλομόρφων κινδύνου. Η πρώτη μπάρα στα αριστερά είναι η επίδραση της Κ.Δ. στο δείκτη SOS χωρίς να ληφθεί υπόψη η γενετική σύσταση. Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας ορίστηκε το $p > 0.05$.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα μελέτη συμμετείχαν 887 ενήλικες ηλικίας 18-84 ετών. Οι συμμετέχοντες επιλέχθηκαν τυχαία για συμμετοχή στην μελέτη καθώς παρακολουθήσαν την ημερίδα ενημέρωσης και ευαισθητοποίησης του κοινού σχετικά με το πρόβλημα της οστεοπόρωσης που διοργάνωσε στην περιοχή τους ο Σύλλογος Υποστήριξης Ασθενών με Οστεοπόρωση, σε συνεργασία με τους αντίστοιχους Δήμους και Κοινότητες. Παρά το γεγονός ότι η σχέση μεταξύ περιβαλλοντικών παραγόντων όπως η άσκηση και η διατροφή με δείκτες οστικής υγείας έχουν σε κάποιο βαθμό εξεταστεί από τις υπάρχουσες βιβλιογραφικές μελέτες, η πρωτοτυπία της παρούσας έρευνας έγκειται στο γεγονός ότι εξετάζει ένα αρκετά μεγάλο δείγμα ατόμων στον ελληνικό πληθυσμό ($n=887$) και το γεγονός πως για την αξιολόγηση της οστικής μάζας χρησιμοποιείται η οστική υπερηχομετρία που αποτελεί την πλέον ενδεικνυόμενη, σε επίπεδο πρακτικής εφαρμογής, μέθοδο για όλες τις ηλικίες. Ωστόσο, τα μέχρι σήμερα βιβλιογραφικά δεδομένα σχετικά με την οστική υπερηχομετρία είναι ελλιπή και η σύνδεση των οστικών δεικτών που προκύπτουν από αυτήν με την άσκηση αλλά και με τα επίπεδα της 25-υδροξύ-βιταμίνης D στο ορό παρουσιάζουν βιβλιογραφικό κενό. Σημαντική θέση κατέχουν οι αλληλεπιδράσεις των παραπάνω παραγόντων που μεταβάλλουν το συνολικό κίνδυνο για έκπτωση της σκελετικής υγείας, καθώς η μελέτη μεμονωμένων παραγόντων κινδύνου, χωρίς τη διερεύνηση και κατανόηση των αλληλεπιδράσεων μεταξύ τους, έχει μικρή πρακτική και κλινική σημασία. Η κατανόηση όμως των αλληλεπιδράσεων μεταξύ τους μπορεί να είναι το κλειδί για αποτελεσματικότερη και εξατομικευμένη πρόληψη της έκπτωσης της οστικής μάζας [79]. Η συγκεκριμένη μελέτη είναι η πρώτη εργασία που μελετά άνδρες και γυναίκες όλων των ηλικιών και συμπεριλαμβάνει γενετικούς παράγοντες κινδύνου στον ελληνικό πληθυσμό.

Από τα ευρήματα της παρούσας μελέτης φαίνεται ότι ο μέσος όρος των επιπέδων 25-υδροξύ-βιταμίνης D στο δείγμα μας είναι $19,99 \pm 7,97$ ng/ml, ενώ το ποσοστό των μη φυσιολογικών επιπέδων βιταμίνης D (συμπεριλαμβανομένης ανεπάρκειας και έλλειψης), τα οποία ορίστηκαν ότι υφίστανται όταν τα επίπεδα της 25-υδροξύ βιταμίνης D ήταν <20 ng/ml (ανεπάρκεια) και <10 ng/ml (έλλειψη), βρέθηκε στο σύνολο του δείγματος ίσο με 53,4%. Οι διάφορες μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί για την εκτίμηση του επιπολασμού της ανεπάρκειας της βιταμίνης D χρησιμοποιούν διαφορετικά όρια για τον προσδιορισμό της κατάστασης της βιταμίνης στον οργανισμό, με συνέπεια η σύγκριση των

αποτελεσμάτων τους να είναι δύσκολη. Παρά ταύτα, δεδομένα από μία μετα-ανάλυση στην κεντρική Ευρώπη το 2014, έρχονται να συμφωνήσουν με τα ευρήματά μας, καθώς καταλήγουν πως κατά μέσο όρο τα επίπεδα 25-υδροξύ-βιταμίνης D είναι κάτω από 30 ng/mL [80]. Ενώ από μετα-ανάλυση στο σύνολο της Ευρωπαϊκής κοινότητας για το οποίο υπήρχαν δεδομένα, βρέθηκε ότι ο επιπολασμός της ανεπάρκειας στην Ισπανία ήταν 33% (20-84χρονών), στην Γαλλία 41,5% (30-74χρονων) και πολύ υψηλότερος σε βορειότερες ευρωπαϊκές χώρες, όπως 56,8% στην Γερμανία (18-79χρονών). Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι δεν είχαν συμπεριληφθεί δεδομένα από την Ελλάδα, και πως στη χώρα μας παρά το γεγονός ότι ανήκει στις μεσογειακές χώρες, ο επιπολασμός της ανεπάρκειας της 25-υδροξύ-βιταμίνης D στο δείγμα μας είναι πλησιέστερος σε αυτόν της Γερμανίας από της Ισπανίας [81].

