

**ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ – ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ**

**Ο ΠΙΘΑΝΟΣ ΡΟΛΟΣ ΟΡΜΟΝΩΝ ΤΟΥ ΛΙΠΩΔΟΥΣ ΙΣΤΟΥ
(ΛΕΠΤΙΝΗΣ & ΑΝΤΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗΣ) ΣΤΗΝ ΟΣΤΕΟΠΕΝΙΑ
ΠΕΡΙΕΜΜΗΝΟΠΑΥΣΙΑΚΩΝ ΓΥΝΑΙΚΩΝ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**ΜΕΡΟΠΗ ΚΟΝΤΟΓΙΑΝΝΗ
ΚΛΙΝΙΚΗ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΟΣ**

ΑΘΗΝΑ 2004

«The important thing is not to stop questioning».

Albert Einstein

αντί προλόγου...

«Ένα ταξίδι χιλίων μιλίων ξεκινά με ένα και μόνο βήμα» (Κινέζικη παροιμία)

Ένα τέτοιο βήμα έκανα και εγώ κάποια στιγμή το 1999 για να ξεκινήσω το μεγάλο ταξίδι στον κόσμο της έρευνας. Σύντροφός μου από την πρώτη στιγμή, η Καθηγήτρια και επιβλέπουσα αυτής της διατριβής, κ. Φωτεινή Σκοπούλη, την οποία ευχαριστώ από καρδιάς για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, αλλά και για την καθοδήγηση, την ενθάρρυνση και τις συμβουλές που αδιάκοπα μου παρείχε όλα αυτά τα χρόνια. Εύχομαι η ολοκλήρωση αυτής της διατριβής να είναι απλά μία στάση στο ταξίδι μας και η συνέχεια να είναι το ίδιο επιτυχημένη και συναρπαστική.

Παράλληλα ευχαριστώ τους Αναπλ. Καθηγητές της συμβουλευτικής επιτροπής, κ. Ουρανία Δαφνή και κ. Αθανάσιο Τζιούφα για τη βοήθεια και τα εύστοχα σχόλιά τους, κατά την εκπόνηση και τη συγγραφή αυτής της διατριβής.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω επίσης στην οικογένειά μου, για την υπομονή και την υποστήριξή τους, στις ευχάριστες, αλλά και στις δύσκολες στιγμές αυτού του ταξιδιού. Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου σε όλους τους συναδέλφους και φίλους εντός και εκτός Πανεπιστημίου, που με τον δικό τους τρόπο συνέβαλλαν στην επίτευξη του στόχου μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	1
1.1. Εισαγωγή.....	2
1.2. Δομή και φυσιολογία των οστών.....	3
1.2.1. Σύνθεση του οστίτη ιστού – Μη κυτταρικά συστατικά.....	3
1.2.2. Σύνθεση του οστίτη ιστού – Κυτταρικά συστατικά.....	4
- Οστεοβλάστης.....	4
- Οστεοκλάστης	5
1.2.3. Οστική ανακατασκευή.....	6
1.3. Οστική μάζα στον κύκλο της ζωής.....	10
1.4. Παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση της οστεοπόρωσης στις γυναίκες.....	13
1.4.1. Έλλειψη οιστρογόνων.....	13
1.4.2. Διατροφικοί παράγοντες.....	14
1.4.3. Σωματική δραστηριότητα.....	16
1.4.4. Κάπνισμα.....	16
1.4.5. Σωματικό βάρος.....	17
1.4.6. Φαρμακευτικές ουσίες.....	17
1.5. Μέγεθος σώματος και οστική μάζα.....	19
1.5.1. Μηχανική επίδραση του βάρους στην οστική πυκνότητα.....	19
1.5.2. Ορμονική επίδραση της παχυσαρκίας στην οστική μάζα.....	21
1.5.2.1. Παραγωγή οιστρογόνων στο λιπώδη ιστό.....	21
1.5.2.2. Ορμόνες των β- παγκρεατικών κυττάρων.....	23
1.5.2.3. Ορμόνες του λιπώδους ιστού.....	24
1.6. Λεπτίνη και αντιπονεκτίνη – Τα έως τώρα επιστημονικά δεδομένα.....	25
1.6.1. Λεπτίνη.....	25
1.6.1.1. Ρύθμιση των επιπέδων λεπτίνης στον ορό.....	25
1.6.1.2. Δράση και κάθαρση της λεπτίνης.....	27
1.6.1.3. Λεπτίνη και οστό.....	31
1.6.2. Αντιπονεκτίνη.....	33
1.6.2.1. Ρύθμιση της έκφρασης και σύνθεσης της αντιπονεκτίνης.....	33
1.6.2.2. Δράσεις της αντιπονεκτίνης.....	36
1.6.2.3. Αντιπονεκτίνη και οστό.....	37

2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ:	38
2.1. Σκοπός	39
2.2. Περίληψη – Summary	40
2.3. Μεθοδολογία	43
2.3.1. Οστική πυκνομετρία	43
2.3.2. Σύσταση σώματος	44
2.3.3. Διαιτητική πρόσληψη ασβεστίου	47
2.3.4. Σωματική δραστηριότητα	48
2.3.5. Προσδιορισμός συγκεντρώσεων λεπτίνης και αντιπονεκτίνης	48
2.3.6. Άλλες πληροφορίες	50
2.3.7. Στατιστική ανάλυση	50
2.4. Αξιοποίηση της μεθόδου της βιοηλεκτρικής εμπέδησης για την εκτίμηση της σύστασης σώματος γυναικών μέσης ηλικίας – ανάπτυξη νέας εξίσωσης	51
2.4.1. Εισαγωγή	53
2.4.2. Υλικό και μέθοδοι	54
2.4.3. Αποτελέσματα	56
2.4.4. Συζήτηση	60
2.5. Οι συγκεντρώσεις λεπτίνης και αντιπονεκτίνης στο αίμα, ως πιθανοί διαμεσολαβητές στη σχέση ανάμεσα στον λιπώδη ιστό και την οστική πυκνότητα περιεμμηνοπαυσιακών γυναικών	63
2.5.1. Εισαγωγή	65
2.5.2. Υλικό και μέθοδοι	67
2.5.3. Αποτελέσματα	69
2.5.4. Συζήτηση	73
3. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	77
4. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	97
5. ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ	101
6. ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ	123

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

ΜΕΤΑΦΡΑΣΕΙΣ

ΔΜΣ:	Δείκτης μάζας σώματος	Αδρενοκορτικοτροπίνη
ACTH:	Adrenocorticotropin hormone	Ποσοστό σωματικού λίπους
BF%:	Body fat percentage	Οστεοκαλσίνη
BGB:	Bone gla- protein	Μέθοδος βιοηλεκτρικής εμπέδησης
BIA:	Bioelectrical impedance analysis	Οστική πυκνότητα
BMD:	Bone mineral density	Οστική μορφογενετική πρωτεΐνη
BMP:	Bone morphogenetic protein	Εκλυτική ορμόνη κορτικοτροπίνης
CRH:	Corticotropin releasing hormone	Δεϋδροεπιανδροστερόνη
DHEA:	Dehydroepiandrosterone	Απορροφησιομετρία φωτονίων διπλής ενέργειας
DPA:	Dual energy photon absorptiometry	Απορροφησιομετρία ακτίνων- X διπλής ενέργειας
DXA:	Dual energy X-ray absorptiometry	Οιστραδιόλη
E₂:	Estradiol	Ανοσοενζυμική μέθοδος
ELISA:	Enzyme – linked immunosorbent assay	Άλιπη μάζα σώματος
FFM:	Fat free mass	Ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων
FFQ:	Food Frequency Questionnaire	Αυξητικός παράγοντας των ινοβλαστών
FGF:	Fibroblast growth factor	Θηλακιοτρόπος ορμόνη
FSH:	Follicular stimulating hormone	Στην κοιλία του εγκεφάλου
ICV:	Intracerebroventricular	Αυξητικός παράγοντας ομοιάζων στην ινσουλίνη
IGF:	Insulin-like growth factor	Σφαιρίνη δεσμεύουσα τον IGF
IGFBG-1	Insulin-like growth factor binding globulin	Ιντερλευκίνη
IL:	Interleukine	Ωχρινότροπος ορμόνη
LH:	Luteinizing hormone	Λιποπρωτεϊνική λιπάση
LPL:	Lipoprotein lipase	Ισχνή μάζα σώματος
LTM:	Lean tissue mass	Παράγοντας ενεργοποίησης των αποικιών των μακροφάγων
M-CSF:	Macrophage colony-stimulating factor	Αναστολέας της ενεργοποίησης των αιμοπεταλίων
PAI-1:	Platelet activation inhibitor 1	Αυξητικός παράγοντας παραγόμενος από τα αιμοπετάλια
PGF:	Platelet- derived growth factor	Πυρηνικοί υποδοχείς
PPAR:	Peroxisome proliferator-activated receptor	Υποδοχέας για την ενεργοποίηση του kappa B πυρηνικού παράγοντα κB
RANK:	Receptor for activation of nuclear factor (NF-κB)	Συνδέτης του RANK
RANKL:	Receptor for activation of nuclear factor kappa B (NF-κB) ligand	Ραδιοανοσολογική μέθοδος
RIA:	Radioimmunoassay	Τυπικό σφάλμα εκτίμησης
SEE:	Standard error of estimate	Σφαιρίνη δεσμεύουσα τις ορμόνες του φύλου
SHBG:	Sex hormone binding globulin	Ολική περιεκτικότητα των οστών σε ανόργανα στοιχεία
TBBMC:	Total body bone mineral content	Ολικό νερό σώματος
TBW:	Total body water	Τροποποιητικός αυξητικός παράγοντας
TGF:	Transforming growth factor	Παράγοντας νέκρωσης των όγκων
TNF:	Tumor necrosis factor	Εκλυτική ορμόνη της θυρεοειδοτρόπου ορμόνης
TRH:	Thyreotropin releasing hormone	Θυρεοειδοτρόπος ορμόνη
TSH:	Thyroid stimulating hormone	Προσκολλητικά μόρια αγγειακών κυττάρων
VCAM-1:	Vascular cell adhesion molecules	Λόγος περιφέρειας μέσης/ ισχίων
WHR:	Waist to hip ratio	

1. ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1.1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η οστεοπόρωση είναι η πιο συχνή μεταβολική πάθηση των οστών. Χαρακτηρίζεται από παράλληλη ελάττωση των αλάτων και της θεμέλιας ουσίας του οστίτη ιστού, με αποτέλεσμα την ελάττωση της ποσότητάς του. Σύμφωνα με τον τελευταίο ορισμό (NIH Consensus Conference 2000), ως οστεοπόρωση ορίζεται η σκελετική διαταραχή που χαρακτηρίζεται από μειωμένη οστική αντοχή και που προδιαθέτει ένα άτομο σε κατάγματα. Στη διάρκεια της ζωής τους οι γυναίκες χάνουν περίπου το 50% του δοκιδωτού οστίτη ιστού και το 30% του φλοιώδους, ενώ μετά την εμμηνόπαυση το 30% των λευκών γυναικών τελικά υφίσταται οστεοπορωτικά κατάγματα. Στις πολύ μεγάλες ηλικίες το 1/3 των γυναικών και το 1/6 των ανδρών έχει υποστεί ένα κάταγμα ισχίου.

Περίπου το 30% όλων των μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών έχει κλινικά ευρήματα οστεοπόρωσης τύπου I (μετεμμηνοπαυσιακή οστεοπόρωση). Οι μελέτες δείχνουν ότι στην Ευρώπη πάσχουν από οστεοπόρωση 30 εκατομμύρια γυναίκες και 3 εκατομμύρια άνδρες, με αποτέλεσμα να συμβαίνουν τουλάχιστον 700.000 κατάγματα του άνω τμήματος του μηριαίου οστού ετησίως, με θνητότητα 20% μέσα στο πρώτο εξάμηνο μετά το κάταγμα (Kanis J 1999). Σύμφωνα με τις προβλέψεις της αρμόδιας Ευρωπαϊκής επιτροπής (Compston JE 1998) το 2050 θα συμβούν περίπου 972.000 κατάγματα ισχίου και 37,3 εκατομμύρια σπονδυλικά κατάγματα στην Ευρωπαϊκή Ένωση.

Στην Ελλάδα, σύμφωνα με δημοσιευμένα στοιχεία για την χρονική περίοδο 1977-2002, φαίνεται πως υπάρχει αύξηση στην επίπτωση των ισχιακών καταγμάτων, που οφείλονται στην οστεοπόρωση. Πιο συγκεκριμένα, ενώ το 1977 τα κατάγματα ισχίου ήταν περίπου 5.100, το 1987 σημειώθηκαν 9.250 τέτοιες περιπτώσεις, το 1992 10.953, για να καταλήξουν το έτος 2002 σε 13.611 (Paspatis I 1998, Πασπάτη I 2004). Κατά το 1992, περίπου το 50% των ατόμων που έπαθαν κάταγμα ισχίου ήταν 80 ετών και άνω, ενώ το 1977 μόνο το 22,49% των ατόμων ήταν αυτής της ηλικίας. Οι συγγραφείς σημειώνουν ότι η αύξηση των καταγμάτων δε δικαιολογείται μόνο από τη γήρανση του πληθυσμού, αλλά πιστεύουν πως υπάρχουν και άλλοι παράγοντες που συνέβαλλαν στην αύξηση αυτή, όπως η κακή διατροφή.

Το κοινωνικοοικονομικό κόστος της οστεοπόρωσης είναι τεράστιο. Περίπου το 30% των κλινών των ορθοπεδικών κλινικών καταλαμβάνεται μόνιμα από ηλικιωμένους με κάταγμα του άνω τμήματος του μηριαίου οστού και το κόστος της νοσηλείας τους υπερβαίνει τα 47 εκατομμύρια € το χρόνο. Παρ' όλη όμως τη φροντίδα για την αποκατάσταση των καταγματιών αυτών, η θνητότητα φθάνει μέχρι το 30%, ένα χρόνο μετά το κάταγμα (Lyritis G 1992)

Σύμφωνα με τις σημερινές απόψεις, η οστεοπόρωση δεν είναι μόνο μία ποσοτική διαταραχή του οστού αλλά και ποιοτική μεταβολή, που είναι δυνατόν να εκτιμηθεί με απευθείας μετρήσεις των εμβιομηχανικών ιδιοτήτων του οστού. Αυτός ο ορισμός δείχνει τη σημασία της υποκείμενης παθολογίας, αλλά δεν είναι ποσοτικός και συνεπώς δε βοηθά ιδιαίτερα το γιατρό που θέλει να παρέμβει στον ασθενή πριν την εκδήλωση καταγμάτων. Για την ανάπτυξη μιας πιο ποσοτικής οδηγίας, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO 1994) πρότεινε η οστεοπόρωση να ορίζεται με βάση τις μετρήσεις της οστικής μάζας. Έτσι, η διάγνωση της οστεοπόρωσης τίθεται σε κάθε άτομο που έχει οστική πυκνότητα, τουλάχιστο 2,5 τυπικές αποκλίσεις χαμηλότερη από το μέσο όρο της κορυφαίας οστικής μάζας νεαρών, φυσιολογικών ατόμων και ως χαμηλή οστική μάζα ή οστεοπενία ορίζεται τιμή οστικής πυκνότητας μεταξύ 1- 2,5 τυπικές αποκλίσεις κάτω από το μέσο όρο της κορυφαίας οστικής μάζας.

1.2. ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ

Τα οστά αποτελούνται από δύο είδη οστίτη ιστού, τον σπογγώδη ή δοκιδωτό και τον συμπαγή ή φλοιώδη οστίτη ιστό. Κάθε οστό περιέχει διαφορετικές αναλογίες σπογγώδους και συμπαγούς ιστού. Πιο συγκεκριμένα, ο συμπαγής οστίτης ιστός συναντάται στην περιφέρεια του σώματος των μακρών οστών και στο επιφανειακό στρώμα των βραχέων και πλατιών οστών. Το συμπαγές οστό χαρακτηρίζεται από την παρουσία συστημάτων του Havers ή οστεώνων. Ο σπογγώδης οστίτης ιστός καταλαμβάνει τα άκρα των μακρών οστών, ενώ στα πλατιά οστά βρίσκεται μεταξύ της έξω και της έσω επιφάνειάς τους και ονομάζεται διπλόη (Guyton AC 1990).

Το σπογγώδες οστό αποτελείται από ένα σύνολο οστέινων δοκίδων που δεν παρουσιάζουν την αρχιτεκτονική των οστεώνων. Οι δοκίδες αυτές διασταυρούμενες μεταξύ τους αφορίζουν κοιλότητες διαφόρου μεγέθους, γεμάτες μυελό των οστών (Bloom W 1975).

1.2.1. Σύνθεση του οστίτη ιστού – Μη κυτταρικά συστατικά

Το οστό αποτελείται από ένα σκληρό οργανικό υπόστρωμα, που ισχυροποιείται πολύ με την εναπόθεση αλάτων ασβεστίου. Το μέσο συμπαγές οστό περιέχει, κατά βάρος, περίπου 30% υπόστρωμα και 70% άλατα ασβεστίου. Το νεοσχηματισμένο οστό, όμως, μπορεί να έχει πολύ μεγαλύτερη αναλογία οργανικού υποστρώματος.

Το οργανικό υπόστρωμα αποτελείται κατά 95%, περίπου, από ίνες κολλαγόνου και κατά το υπόλοιπο 5% από μια ομοιογενή ουσία που ονομάζεται θεμέλια ουσία. Οι ίνες

κολλαγόνου εκτείνονται προς όλες τις κατευθύνσεις μέσα στο οστό, αλλά κυρίως κατά μήκος των δυναμικών γραμμών τάσης. Οι ίνες αυτές δίνουν στο οστό τη μεγάλη δύναμη τάσης που το χαρακτηρίζει. Η θεμέλια ουσία αποτελείται από εξωκυττάριο υγρό και από πρωτεογλυκάνες (Guyton AC 1990).