Εξετάζοντας την συσχέτιση των επιπέδων 25-υδροξύ-βιταμίνηςD με τους δείκτες οστικής υπερηχομετρίας δεν εμφανίστηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση (BUA: $p=0,14$, SOS: $p= 0,78$). Η συσχέτιση της 25-υδροξύ-βιταμίνηςD ορού με την οστική μάζα όπως μετράται με τους δείκτες οστικής υπερηχομετρίας αναμένεται να είναι θετική καθώς σχετίζεται θετικά με τις μετρήσεις DEXA. Ωστόσο η συσχέτιση αυτή δεν επιβεβαιώνεται με τα ελάχιστα βιβλιογραφικά δεδομένα μέχρι στιγμής. Σε υγιή αντρικό πληθυσμό μελετήθηκε η ίδια συσχέτιση χωρίς να φέρει στατιστικά σημαντικά αποτελέσματα [82]. Ωστόσο όταν ελέγξαμε αν υπάρχει διαφορά στις μέσες τιμές των μετρήσεων BUA και SOS για τα διαφορετικά επίπεδα της 25-υδροξύ-βιταμίνηςD ορού, παρατηρήθηκε πως η μέση τιμή του δείκτη SOS σε όσους είχαν 25-υδροξύ-βιταμίνηςD ορού $<20\text{ng/ml}$, ήταν μικρότερη κατά $15,03\text{m/s}$ σε σχέση με την μέση τιμή όσων είχαν 25-υδροξύ-βιταμίνηςD ορού $>20\text{ng/ml}$. Το παραπάνω εύρημα υποστηρίζεται βιβλιογραφικά με πολύ πρόσφατη μελέτη που έθεσε το όριο $18,21\text{ng/ml}$ 25-υδροξύ-βιταμίνηςD ορού, κάτω από το οποίο οι τιμές τις παραθορμόνης αυξάνονται στατιστικά σημαντικά και συνοδεύονται από αυξημένη οστική εναλλαγή και μειωμένη οστική μάζα μετρημένη ως BMD [61].

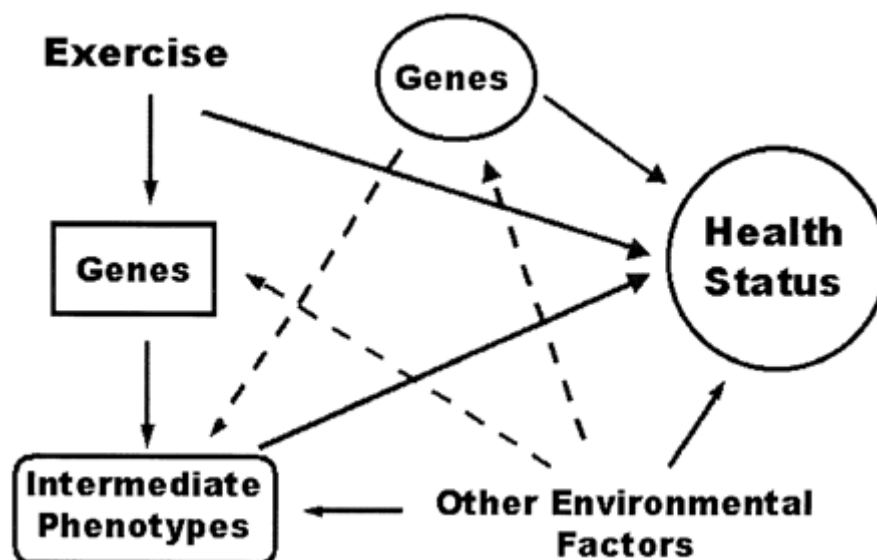
Όταν εξετάσαμε τη συσχέτιση της φυσικής δραστηριότητας με τους δείκτες οστικής υπερηχομετρίας, προέκυψε στατιστικά σημαντική, αρνητική συσχέτιση μεταξύ των καθιστικών δραστηριοτήτων και του δείκτη SOS ($p= 0,04$ $B= -3,5$) διορθωμένη για συγχυτικούς παράγοντες. Επιπλέον η ημερήσια, μέτρια προς υψηλή έντασης, φυσική δραστηριότητα σχετίστηκε αρχικά με τους δείκτες BUA και SOS, αλλά η στατιστική

σημαντικότητα χάθηκε όταν στο μοντέλο εισήχθηκαν οι συγχυτικοί παράγοντες. Η επίδραση της άσκησης στην οστική μάζα των ενηλίκων είναι καίριας σημασίας, και πολλές μελέτες έρχονται να το επιβεβαιώσουν. Ωστόσο, η πλειοψηφία από αυτές χρησιμοποιούν την πρότυπη μέθοδο του DEXA. Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος οστικής υπερηχομετρίας στη πτέρνα που όπως προαναφέρθηκε όλο και περισσότερη βιβλιογραφία φαίνεται να προτείνει την υπερηχομετρία ως ενδεικνυόμενη μέθοδο, λόγω της απουσίας ακτινοβολίας, της ευκολίας εφαρμογής, του χαμηλού κόστους, και των πληροφοριών μικροαρχιτεκτονικής του οστού που παρέχει. Υπάρχουν όμως αρκετές μελέτες παρέμβασης σε μικρά πληθυσμιακά δείγματα όπου η αύξηση της φυσικής δραστηριότητας έχει θετική επίδραση στις μετρήσεις QUS. Συγκεκριμένα για τον καθιστικό τρόπο ζωής γνωρίζουμε από την βιβλιογραφία ότι έχει αρνητική επίδραση στην οστική μάζα, καθώς έχει φανεί πως η μακρά ακινητοποίηση μπορεί να μειώσει την BMD ως και 40%. Σε δύο ελληνικές επιδημιολογικές μελέτες με γυναικείο μόνο πληθυσμό, έχει συσχετιστεί αρνητικά η καθιστική ζωή με του δείκτες οστικής υπερηχομετρίας BUA, SOS, και Z-score [83-84]. Τα δεδομένα αυτά έρχονται σε συμφωνία με τα δικά μας ευρήματα αλλά ο τρόπος αξιολόγησης της φυσικής δραστηριότητας ήταν διαφορετικός και αδυνατούμε να κάνουμε ακριβή σύγκριση των αποτελεσμάτων.

Από τον έλεγχο της συσχέτισης των δεικτών οστικής υπερηχομετρίας με την πολυμορφική θέση rs11520772, βρέθηκε, στατιστικά σημαντική, αρνητική σχέση του πολυμορφισμού με τον δείκτη SOS ($p=0,009$, $B=-21,44$). Το εύρημα αυτό φαίνεται πως επιβεβαιώνει την μετα-ανάλυση που δημοσιεύτηκε στο Human Molecular Genetics το 2014 όπου ο πολυμορφισμός είχε σχετιστεί αρνητικά με του παράγοντες BUA και SOS, και στα πλαίσια αυτά η παρούσα εργασία είχε συμμετάσχει ως μελέτη επιβεβαίωσης των ευρημάτων, μαζί με μελέτες από άλλους Ευρωπαϊκούς πληθυσμούς [48].

Τέλος από την αξιολόγηση της αλληλεπίδρασης του πολυμορφισμού με τις ώρες καθιστικής δραστηριότητας ως προς τον δείκτη SOS, αποδείχτηκε πώς: Για κάθε ώρα καθιστικής δραστηριότητας που πραγματοποιείται, ο δείκτης SOS υφίσταται επιπλέον μείωση κατά 12,45 m/s ($B=-12,45$) στο άτομο με ένα αλληλόμορφο κινδύνου, σε σχέση με ένα άτομο που δεν φέρει αλληλόμορφο κινδύνου, και το εύρημα είναι στατιστικά σημαντικό ($p=0,045$). Κάτι ανάλογο πρώτη φορά σημειώνεται στην βιβλιογραφία. Δεν υπάρχουν άλλες δημοσιευμένες μελέτες που να έχουν εξετάσει την αλληλεπίδραση της

καθιστικής δραστηριότητας με άλλες πολυμορφικές θέσης ως προς το SOS. Παρά το βιβλιογραφικό κενό το εύρημα μας φαίνεται λογικό καθώς το μέγεθος της αρνητικής επίδρασης της φυσικής δραστηριότητας στον δείκτη SOS από 3,03m/s, παρουσία ενός αλληλόμορφου κινδύνου, μεγεθύνεται στο 10,7 m/s, μία αύξηση της τάξης 305%. Ωστόσο για να ερμηνεύσουμε σωστά τα ευρήματά μας πρέπει να κατανοούμε πως τα γονίδια και η άσκηση μπορούν να αλληλεπιδρούν για να τροποποιήσουν ένα φαινοτυπικό χαρακτηριστικό σε πολλαπλά επίπεδα. Η εικόνα Δ1 είναι ενδεικτική για τους πολλούς και πολύπλοκους τρόπους με τους οποίους τα γονίδια και την άσκηση, τα δύο μαζί ή και ξεχωριστά, μπορούν να επηρεάσουν την οποιαδήποτε κατάσταση της υγείας ενός ατόμου.