Τα κρυσταλλικά άλατα που καθιζάνουν στο οργανικό υπόστρωμα του οστού αποτελούνται κυρίως από ασβέστιο και από φωσφόρο. Τα κυριότερα κρυσταλλικά άλατα είναι γνωστά με την ονομασία υδροξυαπατίτες. Ο λόγος του ασβεστίου προς το φωσφόρο των κρυστάλλων αυτών μπορεί να κυμαίνεται σημαντικά ανάλογα με το είδος της προσλαμβανόμενης τροφής. Κατά βάρος, ο λόγος Ca/P κυμαίνεται μεταξύ 1,3 και 2,0. Στα οστικά άλατα περιλαμβάνονται επίσης άλατα μαγνησίου, νατρίου, καλίου και ανθρακικά, τα οποία όμως δε φαίνεται να σχηματίζουν σαφείς κρυστάλλους, ενώ πιστεύεται ότι μάλλον προσροφώνται στις επιφάνειες των κρυστάλλων του υδροξυαπατίτη (Guyton AC 1990).

1.2.2. Σύνθεση του οστίτη ιστού – Κυτταρικά συστατικά

Υπάρχουν δύο είδη κυττάρων που απαρτίζουν τον οστίτη ιστό, οι οστεοβλάστες, που είναι τα οστεοπαραγωγικά κύτταρα, υπεύθυνα για το σχηματισμό του οστού και οι οστεοκλάστες, που συμμετέχουν στην απορρόφησή του, απορροφώντας τόσο το οστό, όσο και το αποτιτανωμένο κολλαγόνο. Οι λειτουργίες των δύο αυτών τύπων κυττάρων είναι στενά συνδεδεμένες. Κατά την περίοδο ανάπτυξης του σκελετού, αλλά και στη μετέπειτα ζωή, κύτταρα από την οστεοβλαστική σειρά συνθέτουν και παράγουν μόρια, που με τη σειρά τους επάγουν και ελέγχουν τη διαφοροποίηση των οστεοκλαστών.

Οστεοβλάστης

Οι οστεοβλάστες είναι αρχέγονα μεσεγχυματικά κύτταρα του οστού και του μυελού του, που προσομοιάζουν με ινοβλάστες. Αυτά τα πρόδρομα κύτταρα διεγείρονται με τη δράση των κυτταροκινών, πολλαπλασιάζονται και διαφοροποιούνται σε προοστεοβλάστες και τελικά σε ώριμους οστεοβλάστες (Ducy P, 2000). Οι ώριμοι οστεοβλάστες ποτέ δεν εμφανίζονται ή λειτουργούν μεμονωμένα, αλλά πάντα σε συναθροίσεις και οι βασικές τους λειτουργίες είναι η παραγωγή, εναπόθεση και επιμετάλλωση του κολλαγόνου και των μη κολλαγονικών πρωτεϊνών (Ruzas JE, 1996). Στις τελευταίες περιλαμβάνονται οι πρωτεΐνες που διευκολύνουν την προσκόλληση των οστεοβλαστών στη θεμέλια ουσία των οστών, οι πρωτεογλυκάνες I και II, οι γ-καρβοξυλιωμένες πρωτεΐνες (γ-gla πρωτεΐνες), η πλέον γνωστή από τις οποίες είναι η οστεοκαλσίνη (BGP) και τέλος η οστεονεκτίνη.

Ο έλεγχος της οστεοβλαστικής λειτουργίας γίνεται σε τρία επίπεδα: ενδοκρινικά, παρακρινικά και αυτοκρινικά (Πίνακας- 1.1). Ο παρακρινικός έλεγχος της οστεοβλαστικής δραστηριότητας συντελείται όταν κύτταρα παρακείμενα των οστεοβλαστών, παράγουν και απελευθερώνουν τοπικά δρώντες παράγοντες που επηρεάζουν το σχηματισμό των οστών, ενώ ο αυτοκρινικός έλεγχος πραγματοποιείται από παράγοντες που εκκρίνονται από τους ίδιους τους οστεοβλάστες (Puzas JE 1996). Η δράση των ενδοκρινικών ορμονών θα περιγραφεί αναλυτικότερα στο κομμάτι της οστικής ανακατασκευής.

Πίνακας 1.1. Ενδοκρινικοί, παρακρινικοί και αυτοκρινικοί παράγοντες που επηρεάζουν την οστεοβλαστική λειτουργία (Puzas JE 1996).

Ενδοκρινείς παράγοντες	Παρακρινικοί παράγοντες	Αυτοκρινικοί παράγοντες
Παραθορμόνη (PTH)	Πρωτεΐνες σχετιζόμενες με την PTH	
Βιταμίνη D	Τροποποιητικοί αυξητικοί παράγοντες (TGF - β 1, - β 2 και - β 3)	TGF- β 1, - β 2 και - β 3
Γλυκοκορτικοειδή	Αυξητικοί παράγοντες των ινοβλαστών (FGF- 1, 2)	FGF- 1, 2
Καλσιτονίνη	Αυξητικοί παράγοντες ομοιάζοντες στην ινσουλίνη (IGFs)	IGFs
Στεροειδή των γονάδων	Αυξητικοί παράγοντες παραγόμενοι από τα αιμοπετάλια (PGFs)	PGFs
Ινσουλίνη	Οστικές Μορφογενετικές πρωτεΐνες (BMPs) 2-7 Ιντερλευκίνη 6	BMPs 2-7

Οι οστεοβλάστες παράγοντας αποτιτανωμένο κολλαγόνο εγκλωβίζονται τελικά μέσα σε μία κυψελίδα της θεμέλιας ουσίας και μεταπίπτουν σε οστεοκύτταρα. Έχει δειχθεί ότι τα οστεοκύτταρα μπορούν και συνθέτουν θεμέλια ουσία, η οποία προοδευτικά μεταλλάσσεται, συμμετέχοντας έτσι ενεργά στην οστική ανακατασκευή (Λυρίτης ΓΠ, 1996).

Οστεοκλάστης

Οι οστεοκλάστες είναι πολυπύρρηνα κύτταρα προερχόμενα από μονοπύρρηνα της οικογένειας των μονοκύτταρων/ μακροφάγων (Mundy GR 1996). Για την ωρίμανση των μακροφάγων σε οστεοκλάστες είναι απαραίτητη η παρουσία δύο παραγόντων, του παράγοντα ενεργοποίησης των αποικιών των μακροφάγων (M-CSF) και του συνδέτη (RANKL) του υποδοχέα για την ενεργοποίηση του πυρηνικού παράγοντα κB (RANK) (Teitelbaum SL, 2000). Ο RANKL εκφράζεται σε αφθονία και από τα ενεργοποιημένα Τ-λεμφοκύτταρα, τα οποία μπορούν και διεγείρουν την οστεοκλαστογένεση (Kong YY, 1999). Το 1997 βρέθηκε η ύπαρξη μίας πρωτεΐνης, της οστεοπρωτεγερίνης (osteoprotegerin), η

οποία αναστέλλει την οστεοκλαστογένεση, δρώντας συναγωνιστικά με τον RANKL για τον RANK (Simonet WS, 1997). Συνεπώς η ισορροπία ανάμεσα στην έκφραση του RANKL, που διεγείρει την οστεοκλαστογένεση και της οστεοπρωτεγερίνης που την αναστέλλει, καθορίζει το ποσό του οστού που απορροφάται.

Η σημασία του RANKL στη διαφοροποίηση των οστεοκλαστών δίνει έμφαση στον κεντρικό ρόλο που κατέχουν τα στρωματικά κύτταρα και οι οστεοβλάστες, σε αυτήν τη διαδικασία. Στην πραγματικότητα, τα στρωματικά κύτταρα και οι οστεοβλάστες αποτελούν τους στόχους των περισσότερων οστεοκλαστικών παραγόντων, οι οποίοι ουσιαστικά ενισχύουν την έκφραση του RANKL και συνεπώς αυξάνουν τη ποσότητα αυτού του μορίου σε σχέση με την οστεοπρωτεγερίνη. Στους οστεοκλαστικούς αυτούς παράγοντες ανήκει η παραθορμόνη (Lee SK, 1999), η 1,25-διυδροξυβιταμίνη D₃ (Kitazawa S, 2003) και ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων (TNF) (Hofbauer LC, 1999). Ο τελευταίος έχει βρεθεί ότι διεγείρει και την παραγωγή M-CSF από τα οστεοβλαστικά κύτταρα, προάγοντας έτσι τη δημιουργία οστεοκλαστών από τα μακροφάγα. Η ιντερλευκίνη-1, όπως και ο TNF διεγείρει την έκφραση του M-CSF από τα στρωματικά κύτταρα του μυελού, επίδραση η οποία αναστέλλεται από τα οιστρογόνα (Teitelbaum SL, 2000).

Κύριος ρόλος των οστεοκλαστών είναι η απορρόφηση οστού, μέσω της παραγωγής προτεολυτικών ενζύμων και ιόντων υδρογόνου.