Εικόνα Δ1. Μοντέλο αλληλεπίδρασης γονιδίων-άσκησης και άλλων περιβαλλοντικών παραγόντων στο συνολικό τους, ως καθοριστικοί παράγοντες της κατάστασης υγείας [85].

Τα παραπάνω ευρήματα, στο σύνολό τους πρέπει, να αξιολογηθούν έχοντας υπόψη και τους περιορισμούς της παρούσας μελέτης. Η συγχρονική φύση της μελέτης δεν μας επιτρέπει να εξάγουμε αιτιολογικές συσχετίσεις, καθώς δεν ικανοποιείται η βασική προϋπόθεση της χρονικής αλληλουχίας που απαιτείται για να οριστεί η σχέση μεταξύ ενός παράγοντα και της νόσου. Σαν αποτέλεσμα μπορούμε μόνο να υποθέσουμε την χρονική σειρά μεταξύ των εξεταζόμενων σχέσεων. Η αξιολόγηση της οστικής μάζας έγινε με τη μέθοδο της οστικής υπερηχομετρίας στην πτέρνα, που αν και βρίσκει την επιστημονική

κοινότητα, όλο και περισσότερο θετική στην εφαρμογή της, η αξιοπιστία της στις διάφορες ηλικιακές ομάδες, τίθεται ακόμη υπό διερεύνηση. Σχετικά με την διατροφική αξιολόγηση και την αξιολόγηση των επιπέδων της φυσικής δραστηριότητας των, χρησιμοποιήθηκαν τα αυτοδηλούμενα από τους συμμετέχοντες δεδομένα που προέκυψαν στις συνεντεύξεις τους με τους ερευνητές και μπορεί να έχουμε υποκύψει σε σφάλματα καταγραφής. Ένας ακόμα περιορισμός της παρούσας μελέτης είναι η περιορισμένη συμμετοχή ανδρών που φτάνει μόλις το 11,8% του συνολικού δείγματος.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παρούσα ερευνητική εργασία αποτελεί μέρος της επιδημιολογικής μελέτης OSTEOSII. Στα πλαίσια της εργασίας αυτής διερευνήθηκε η σχέση των επιπέδων 25-υδροξύ-βιταμίνης D, παραμέτρων της φυσικής δραστηριότητας και της πολυμορφικής θέσης rs11520772 του γονιδίου TAX1BP1 με την σκελετική μάζα όπως αυτή μετρήθηκε με την μέθοδο της οστικής υπερηχομετρίας. Σκοπός των παραπάνω συσχετίσεων ήταν η ανάδειξη αλληλεπιδράσεων των περιβαλλοντικών παραγόντων με την γενετική σύσταση ως προς την σκελετική υγεία.

Συμπερασματικά, παρατηρήσαμε ότι η βιταμίνη D δεν συσχετίστηκε με τους παράγοντες οστικής υπερηχομετρίας σε συμφωνία με άλλες μελέτες σε αντίστοιχους πληθυσμούς. Ωστόσο παρατηρήσαμε ότι ο επιπολασμός της ανεπάρκειας της Βιταμίνης D στο δείγμα μας φτάνει το 53,4%, μεγαλύτερο ποσοστό από αυτό θα αναμέναμε ως μεσογειακή χώρα με επαρκή ηλιοφάνεια, και σε αυτό το ποσοστό του δείγματος η μέση τιμή ενός δείκτη οστικής υπερηχομετρίας ήταν στατιστικά χαμηλότερη από το υπόλοιπο δείγμα. Είναι χρήσιμο λοιπόν να αξιολογηθεί και η διαιτητική πρόσληψη της βιταμίνης D από την ίδια μελέτη για να ερμηνεύσουμε ολιστικά τα αποτελέσματα.