1.2.3. Οστική ανακατασκευή (bone remodelling)

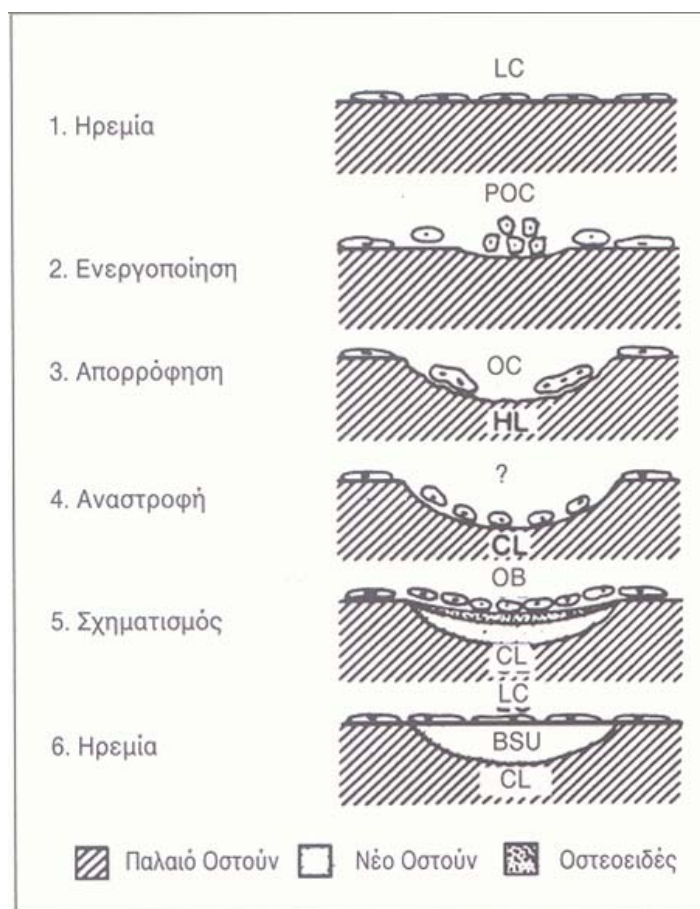
Οστική ανακατασκευή (bone remodelling) είναι η διαδικασία ανανέωσης των μικρομονάδων των οστών, με διαδοχική ενεργοποίηση και λειτουργία των οστεοκλαστών και των οστεοβλαστών. Σκοπός της διαδικασίας αυτής είναι η επιδιόρθωση των μικροφθορών των μικρομονάδων αυτών, καθώς επίσης και η σταθερότητα (ομοιοστασία) στις τιμές του ιονισμένου ασβεστίου του εξωκυττάριου χώρου.

Οι φάσεις που διενεργείται η οστική ανακατασκευή είναι πέντε (Λυρίτης ΓΠ, 1996; Baron RE, 1996):

Η φάση ηρεμίας (quiescent phase) (Σχ. 1.1.1), η φάση ενεργοποίησης (activation phase) (Σχ. 1.1.2), κατά την οποία οι προ-οστεοκλάστες μεταπίπτουν σε οστεοκλάστες, η φάση οστικής απορρόφησης (resorption phase)(Σχ. 1.1.3), κατά τη διάρκεια της οποίας οι επιστρατευμένοι στην ελεύθερη επιφάνεια οστεοκλάστες απορροφούν προοδευτικά την αποπιτανωμένη θεμέλια ουσία, η φάση της κυτταρικής αναστροφής (reversal phase)(Σχ. 1.1.4), οπότε και οι οστεοκλάστες αποκολλώνται και απομακρύνονται και στη θέση τους εμφανίζονται οι οστεοβλάστες και τέλος η φάση της οστικής παραγωγής (formation

phase)(Σχ. 1.1.5), οπότε οι οστεοβλάστες που έχουν συσσωρευθεί στον πυθμένα του βοθρίου, τον οποίο προηγουμένως σχημάτισαν οι οστεοκλάστες, εναποθέτουν προοδευτικά οστό.

Είναι γεγονός ότι η οστική ανακατασκευή λειτουργεί με απόλυτη συνεργασία και ισορροπία των δύο βασικών κυτταρικών σειρών των οστών, δηλαδή του οστεοκλάστη και του οστεοβλάστη. Η συνεργασία αυτή ονομάζεται φαινόμενο σύζευξης (coupling phenomenon) και αποτελεί τον ακρογωνιαίο λίθο της σωστής οστικής ανακατασκευής. Το αντίθετο, δηλαδή η διατάραξη της συνεργασίας οστεοβλάστη - οστεοκλάστη υπέρ του ενός κυττάρου ονομάζεται φαινόμενο αποσύζευξης (uncoupling phenomenon) και είναι η κύρια αιτία πρόκλησης μεταβολικών νοσημάτων των οστών, κυρίως της οστεοπόρωσης. Η σύζευξη οστεοβλάστη - οστεοκλάστη είναι, υπό φυσιολογικές συνθήκες, ένα φαινόμενο χρονικά περιορισμένο. Κατά την παιδική ηλικία και μέχρι την επίτευξη της κορυφαίας οστικής μάζας υπάρχει, φυσιολογικά, μία υπεροχή των οστεοβλαστών έναντι των οστεοκλαστών, ενώ αντίθετα μετά το 40ο έτος της ηλικίας και περισσότερο στις γυναίκες μετά την εμμηνόπαυση, υπάρχει υπεροχή των οστεοκλαστών έναντι των οστεοβλαστών.



Σχήμα- 1.1. Φάσεις οστικής ανακατασκευής. (LC: επενδυματικά κύτταρα, POC: προοστεοκλάστες, OC: οστεοκλάστες, CL: αδιαπέραστη συμπύκνωση θεμέλιας ουσίας- cement line, OB: οστεοβλάστες).

Οι παράγοντες που ρυθμίζουν το σύνθετο φαινόμενο της οστικής ανακατασκευής συνοψίζονται στον Πίνακα- 1.2 και διακρίνονται σε ορμονικούς και τοπικούς (Canalis E, 1996).

Η *παραθορμόνη* είναι ένα πολυπεπτίδιο που παράγεται από τους παραθυρεοειδείς αδένες και κατέχει σημαντικό ρόλο στην ομοιοστασία του ασβεστίου και του φωσφόρου. Όταν η συγκέντρωση ασβεστίου στον ορό μειώνεται, παρατηρείται άμεση έκκρισή της, η οποία δρα ταχέως στους νεφρούς, ώστε να αυξηθεί η επαναρρόφηση ασβεστίου από το άπω εσπειραμένο σωληνάριο και από το παχύ ανιόν σκέλος της αγκύλης του Henle. Η παραθορμόνη διεγείρει παράλληλα την παραγωγή της 1,25- διυδροξυβιταμίνης D, καθώς και την απελευθέρωση ασβεστίου από τα οστά. Η δράση της παραθορμόνης στα οστά είναι σύνθετη και πραγματοποιείται σε δύο φάσεις. Η πρώτη φάση συνίσταται στην ταχεία κινητοποίηση του ασβεστίου και του φωσφόρου από το τμήμα του οστού που βρίσκεται σε άμεση επαφή με το εξωκυττάριο υγρό. Η δεύτερη φάση συνίσταται στην κινητοποίηση του ασβεστίου μέσω της διάλυσης της θεμέλιας ουσίας του οστού και της τροποποίησης της οστικής ανακατασκευής. Κατά την αρχική φάση η παραθορμόνη διεγείρει έμμεσα τους οστεοκλάστες και επομένως την επαναρρόφηση οστού. Επακόλουθα, όμως προάγεται και ο σχηματισμός νέου οστού λόγω του φαινομένου της σύζευξης, αλλά και λόγω της διέγερσης που προκαλεί η παραθορμόνη στη σύνθεση κολλαγόνου και οργανικού υποστρώματος του οστού και στη μιτογονική δράση που έχει βρεθεί ότι ασκεί στα οστά.

Πίνακας- 1.2. Παράγοντες που ρυθμίζουν την οστική ανακατασκευή (Canalis E, 1996).

Ορμονικοί	Τοπικοί
Παραθορμόνη	Αυξητικός παράγοντας ομοιάζων στην ινσουλίνη
1,25- Διυδροξυβιταμίνη D ₃	Τροποποιητικοί αυξητικοί παράγοντες β
Καλσιτονίνη	Αυξητικοί παράγοντες των ινοβλαστών
Αυξητική ορμόνη	Αυξητικοί παράγοντες παραγόμενοι από τα αιμοπετάλια
Ινσουλίνη	Ιντερλευκίνες 1,4,6,11
Γλυκοκορτικοειδή	Παράγοντας νέκρωσης των όγκων
Γεννητικές ορμόνες	Παράγοντες ενεργοποίησης των αποικιών των μακροφάγων και των κοκκιοκυττάρων
Θυρεοειδικές ορμόνες	

Η *βιταμίνη D* είναι η γενική ονομασία για την εργοκαλσιφερόλη (βιτ. D₂), η οποία προέρχεται από φυτικές κυρίως πηγές και την χοληκαλσιφερόλη (βιτ. D₃), που δημιουργείται με τη δράση της υπεριώδους ακτινοβολίας στο δέρμα του ανθρώπου και των ζώων. Και οι δύο μορφές μεταφέρονται μέσω της συστηματικής κυκλοφορίας στο ήπαρ, όπου και μετατρέπονται σε 25 – υδροξυβιταμίνη D και στη συνέχεια στα νεφρά, όπου μεταβολίζονται περαιτέρω σε 1,25- διυδροξυβιταμίνη D, η οποία είναι και η ενεργός μορφή της βιταμίνης. Τα κύρια όργανα στόχοι της 1,25- διυδροξυβιταμίνης D είναι το έντερο και τα οστά. Το μεγαλύτερο μέρος του διαιτητικού ασβεστίου απορροφάται από τις μικρολάχνες του λεπτού εντέρου μέσω ενός μηχανισμού ενεργητικής μεταφοράς, που επάγεται από την 1,25- διυδροξυβιταμίνη D. Στα οστά η 1,25- διυδροξυβιταμίνη D ενεργοποιεί τη συνθετική λειτουργία των οστεοβλαστών και είναι απαραίτητη για τη φυσιολογική οστεοποίηση του οστεοειδούς.