Επιπλέον φάνηκε ότι οι ώρες καθιστικών δραστηριοτήτων, αποτελούν καθοριστικό παράγοντα του δείκτη SOS στο δείγμα της μελέτης μας, σε αντίθεση με τις δραστηριότητες μέτριας και υψηλής έντασης. Αυτό εξηγείται ενδεχομένως, από την ραγδαία αύξησης της ενασχόλησης με τις υπηρεσίες τεχνολογίας που αντικαθιστά χρόνο από τις κινητικές δραστηριότητες και δραστηριότητες άθλησης. Σε συνδυασμό της παραπάνω επίδρασης με την επίδραση της γενετικής σύστασης φάνηκε πώς: η ενασχόληση με καθιστικές δραστηριότητες των ετεροζυγωτών για τον πολυμορφισμό rs11520772 του γονιδίου TAX1BP1, επιβαρύνει επιπλέον την οστική τους μάζα, σε σχέση με τους υπόλοιπους συμμετέχοντες. Οι ετεροζυγώτες για το γονότυπο του rs11520772 του γονιδίου TAX1BP1, που αποτελούν το αξιοσημείωτο ποσοστό 32,1% του δείγματός μας. Διαφορετικά, και επειδή ο κύριος στόχος ανίχνευσης παρόμοιων συσχετίσεων είναι η επιτυχημένη και ουσιαστική πρόληψη των νοσημάτων στο γενικό πληθυσμό, οι ετεροζυγώτες για τον πολυμορφισμό rs11520772 του γονιδίου TAX1BP1, έχουν σημαντική πιθανότητα να

προλάβουν την έκπτωση της οστικής τους μάζας, εφαρμόζοντας ένα λιγότερο καθιστικό πρότυπο ζωής, όπως φαίνεται από την παρούσα μελέτη.

Βεβαίως, προκειμένου να παράγουμε ασφαλή συμπεράσματα, θα ήταν σημαντικό να πραγματοποιηθούν αντίστοιχες μελέτες, είτε επιδημιολογικές, είτε μελέτες παρέμβασης, που εξετάζουν την εν λόγω αλληλεπίδραση. Επιπλέον, επειδή ο ρόλος του εξεταζόμενου πολυμορφισμού και του γονιδίου TAX1BP1 στο οποίο εντοπίζεται, ως προς την σκελετική υγεία παραμένει προς διερεύνηση, θα ήταν σημαντικό θα μελετηθεί λεπτομερέστερα και ελπίζουμε και η παρούσα μελέτη να αποτελέσει κίνητρο προς αναζήτηση των βιολογικών μονοπατιών.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Γιάννης, Μ., *Διατροφική Αξιολόγηση*. 2006, Αθήνα: Ιατρικές Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης
2. Χατζηδάκης, Δ.Ι., *Νοσός και οστικός μεταβολισμός*. Vol. 1. 2010, Αθήνα: Γ.Β. Παρισιάνου.
3. Rosen CJ, B.M., *Mechanisms of disease: is osteoporosis the obesity of bone?* Nat Clin Pract Rheumatol, 2006. **2**: p. 35-43.
4. Guglielmi, G., et al., *[Bone densitometry in the diagnosis and follow-up of osteoporosis]*. Radiol Med, 2003. **106**(3 Suppl 1): p. 29-35.
5. Langton, C.M., S.B. Palmer, and R.W. Porter, *The measurement of broadband ultrasonic attenuation in cancellous bone*. Eng Med, 1984. **13**(2): p. 89-91.
6. Foundation, N.O., *Osteoporosis Clinical updates*. Winter 2002.
7. Baroncelli, G.I., *Quantitative ultrasound methods to assess bone mineral status in children: technical characteristics, performance, and clinical application*. Pediatr Res, 2008. **63**(3): p. 220-8.
8. *Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis*. Am J Med, 1993. **94**(6): p. 646-50.
9. Cummings, S.R. and L.J. Melton, *Epidemiology and outcomes of osteoporotic fractures*. Lancet, 2002. **359**(9319): p. 1761-7.
10. Lyritis, G.P., et al., *Incidence of hip fractures in Greece during a 30-year period: 1977-2007*. Osteoporos Int, 2013. **24**(5): p. 1579-85.
11. Kanis, J.A. and C.C. Gluer, *An update on the diagnosis and assessment of osteoporosis with densitometry. Committee of Scientific Advisors, International Osteoporosis Foundation*. Osteoporos Int, 2000. **11**(3): p. 192-202.
12. Binkley, N., et al., *Summary of the International Society For Clinical Densitometry 2005 Position Development Conference*. J Bone Miner Res, 2007. **22**(5): p. 643-5.
13. Μερόπη, Κ., *Διατροφή και σκελετική υγεία*. 1 ed. 2009.
14. Λυρίτης, Γ., *Μεταβολικά νοσήματα των οστών* Vol. 4. 2015, Αθήνα: Γ. Λυρίτης.
15. Richards, J.B., H.F. Zheng, and T.D. Spector, *Genetics of osteoporosis from genome-wide association studies: advances and challenges*. Nat Rev Genet, 2012. **13**(8): p. 576-88.
16. Williams, F.M. and T.D. Spector, *The genetics of osteoporosis*. Acta Reumatol Port, 2007. **32**(3): p. 231-40.
17. Duncan, E.L. and M.A. Brown, *Genetic studies in osteoporosis--the end of the beginning*. Arthritis Res Ther, 2008. **10**(5): p. 214.
18. Balding, D.J., *A tutorial on statistical methods for population association studies*. Nat Rev Genet, 2006. **7**(10): p. 781-91.
19. Rivadeneira, F., et al., *Twenty bone-mineral-density loci identified by large-scale meta-analysis of genome-wide association studies*. Nat Genet, 2009. **41**(11): p. 1199-206.
20. Richards, J.B., et al., *Bone mineral density, osteoporosis, and osteoporotic fractures: a genome-wide association study*. Lancet, 2008. **371**(9623): p. 1505-12.
21. Kiel, D.P., et al., *Genome-wide association with bone mass and geometry in the Framingham Heart Study*. BMC Med Genet, 2007. **8 Suppl 1**: p. S14.
22. Guo, Y., et al., *Genome-wide association study identifies ALDH7A1 as a novel susceptibility gene for osteoporosis*. PLoS Genet, 2010. **6**(1): p. e1000806.
23. Chen, Y., et al., *Pathway-based genome-wide association analysis identified the importance of EphrinA-EphR pathway for femoral neck bone geometry*. Bone, 2010. **46**(1): p. 129-36.
24. Karasik, D., et al., *Refined QTLs of osteoporosis-related traits by linkage analysis with genome-wide SNPs: Framingham SHARe*. Bone, 2010. **46**(4): p. 1114-21.
25. Xiong, D.H., et al., *Genome-wide association and follow-up replication studies identified ADAMTS18 and TGFBR3 as bone mass candidate genes in different ethnic groups*. Am J Hum Genet, 2009. **84**(3): p. 388-98.