Η *καλσιτονίνη* παράγεται από τα κύτταρα C του θυρεοειδούς και η κύρια δράση της είναι η μείωση της συγκέντρωσης ασβεστίου στον ορό. Η καλσιτονίνη αναστέλλει την επαναρρόφηση οστού από τους οστεοκλάστες, ενώ προκαλεί και άμεση καταστολή της απελευθέρωσης ασβεστίου και φωσφόρου από τα οστά.

Η *αυξητική ορμόνη* παράγεται από τη υπόφυση και δεν παρουσιάζει άμεση επίδραση στην οστική απορρόφηση, αλλά μέτρια διεγερτική δράση στον οστικό σχηματισμό. Η αυξητική ορμόνη διεγείρει την παραγωγή του αυξητικού παράγοντα IGF-I από τα οστικά κύτταρα και μέσω αυτού του τοπικού παράγοντα ρυθμίζει πιθανώς τον οστικό σχηματισμό, είναι απαραίτητη για την επίτευξη και διατήρηση μίας φυσιολογικής οστικής μάζας και προκαλεί αύξηση της απορρόφησης ασβεστίου από τη γαστρεντερική οδό, αυξάνοντας την παραγωγή 1,25- διυδροξυβιταμίνης D.

Τα *γλυκοκορτικοειδή* είναι στεροειδείς ορμόνες που βασικά διεγείρουν την οστική απορρόφηση, πιθανόν λόγω μείωσης της απορρόφησης ασβεστίου και επακόλουθης αύξησης της έκκρισης παραθορμόνης. Επίσης, αυξάνουν την απέκκριση ασβεστίου από τα ούρα, αναστέλλουν τη δράση της βιταμίνης D, περιορίζουν τη σύνθεση και αυξάνουν την αποδόμηση του κολλαγόνου. Επιπρόσθετα τα γλυκοκορτικοειδή έχουν και έμμεση δράση στον οστικό σχηματισμό, μεταβάλλοντας κυρίως τη σύνθεση και τη δραστηριότητα οστικών αυξητικών παραγόντων. Αν και τα γλυκοκορτικοειδή επάγουν τη διαφοροποίηση των κυττάρων στην οστεοβλαστική σειρά η μακροχρόνια επίδρασή τους στην οστική ανακατασκευή είναι η αναστολή της οστικής απορρόφησης και του οστικού σχηματισμού.

Οι *θυρεοειδικές ορμόνες* είναι απαραίτητες για τη φυσιολογική ανάπτυξη και δρουν κυρίως στο σχηματισμό του χόνδρου, πιθανόν σε συνεργασία με τον IGF-I. Αντίθετα, δε διεγείρουν τη σύνθεση οργανικού υποστρώματος ή τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, αλλά

διεγείρουν την οστική απορρόφηση. Όσον αφορά τη δράση των γεννητικών ορμονών και της ινσουλίνης στην οστική ανακατασκευή, περιγράφονται αναλυτικά στα Κεφ. 1.4.1 και 1.5.2.2, αντίστοιχα.

1.3. ΟΣΤΙΚΗ ΜΑΖΑ ΣΤΟΝ ΚΥΚΛΟ ΤΗΣ ΖΩΗΣ

Η κορυφαία οστική μάζα (peak bone mass) είναι η μέγιστη επιτυγχανόμενη οστική μάζα κατά τη διάρκεια της ζωής. Σε οποιαδήποτε ηλικία, η ποσότητα και η ποιότητα του σκελετού ενός ανθρώπου αντανakλά οτιδήποτε συνέβη στην ενδομήτρια ζωή, στην περίοδο της ανάπτυξης, οπότε και επιτυγχάνεται η κορυφαία οστική μάζα και στην ενηλικίωση και γήρανση, οπότε υπερέχει η οστική απώλεια.

Κατά τη διάρκεια της εφηβείας η οστική μάζα στην σπονδυλική στήλη διπλασιάζεται και αυτή η αύξηση συμβαίνει 2 χρόνια νωρίτερα στα κορίτσια από ότι στα αγόρια. Εντούτοις, τα αγόρια αποκτούν μεγαλύτερη οστική μάζα και αυτή η διαφορά φαίνεται ότι προκύπτει από τη μεγαλύτερη περίοδο αύξησης της οστικής μάζας που οδηγεί σε μεγαλύτερα σε μέγεθος και παχύτερα σε φλοιό οστά στα αγόρια (Seeman E 1997).

Το επίπεδο της κορυφαίας οστικής μάζας καθορίζεται κυρίως από γενετικούς παράγοντες, των οποίων η συνεισφορά υπολογίζεται περίπου στο 70% (Stewart TL, 2000) και από περιβαλλοντικούς, οι οποίοι παρουσιάζονται περιληπτικά στον Πίνακα – 1.3. Τα τελευταία χρόνια έχουν μελετηθεί πολλά γονίδια όσον αφορά τη σχέση των πολυμορφισμών τους με την οστική μάζα. Μελέτες παρατήρησης, αλλά και ασθενών-μαρτύρων έχουν αναγνωρίσει αρκετά υποψήφια γονίδια, τα οποία συσχετίζονται με την οστική πυκνότητα ή τα οστεοπορωτικά κατάγματα. Εντούτοις, οι επιδράσεις αυτών των πολυμορφισμών δεν είναι πλήρως κατανοητοί. Τα γονίδια που έχουν περισσότερο μελετηθεί είναι του υποδοχέα της βιταμίνης D, του οιστρογονικού υποδοχέα α, του τύπου I κολλαγόνου, του TGFβ-1, της παραθορμόνης, του υποδοχέα της καλσιτονίνης, της ιντερλευκίνης 6 και του TNFα. Όσον αφορά στη λεπτίνη υπάρχει μία μελέτη που έδειξε ότι ο πολυμορφισμός Gln223Arg του υποδοχέα της, σχετίζεται με την οστική πυκνότητα και επηρεάζει την κορυφαία οστική μάζα στη σπονδυλική στήλη νεαρών ανδρών, καθώς και ότι η συσχέτιση αυτή επηρεάζεται από τους γονότυπους των οιστρογονικών υποδοχέων (Koh JM 2002). Οι μηχανισμοί με τους οποίους οι μεταλλάξεις των διαφόρων γονιδίων μπορούν να επηρεάσουν την οστική μάζα παραμένουν ασαφείς και χρειάζεται ακόμη πολλή έρευνα για τη διεξαγωγή συμπερασμάτων, αλλά και για την ανάπτυξη γενετικών δεικτών εκτίμησης του κινδύνου καταγμάτων και για την αναγνώριση νέων μορίων που μπορούν να αποτελέσουν στόχους για το σχεδιασμό νέων φαρμάκων.

Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες αποκτούν ιδιαίτερη σημασία κατά την περίοδο ανάπτυξης του σκελετού και είναι δεδομένο ότι απουσία σωματικής δραστηριότητας ή/ και ανεπαρκής διατροφή κατά την περίοδο αυτή θα εμποδίσει τον οργανισμό να αποκτήσει την γενετικώς προκαθορισμένη κορυφαία οστική μάζα (Rizzoli R, 1999).

Οι άνδρες έχουν, φυσιολογικά, μεγαλύτερη οστική μάζα απ' ότι οι γυναίκες, ενώ ενήλικες της μαύρης φυλής έχουν μεγαλύτερη οστική μάζα από τους λευκούς, γεγονός που αποδίδεται στο μειωμένο ρυθμό οστικής ανακατασκευής των πρώτων (Andreoli TE 2000).

Σε πολλές μελέτες έχει αναδειχθεί η ύπαρξη θετικής συσχέτισης ανάμεσα στα επίπεδα οιστραδιόλης (Murakami T, 1979) και οιστρονής (Cauley JA, 1986) του ορού και στην οστική πυκνότητα μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών, καθώς και αρνητική σχέση ανάμεσα στη δεσμευτική πρωτεΐνη των γεννητικών ορμονών (SHBG) και στην οστική πυκνότητα σπονδύλων μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών (Wild RA, 1987). Παράλληλα, αμηνorroϊκές νεαρές γυναίκες με ανεπάρκεια οιστρογόνων λόγω εντατικής άθλησης, υπογοναδισμού, υπερπρολακτιναιμίας ή ψυχογενούς ανορεξίας παρουσιάζουν μειωμένη οστική πυκνότητα (Rigotti NA, 1991). Μελέτες στις παραπάνω ομάδες γυναικών έχουν δείξει ότι η οστική πυκνότητα μειώνεται όταν η αμηνόρροια επιμένει, ενώ αυξάνεται όταν αυτή αποκαθίσταται. Στους άντρες, όσον αφορά τα οστά, η τεστοστερόνη παίζει τον ίδιο ρόλο που παίζουν τα οιστρογόνα στις γυναίκες, με αποτέλεσμα άντρες με υπογοναδισμό να παρουσιάζουν ταχεία απώλεια οστικής μάζας.

Πίνακας- 1.3. Παράγοντες που επηρεάζουν οστική μάζα.

<i>Παράγοντες που καθορίζουν την κορυφαία οστική μάζα.</i>	<i>Παράγοντες που επηρεάζουν την οστική απώλεια και την εμφάνιση οστεοπόρωσης.</i>
Γενετικοί παράγοντες	Γενετικοί παράγοντες
Φύλο	Ηλικία
Φυλή	Ηλικία εμμηνόπαυσης
Στεροειδή των γονάδων	Συνολικά χρόνια εμμηνόπαυσης
Χρόνος έναρξης της ήβης	Φάρμακα
Αυξητική ορμόνη	Σωματικό βάρος
Διατροφικοί παράγοντες	Διατροφικοί παράγοντες
Άσκηση	Άσκηση
Κάπνισμα	Κάπνισμα

Η επαρκής πρόσληψη ασβεστίου, μαγνησίου, ιχνοστοιχείων και βιταμινών επηρεάζει την κορυφαία οστική μάζα, καθώς επίσης και άλλοι διατροφικοί παράγοντες που εμπλέκονται κυρίως, στην απορρόφηση του προσλαμβανόμενου ασβεστίου, όπως ο

φωσφόρος, η βιταμίνη D, η πρωτεϊνική πρόσληψη, το φυτικό και οξαλικό οξύ, το νάτριο και η καφεΐνη (Ilich JZ, 2000; Eastell R, 2002).

Η άσκηση και ιδιαίτερα αυτή που σχετίζεται με βάρη, φαίνεται ότι βοηθά στον καθορισμό της κορυφαίας οστικής μάζας. Αυτό έχουν επιβεβαιώσει τα αποτελέσματα ερευνών, που έχουν γίνει σε παιδιά και εφήβους, δείχνοντας ότι τα παιδιά που είχαν δραστηριότητες σχετικές με βάρη, παρουσίαζαν υψηλότερη οστική πυκνότητα και εναπόθεταν περισσότερο οστό απ' ό,τι τα λιγότερο δραστήρια παιδιά (Slemenda CW, 1991; Slemenda CW, 1994).

Τέλος, το κάπνισμα, ιδιαίτερα κατά την εφηβεία, επηρεάζει σημαντικά την οστική μάζα (Välimäki MJ, 1994). Οι αρνητικές επιδράσεις του καπνίσματος φαίνεται ότι είναι τόσο άμεσες, στους σκελετικούς ιστούς, όσο και έμμεσες δρώντας μέσω καταστολής της λήψης τροφής. Η συνέχιση του καπνίσματος και στην ενήλικη ζωή επηρεάζει αρνητικά την οστική πυκνότητα, με τις γυναίκες που καπνίζουν να παρουσιάζουν μεγαλύτερη μείωση στην οστική τους πυκνότητα, από τις μη καπνίστριες (Heaney RP, 2000).

Μετά την επίτευξη της κορυφαίας τιμής της, η οστική μάζα παραμένει σταθερή για χρόνια και μετά ελαττώνεται σε όλη τη διάρκεια της ζωής. Σημαντικές ενδείξεις υποδηλώνουν ότι η απώλεια αρχίζει πριν από την εμμηνόπαυση στις γυναίκες και κατά την 3^η –5^η δεκαετία στους άνδρες. Όταν εγκατασταθεί η εμμηνόπαυση, ο ρυθμός της απώλειας οστού επιταχύνεται. Στη διάρκεια των πρώτων 5-10 ετών της εμμηνόπαυσης, η απώλεια σπογγώδους οστού είναι πιο γρήγορη από την απώλεια φλοιώδους. Στο διάστημα αυτό η γυναίκα μπορεί να χάσει το 10-15 % του φλοιώδους και το 25-30 % του σπογγώδους οστίτη ιστού της, μια απώλεια που μπορεί να προληφθεί με θεραπεία αναπλήρωσης οιστρογόνων. Επιπλέον, οι ταχύτητες της οστικής απώλειας ποικίλλουν σημαντικά μεταξύ των γυναικών. Η «μετεμμηνοπαυσιακή» οστεοπόρωση ή τύπου I αφορά στις γυναίκες που παρουσιάζουν οστεοπενία βαρύτερη από την αναμενόμενη για την ηλικία τους, και πολλές φορές εκδηλώνεται με συντριπτικά κατάγματα των σπονδύλων (Andreoli TE 2000).

Μετά την παρέλευση της γρήγορης μετεμμηνοπαυσιακής απώλειας, η απώλεια του οστού συνεχίζεται σταδιακά με βραδύτερο ρυθμό για όλη τη διάρκεια της ζωής. Αυτός ο τύπος της οστεοπενίας που παρατηρείται και στα δύο φύλα, έχει ονομασθεί τύπου II ή «γεροντική» οστεοπόρωση. Επειδή στην οστεοπόρωση τύπου II οι απώλειες συμπαγούς και σπογγώδους οστού είναι περισσότερο ισορροπημένες, τα συχνά παρατηρούμενα κατάγματα αφορούν το ισχίο, την πύελο, τα ανώτερα τμήματα του βραχιόνιου οστού και της κνήμης και τα σπονδυλικά σώματα. Οι παράγοντες που είναι δυνατό να παίξουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεια της οστεοπόρωσης τύπου II είναι (α) η πρωτοπαθής ελάττωση της ικανότητας του νεφρού να συνθέτει βιταμίνη D ή/ και η ελάττωση της εντερικής

ευαισθησίας στην 1,25- διυδροξυβιταμίνη D₃, που έχουν ως αποτέλεσμα την ελάττωση της απορρόφησης ασβεστίου και την ανάπτυξη ελαφρού δευτεροπαθούς υπερπαραθυρεοειδισμού, και (β) δυστροφικοί κυτταρικοί παράγοντες που οδηγούν στην εκφύλιση ή νέκρωση των οστεοκυττάρων (Dustan CR, 1990). Οι εκφυλιστικοί αυτοί κυτταρικοί παράγοντες αποδυναμώνουν περισσότερο τη μηχανική αντοχή του οστού και οδηγούν σε κατάγματα.

1.4. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΤΗΣ ΟΣΤΕΟΠΩΡΩΣΗΣ ΣΤΙΣ ΓΥΝΑΙΚΕΣ

Οι παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση πρωτοπαθούς οστεοπόρωσης είναι πολλοί και συνοψίζονται στον Πίνακα- 1.3 (Kanis JA 2002, Nordin M 1995).

1.4.1. Έλλειψη οιστρογόνων

Στη μετεμμηνοπαυσιακή οστεοπόρωση η αυξημένη οστική απώλεια έχει αποδοθεί κυρίως στην έλλειψη των οιστρογόνων, τα οποία επηρεάζουν το μεταβολισμό των οστών με πολλούς τρόπους. Δεδομένα πειραματικών ερευνών επιβεβαιώνουν την ύπαρξη οιστρογονικών υποδοχέων σε πληθυσμούς οστεοβλαστικών (Eriksen EF 1988, Komm BS 1988) και οστεοκλαστικών κυττάρων (Oursler MJ 1991). Επιπρόσθετα, η επίδραση των οιστρογόνων στην αύξηση της ανάπτυξης των οστικών κυττάρων και στην έκφραση αναβολικών φαινοτυπικών χαρακτηριστικών, παράλληλα με την αναχαίτιση απαντήσεων σε παράγοντες που διεγείρουν την απορρόφηση του οστού, έχει αποδειχτεί από μελέτες σε καλλιέργειες οστεοβλαστικών κυττάρων (Ernst M 1989, Fukayama S 1989, Majeska RJ 1994), αλλά και από ιστομορφομετρικές μελέτες *in vivo*, που έδειξαν ότι τα οιστρογόνα αυξάνουν τους δείκτες σχηματισμού των οστών σε μυώνες και παράλληλα μειώνουν την απορρόφησή τους (Chow JW 1992, Garner SC 1991, Tobias JH 1991).

Επιπρόσθετα, η έλλειψη οιστρογόνων, διαταράσσει την παρακρινική και αυτοκρινική δράση των παραγόμενων από τους οστεοβλάστες κυτταροκινών, ιδίως της ιντερλευκίνης-1 και της ιντερλευκίνης-6, σε δεύτερη δε μοίρα του παράγοντα TNF, του παράγοντα TGF-β, της προσταγλανδίνης E2 και των αυξητικών παραγόντων IGF-I και IGF-II (Roodman GD 1993, Pacifici R 1996), που όπως έχει ήδη αναφερθεί συμμετέχουν στην οστική ανακατασκευή. Η απορρύθμιση αυτή του ορμονικού και παρακρινικού – αυτοκρινικού συστήματος γίνεται εντονότερη σε περίπτωση ωοθηκεκτομής (Manolagas SC, 1994) διότι

υπερεκκρίνονται οι προαναφερθείσες ιντερλευκίνες, που προάγουν ιδιαίτερα την οστεοκλαστογένεση.