26. Zhang, Y.P., et al., *Replication study of candidate genes/loci associated with osteoporosis based on genome-wide screening*. Osteoporos Int, 2010. **21**(5): p. 785-95.
27. Estrada, K., et al., *Genome-wide meta-analysis identifies 56 bone mineral density loci and reveals 14 loci associated with risk of fracture*. Nat Genet, 2012. **44**(5): p. 491-501.
28. Lee, M., et al., *Genome-wide linkage scan for quantitative trait loci underlying normal variation in heel bone ultrasound measures*. J Nutr Health Aging, 2012. **16**(1): p. 8-13.
29. Charopoulos, I., et al., *Lack of association between vitamin D and calcitonin receptor gene polymorphisms and forearm bone values of young Greek males*. J Musculoskelet Neuronal Interact, 2008. **8**(2): p. 196-203.
30. Douroudis, K., et al., *HLA alleles as predispositional factors for postmenopausal osteoporosis in a Greek population*. Tissue Antigens, 2007. **69**(6): p. 592-6.
31. Efstathiadou, Z., et al., *Correlation of estrogen receptor beta gene polymorphisms with spinal bone mineral density in peri- and post-menopausal Greek women*. Maturitas, 2006. **53**(4): p. 380-5.
32. Tilkeridis, C., et al., *Association of a COL1A1 polymorphism with lumbar disc disease in young military recruits*. J Med Genet, 2005. **42**(7): p. e44.
33. Fountas, L., et al., *Estrogen receptor alpha gene analysis in osteoporosis and familial osteoporosis*. Osteoporos Int, 2004. **15**(12): p. 948-56.
34. Efstathiadou, Z., et al., *The Sp1 COL1A1 gene polymorphism, and not vitamin D receptor or estrogen receptor gene polymorphisms, determines bone mineral density in postmenopausal Greek women*. Osteoporos Int, 2001. **12**(4): p. 326-31.
35. Fountas, L., et al., *The contribution of vitamin D receptor gene polymorphisms in osteoporosis and familial osteoporosis*. Osteoporos Int, 1999. **10**(5): p. 392-8.
36. Stathopoulou, M.G., et al., *The role of vitamin D receptor gene polymorphisms in the bone mineral density of Greek postmenopausal women with low calcium intake*. J Nutr Biochem, 2011. **22**(8): p. 752-7.
37. Journo, C., et al., *NRP/Optineurin Cooperates with TAX1BP1 to potentiate the activation of NF-kappaB by human T-lymphotropic virus type 1 tax protein*. PLoS Pathog, 2009. **5**(7): p. e1000521.
38. Iha, H., et al., *Inflammatory cardiac valvulitis in TAX1BP1-deficient mice through selective NF-kappaB activation*. EMBO J, 2008. **27**(4): p. 629-41.
39. Shembade, N., et al., *Essential role for TAX1BP1 in the termination of TNF-alpha-, IL-1- and LPS-mediated NF-kappaB and JNK signaling*. EMBO J, 2007. **26**(17): p. 3910-22.
40. Peloponese, J.M., Jr., T. Kinjo, and K.T. Jeang, *Human T-cell leukemia virus type 1 Tax and cellular transformation*. Int J Hematol, 2007. **86**(2): p. 101-6.
41. Gillespie, M.T., *Impact of cytokines and T lymphocytes upon osteoclast differentiation and function*. Arthritis Res Ther, 2007. **9**(2): p. 103.
42. Teitelbaum, S.L., *Osteoclasts: what do they do and how do they do it?* Am J Pathol, 2007. **170**(2): p. 427-35.
43. Romas, E., M.T. Gillespie, and T.J. Martin, *Involvement of receptor activator of NFkappaB ligand and tumor necrosis factor-alpha in bone destruction in rheumatoid arthritis*. Bone, 2002. **30**(2): p. 340-6.
44. Lam, J., et al., *TNF-alpha induces osteoclastogenesis by direct stimulation of macrophages exposed to permissive levels of RANK ligand*. J Clin Invest, 2000. **106**(12): p. 1481-8.
45. Weitzmann, M.N. and R. Pacifici, *The role of T lymphocytes in bone metabolism*. Immunol Rev, 2005. **208**: p. 154-68.
46. Soysa, N.S. and N. Alles, *NF-kappaB functions in osteoclasts*. Biochem Biophys Res Commun, 2009. **378**(1): p. 1-5.
47. Braun, T. and J. Zwerina, *Positive regulators of osteoclastogenesis and bone resorption in rheumatoid arthritis*. Arthritis Res Ther, 2011. **13**(4): p. 235.

48. Moayyeri, A., et al., *Genetic determinants of heel bone properties: genome-wide association meta-analysis and replication in the GEFOS/GENOMOS consortium*. Hum Mol Genet, 2014. **23**(11): p. 3054-68.
49. Lane, N.E., *Epidemiology, etiology, and diagnosis of osteoporosis*. Am J Obstet Gynecol, 2006. **194**(2 Suppl): p. S3-11.
50. Moschonis, G., et al., *Association between serum 25-hydroxyvitamin D levels and body composition in postmenopausal women: the postmenopausal Health Study*. Menopause, 2009. **16**(4): p. 701-7.
51. Norman, A.W., S. Ishizuka, and W.H. Okamura, *Ligands for the vitamin D endocrine system: different shapes function as agonists and antagonists for genomic and rapid response receptors or as a ligand for the plasma vitamin D binding protein*. J Steroid Biochem Mol Biol, 2001. **76**(1-5): p. 49-59.
52. Norman, A.W., et al., *Update on biological actions of 1alpha,25(OH)₂-vitamin D₃ (rapid effects) and 24R,25(OH)₂-vitamin D₃*. Mol Cell Endocrinol, 2002. **197**(1-2): p. 1-13.
53. Jones, G., et al., *Isolation and identification of seven metabolites of 25-hydroxydihydroxyvitamin D₃ formed in the isolated perfused rat kidney: a model for the study of side-chain metabolism of vitamin D*. Biochemistry, 1988. **27**(18): p. 7070-9.
54. Webb, A.R. and M.F. Holick, *The role of sunlight in the cutaneous production of vitamin D₃*. Annu Rev Nutr, 1988. **8**: p. 375-99.
55. Omdahl, J.L., H.A. Morris, and B.K. May, *Hydroxylase enzymes of the vitamin D pathway: expression, function, and regulation*. Annu Rev Nutr, 2002. **22**: p. 139-66.
56. Holick, M.F., *The use and interpretation of assays for vitamin D and its metabolites*. J Nutr, 1990. **120** Suppl 11: p. 1464-9.
57. de Boland, A.R. and A. Norman, *Evidence for involvement of protein kinase C and cyclic adenosine 3',5' monophosphate-dependent protein kinase in the 1,25-dihydroxy-vitamin D₃-mediated rapid stimulation of intestinal calcium transport, (transcaltachia)*. Endocrinology, 1990. **127**(1): p. 39-45.
58. Reichel, H., H.P. Koeffler, and A.W. Norman, *The role of the vitamin D endocrine system in health and disease*. N Engl J Med, 1989. **320**(15): p. 980-91.
59. Ross, A.C., et al., *The 2011 Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D: what dietetics practitioners need to know*. J Am Diet Assoc, 2011. **111**(4): p. 524-7.
60. Alyahya, *Risk factors of low vitamin D status in adolescent females in Kuwait: implications for high peak bone mass attainment*. Archives of Osteoporosis, 2014. **9**(1): p. 178.
61. Li, M., et al., *Establishment of a normal reference value of parathyroid hormone in a large healthy Chinese population and evaluation of its relation to bone turnover and bone mineral density*. Osteoporos Int, 2016.
62. Kauppi, M., et al., *Vitamin D status and common risk factors for bone fragility as determinants of quantitative ultrasound variables in a nationally representative population sample*. Bone, 2009. **45**(1): p. 119-24.
63. Zochling, J., et al., *Quantitative ultrasound of the calcaneus and falls risk in the institutionalized elderly: sex differences and relationship to vitamin D status*. Osteoporos Int, 2002. **13**(11): p. 882-7.
64. Nuzzo, V., et al., *Low 25-hydroxyvitamin D levels and low bone density assessed by quantitative ultrasonometry in a cohort of postmenopausal Italian nuns*. J Clin Densitom, 2013. **16**(3): p. 308-12.
65. Garnero, P., *Bone markers in osteoporosis*. Curr Osteoporos Rep, 2009. **7**(3): p. 84-90.
66. Ivaska, K.K., et al., *Serial assessment of serum bone metabolism markers identifies women with the highest rate of bone loss and osteoporosis risk*. J Clin Endocrinol Metab, 2008. **93**(7): p. 2622-32.
67. Bauer, D.C., et al., *Pretreatment levels of bone turnover and the antifracture efficacy of alendronate: the fracture intervention trial*. J Bone Miner Res, 2006. **21**(2): p. 292-9.