Τέλος, η ανεπάρκεια των οιστρογόνων διαταράσσει και τη δράση των ασβεστοτρόπων ορμονών και πιο συγκεκριμένα της καλσιτονίνης, της παραθορμόνης και της βιταμίνης D. Πιο συγκεκριμένα, εμμηνοπαυσιακές γυναίκες παρουσιάζουν χαμηλότερα επίπεδα καλσιτονίνης σε σχέση με προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, γεγονός που συσχετίζεται σημαντικά με τα επίπεδα κυκλοφορούσας οιστρονής (Reginster JY 1989), ενώ η χορήγηση οιστρογόνων και προγεστερόνης σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες αυξάνει τα επίπεδα της καλσιτονίνης (Agnusdei D 1990).

Τα οιστρογόνα φαίνεται επίσης ότι ρυθμίζουν τη δράση της παραθορμόνης στα οστά, αφού φυσιολογικές δόσεις οιστρογόνων μειώνουν το ασβέστιο του ορού και των ούρων, αλλά και τα επίπεδα υδροξυπρολίνης σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με πρωτοπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό, ενώ η έλλειψη οιστρογόνων αυξάνει την ευαισθησία του σκελετού στις απορροφητικές επιδράσεις της παραθορμόνης με αποτέλεσμα μικρή αύξηση του ασβεστίου του αίματος (Andreoli TE 2000).

Όσον αφορά την επίδραση των οιστρογόνων στη σύνθεση της 1,25-διυδροξυχοληκαλσιφερόλης D_3 έχει δείχτεί ότι η δραστηριότητα του ενζύμου 1- άλφα υδροξυλάση, που είναι υπεύθυνο για τη σύνθεση της βιταμίνης στους νεφρούς ελέγχεται από την παραθορμόνη και τα οιστρογόνα. Συνεπώς, η μειωμένη δραστηριότητα του ενζύμου αυτού λόγω έλλειψης των οιστρογόνων, φαίνεται ότι παίζει κάποιο ρόλο στη μετεμμηνοπαυσιακή οστεοπόρωση (Caniggia A 1987). Την άποψη αυτή επιβεβαιώνουν και τα αποτελέσματα ερευνών, οι οποίες έδειξαν ότι χορήγηση οιστρογόνων σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες προκάλεσε αύξηση των επιπέδων της 1,25-διυδροξυβιταμίνης D_3 (Van Hoof HJ 1999). Επιπρόσθετα, υπάρχουν μελέτες που δείχνουν, ότι στα κύτταρα του εντερικού βλεννογόνου μυώνων υπάρχουν οιστρογονικοί υποδοχείς, καθώς και ότι τα κύτταρα αυτά απαντούν απευθείας στη 17β- οιστραδιόλη, αυξάνοντας τη μεταφορά του ασβεστίου. Αυτά τα ευρήματα υποδηλώνουν ότι τα οιστρογόνα έχουν ένα φυσιολογικό ρόλο στη ρύθμιση της εντερικής απορρόφησης του ασβεστίου και ότι η ανεπάρκειά τους κατά την εμμηνοπαυση μπορεί να οδηγήσει σε μία άμεση δυσαπορρόφηση του ασβεστίου (Arjmandi BH 1993).

1.4.2. Διατροφικοί παράγοντες

Δια βίου επαρκείς προσλήψεις ασβεστίου και βιταμίνης D, κυρίως μέσω της τροφής αλλά και μέσω συμπληρωμάτων, είναι απαραίτητες για την πρόληψη της οστεοπόρωσης και

συνιστούν ουσιαστικές παραμέτρους της θεραπείας της νόσου. Η σημαντική επίδραση του ασβεστίου στην οστική απώλεια εξαρτάται από την ηλικία και το σημείο του σκελετού. Παράλληλα, υπάρχουν ενδείξεις ότι συμπληρωματική χορήγηση ασβεστίου σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες μειώνει το ρυθμό της οστικής απώλειας, ιδιαίτερα σε όσες αναφέρουν χαμηλή πρόσληψη ασβεστίου, καθώς και μείωση του κινδύνου καταγμάτων σε άτομα τρίτης ηλικίας (Hunter DJ 2000, Raisz LG 1999).

Η βιταμίνη D προσλαμβάνεται είτε με την τροφή (D_2 - εργοκαλσιφερόλη) ή παράγεται στο δέρμα με την επίδραση της ηλιακής ακτινοβολίας (D_3 - χοληκαλσιφερόλη) και μέχρι πρόσφατα η διαιτητική πρόσληψη της βιταμίνης θεωρούνταν σημαντική μόνο για ομάδες που δεν είχαν επαρκή έκθεση στην ακτινοβολία (π.χ. βρέφη, ηλικιωμένοι, κάτοικοι βορείων χωρών). Εντούτοις, υπάρχουν ενδείξεις χαμηλών συγκεντρώσεων βιταμίνης D και σε πληθυσμούς νοτίων χωρών, συμπεριλαμβανομένης και της Ελλάδας (Van der Wielen RP 1995, Charuy MC 1997, Bettica P 1999). Χαμηλά επίπεδα βιταμίνης D αυξάνουν τον κίνδυνο καταγμάτων και πρέπει να διορθώνονται με συμπληρωματική χορήγηση της βιταμίνης (Raisz LG 1999).

Ο φώσφορος είναι το δεύτερο σε ποσότητα μέταλλο του σκελετού και βρίσκεται σε αφθονία σε πολλά τρόφιμα, με αποτέλεσμα σπάνια να παρατηρείται ανεπάρκεια του μετάλλου αυτού. Αντίθετα, έχει διατυπωθεί η άποψη ότι αυξημένη πρόσληψη φωσφόρου επιταχύνει την οστική απώλεια. Ο λόγος της διαιτητικής πρόσληψης ασβεστίου/ φωσφόρου αποτελεί ισχυρή παράμετρο πρόβλεψης της οστικής πυκνότητας (Metz JA 1993, Brot C 1999) και σύμφωνα με τις συστάσεις πρέπει να προσεγγίζει το 1/1.

Χαμηλή πρωτεϊνική πρόσληψη σχετίζεται με αυξημένο ρυθμό απώλειας οστού (Hannan MT 2000, Freudenheim JL 1986, Kerstetter JE 1999) και αυξημένο κίνδυνο για κατάγματα (Munger RG 1999), ενώ η πρωτεΐνη φαίνεται να ασκεί μία ασβεστιουρητική δράση μόνο όταν η πρόσληψη ασβεστίου είναι χαμηλή. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα τυχαιοποιημένων κλινικών μελετών, συμπληρωματική χορήγηση πρωτεΐνης ασκεί θετική επίδραση στην οστική πυκνότητα υγιών ηλικιωμένων ατόμων (Dawson-Hughes B 2002), αρκεί να συνοδεύεται με επαρκή πρόσληψη ασβεστίου και βιταμίνης D.

Σχετικά με το ρόλο του νατρίου στη σκελετική υγεία, είναι γνωστό ότι για κάθε 2300 mg νατρίου που αποβάλλονται, παρασύρονται περίπου 40 mg ασβεστίου, αλλά υπάρχουν ελλιπή στοιχεία σε ότι αφορά τη συσχέτιση της πρόσληψης νατρίου και του κινδύνου κατάγματος. Εντούτοις, έχει βρεθεί σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες, αρνητική συσχέτιση μεταξύ της υψηλής πρόσληψης νατρίου (5000-7000 mg) και της οστικής πυκνότητας (Devine A 1995) ή κάποιων δεικτών οστικής απορρόφησης (Evans CE 1997). Το

εύρημα αυτό δεν έχει παρατηρηθεί σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (Evans CE 1997) ή άντρες (Itoh R 1999).

Η αυξημένη πρόσληψη καφεΐνης (> 4 φλιτζ. καφέ / ημέρα) σχετίζεται σημαντικά με τον κίνδυνο για κάταγμα, τόσο σε άντρες όσο και σε γυναίκες (Kiel DP 1990, Hernandez-Avila M 1991). Εντούτοις, η αρνητική επίδραση της πρόσληψης καφεΐνης στην οστική πυκνότητα, ευοδώνεται από παράλληλη, μειωμένη πρόσληψη ασβεστίου (<800 mg) (Harris SS 1994, Ilich JZ 2002, Barrett-Connor E 1994).

Τέλος, η υψηλή πρόσληψη αλκοόλ έχει βλαβερές συνέπειες στην οστική μάζα, οφειλόμενες κυρίως σε αναστολή της οστεοβλαστικής δραστηριότητας, καθώς επίσης και στο γεγονός ότι τα άτομα που κάνουν κατάχρηση αλκοόλ, έχουν κακές διατροφικές συνήθειες, μειωμένη κινητικότητα και υπογοναδισμό (Hunter DJ 2000).