68. Bauer, D.C., et al., *Short-term changes in bone turnover markers and bone mineral density response to parathyroid hormone in postmenopausal women with osteoporosis*. J Clin Endocrinol Metab, 2006. **91**(4): p. 1370-5.
69. Delmas, P.D., et al., *Effect of monitoring bone turnover markers on persistence with risedronate treatment of postmenopausal osteoporosis*. J Clin Endocrinol Metab, 2007. **92**(4): p. 1296-304.
70. Khosla, S. and B.L. Riggs, *Pathophysiology of age-related bone loss and osteoporosis*. Endocrinol Metab Clin North Am, 2005. **34**(4): p. 1015-30, xi.
71. Council, E.E.F.I., ed. *Υγιή οστά για μια ζωή*. European Food Information Council. 2014.
72. Zhao, R., M. Zhao, and L. Zhang, *Efficiency of jumping exercise in improving bone mineral density among premenopausal women: a meta-analysis*. Sports Med, 2014. **44**(10): p. 1393-402.
73. Wallace, B.A. and R.G. Cumming, *Systematic review of randomized trials of the effect of exercise on bone mass in pre- and postmenopausal women*. Calcif Tissue Int, 2000. **67**(1): p. 10-8.
74. Babatunde, O.O. and J.J. Forsyth, *Quantitative Ultrasound and bone's response to exercise: a meta analysis*. Bone, 2013. **53**(1): p. 311-8.
75. Sherrington, C., et al., *Effective exercise for the prevention of falls: a systematic review and meta-analysis*. J Am Geriatr Soc, 2008. **56**(12): p. 2234-43.
76. Choi, M. and M. Hector, *Effectiveness of intervention programs in preventing falls: a systematic review of recent 10 years and meta-analysis*. J Am Med Dir Assoc, 2012. **13**(2): p. 188 e13-21.
77. Gillespie, L.D., et al., *Interventions for preventing falls in older people living in the community*. Cochrane Database Syst Rev, 2012. **9**: p. CD007146.
78. Willett, W.C. and G.A. Colditz, *Approaches for conducting large cohort studies*. Epidemiol Rev, 1998. **20**(1): p. 91-9.
79. Kobyliansky, E., et al., *Bone ageing: genetics versus environment*. Ann Hum Biol, 2000. **27**(5): p. 433-51.
80. Pludowski, P., et al., *Vitamin d status in central europe*. Int J Endocrinol, 2014. **2014**: p. 589587.
81. Spiro, A. and J.L. Buttriss, *Vitamin D: An overview of vitamin D status and intake in Europe*. Nutr Bull, 2014. **39**(4): p. 322-350.
82. Moran, J.M., et al., *Hormonal relationships to bone mass in elderly Spanish men as influenced by dietary calcium and vitamin D*. Nutrients, 2013. **5**(12): p. 4924-37.
83. Babaroutsi, E., et al., *Lifestyle factors affecting heel ultrasound in Greek females across different life stages*. Osteoporos Int, 2005. **16**(5): p. 552-61.
84. Dionyssiotis, Y., et al., *Association of physical exercise and calcium intake with bone mass measured by quantitative ultrasound*. BMC Womens Health, 2010. **10**: p. 12.
85. Bray, M.S., *Genomics, genes, and environmental interaction: the role of exercise*. J Appl Physiol (1985), 2000. **88**(2): p. 788-92.