1.4.3. Σωματική δραστηριότητα

Η επίδραση της σωματικής αδράνειας στην οστική απώλεια, που παρατηρείται περιεμμηνοπαυσιακά, έχειδειχθεί κυρίως σε άτομα που έχουν ακινητοποιηθεί ή ζουν καθιστική ζωή. Τα άτομα αυτά χάνουν σημαντικές ποσότητες οστικής μάζας, ειδικότερα μετά την εμμηνόπαυση. Περισσότερο προσβάλλονται τα κάτω άκρα, παρά τα άνω και ελάχιστα το κρανίο. Επομένως, η οστική απώλεια μετά από ακινητοποίηση είναι αντιστρόφως ανάλογη του βαθμού φόρτισης των προσβαλλόμενων οστών (Drinkwater BL 1993). Παράλληλα, σύμφωνα με τα αποτελέσματα διαχρονικών μελετών, υπάρχουν ενδείξεις ότι η διατήρηση ενός δραστήριου τρόπου ζωής κατά τις τελευταίες δεκαετίες της ζωής, μπορεί να αναστείλει την απώλεια οστού στο ισχίο (Nguyen TV 1998), καθώς επίσης και να διατηρήσει τη μυϊκή δύναμη, μειώνοντας κατά συνέπεια και τη συχνότητα των πτώσεων, ιδιαίτερα ατόμων τρίτης ηλικίας.

1.4.4. Κάπνισμα

Γυναίκες που καπνίζουν περισσότερα από 20 τσιγάρα καθημερινά θεωρούνται ότι έχουν αυξημένο κίνδυνο για εμφάνιση οστεοπόρωσης. Αυτό οφείλεται ενδεχομένως στο γεγονός ότι οι καπνίστριες είναι μικρότερου σωματικού βάρους, έχουν νωρίτερα εμμηνόπαυση, καταβολίζουν γρηγορότερα τα εξωγενώς χορηγούμενα οιστρογόνα και πιθανόν γιατί το κάπνισμα ασκεί μία άμεση τοξική επίδραση στους οστεοβλάστες (Vernejoul MC 1983, Baron JA 1984). Επομένως, ο κίνδυνος εμφάνισης οστεοπόρωσης είναι αυξημένος τόσο στις γυναίκες, όσο και στους άνδρες καπνιστές.

1.4.5. Σωματικό βάρος

Το αυξημένο σωματικό βάρος έχει συσχετιστεί με χαμηλότερο ρυθμό απώλειας οστού (Nguyen TV 1998) και έτσι παχύσαρκες μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες φαίνεται πως προστατεύονται από την ταχεία οστική απώλεια, συγκρινόμενες με αδύνατες μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (Tronas G 1999). Το γεγονός αυτό, καθώς και οι πιθανοί αιτιολογικοί μηχανισμοί του, θα περιγραφούν αναλυτικά στη συνέχεια.

Επιπρόσθετα, η απώλεια βάρους, κατά τη μέση και τρίτη ηλικία σχετίζεται με απώλεια οστού, μείωση της μυϊκής δύναμης και αυξημένο κίνδυνο καταγμάτων (Meyer HE 1995, Langlois JA 1996). Σύμφωνα με δεδομένα από την Εθνική Έρευνα της Αμερικής NHEFS (Langlois JA 2001), απώλεια βάρους σε γυναίκες ίση ή μεγαλύτερη του 10%, η οποία λαμβάνει χώρα ανάμεσα στην ηλικία του μέγιστου σωματικού βάρους και τη μέση ηλικία (50-64 έτη), σχετίζεται με 2.5 φορές αύξηση του κινδύνου για κάταγμα ισχίου, ενώ όταν αυτή η απώλεια συμβαίνει ανάμεσα στην ηλικία του μέγιστου σωματικού βάρους και την τρίτη ηλικία (65-74 έτη) διπλασιάζει τον κίνδυνο κατάγματος ισχίου. Οι παραπάνω παρατηρήσεις ήταν περισσότερο ισχυρές, όσο η τιμή του ΔΜΣ μειωνόταν.

1.4.6. Φαρμακευτικές ουσίες

Η λήψη διαφόρων φαρμακευτικών ουσιών μπορεί να αυξήσει την απώλεια ασβεστίου από τα ούρα, να μειώσει την απορρόφηση του ασβεστίου από το έντερο και να αυξήσει την αποδόμηση του κολλαγόνου στα οστά. Άλλες πάλι ουσίες παρεμβαίνουν στο μεταβολισμό της βιταμίνης D.

Τα κορτικοστεροειδή είναι φάρμακα που επιφέρουν διάφορες διαταραχές. Δόσεις μεγαλύτερες από 7.5 mg πρεδνιζολόνης καθημερινά και για μεγάλο χρονικό διάστημα προκαλούν συνήθως βαριά οστεοπόρωση. Η συνύπαρξη άλλων παθήσεων (κυρίως βρογχικού άσθματος ή ρευματοειδούς αρθρίτιδας), αυξάνει σημαντικά την προδιάθεση των ατόμων αυτών για οστεοπόρωση. Τα κορτικοστεροειδή μειώνουν βασικά την απορρόφηση του ασβεστίου από το έντερο, αυξάνουν την απέκκρισή του από τα ούρα, αναστέλλουν τη δράση της βιταμίνης D, ενώ περιορίζουν τη σύνθεση και αυξάνουν την αποδόμηση του κολλαγόνου (Hahn TJ 1996).

Τα αντιεπιληπτικά φάρμακα και ειδικότερα τα παράγωγα της φαινυτοΐνης είναι γνωστό ότι παρεμβαίνουν στο μεταβολισμό της βιταμίνης D και προκαλούν ραχιτισμό ή οστεομαλακία (Hahn TJ 1980), ενώ και η μακροχρόνια χρήση βαρβιτουρικών ή ακεταζολαμίδης, οδηγούν σε μείωση της οστικής πυκνότητας και οστική ατροφία (Kubota F 1999). Επίσης, τα αντιόξινα σκευάσματα του αργιλίου μπορεί να προκαλέσουν οστεομαλακία όταν χορηγηθούν σε υψηλές δόσεις και για μεγάλα χρονικά διαστήματα, επειδή δεσμεύουν

τον φωσφόρο (Parfitt AM 1990). Η μακρόχρονη χορήγηση αντιπηκτικών φαρμάκων, κυρίως της ηπαρίνης, αναφέρεται σαν αίτιο πρόκλησης οστεοπορωτικών καταγμάτων (Avioli LV 1975), ενώ η λήψη διουρητικών της αγκύλης αποτελεί παράγοντα κινδύνου για χαμηλή οστική πυκνότητα σε άτομα τρίτης ηλικίας, αυξάνοντας την απέκκριση ασβεστίου (Ooms ME 1993) .

Η χορήγηση θυρεοειδικών ορμονών για την καταστολή της θυρεοειδοτρόπου ορμόνης (TSH) σε περίπτωση καρκίνου, όζων ή βρογχοκήλης φαίνεται πως έχει αρνητική επίδραση στο οστό ιδιαίτερα σε εμμηνοπαυσιακές γυναίκες και κυρίως στο φλοιώδες οστό. Αντίθετα, η θεραπεία υποκατάστασης των θυρεοειδικών ορμονών, που έχει ως αποτέλεσμα φυσιολογικά επίπεδα TSH, ασκεί ελάχιστη ή και μηδαμινή επίδραση στον σκελετό (Greenspan SL 1999).

Πίνακας- 1.4. Αίτια δευτεροπαθούς οστεοπόρωσης.

Παθήσεις των ενδοκρινών αδένων

Αμηνόρροια
Υπογοναδισμός
Υπερθυρεοειδισμός
Υπερπαραθυρεοειδισμός
Υπερπρολακτιναιμία
Σύνδρομο Cushing

Παθήσεις του πεπτικού συστήματος

Δυσσπορρόφηση
Υφολική γαστρεκτομή
Χρόνια ηπατοπάθεια
Ιδιοπαθή φλεγμονώδη νοσήματα του εντέρου

Αιματολογικές παθήσεις

Πολλαπλούν μυέλωμα
Λέμφωμα
Λευχαιμία
Αιμολυτικές αναιμίες

Παθήσεις του συνδετικού ιστού***Διάφορα***

Σκλήρυνση κατά πλάκας
Ρευματοειδής αρθρίτιδα / χρόνια φλεγμονώδης αρθρίτιδα
Ψυχογενής ανορεξία

Όσον αφορά στα αίτια ανάπτυξης δευτεροπαθούς οστεοπόρωσης, συνοψίζονται στον Πίνακα- 1.4 και πρέπει πάντα να λαμβάνονται υπόψη κατά την κλινική εκτίμηση ενός οστεοπορωτικού ατόμου (Waine C 1997).

1.5. ΜΕΓΕΘΟΣ ΣΩΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΟΣΤΙΚΗ ΜΑΖΑ

Υπάρχει πληθώρα κλινικών μελετών, οι οποίες έχουν δείξει ότι οι υπέρβαρες γυναίκες έχουν αυξημένη ανόργανη οστική μάζα, συγκρινόμενες με άλλες χαμηλότερου σωματικού βάρους (Wardlaw GM 1996) και παρουσιάζουν χαμηλότερο ρυθμό οστικής απώλειας μετά την εμμηνόπαυση (Ravn P 1999).

Κάποιες μελέτες έχουν επικεντρώσει το ενδιαφέρον τους στη λιπώδη μάζα, δείχνοντας την ύπαρξη θετικής συσχέτισης ανάμεσα στο σωματικό λίπος και την ανόργανη οστική μάζα, ενώ άλλοι ερευνητές έδωσαν έμφαση στην επίδραση της ισχνής μάζας σώματος στην οστική πυκνότητα. Πιο συγκεκριμένα, στις νεαρές γυναίκες, η επίτευξη της κορυφαίας οστικής μάζας σε όλο το σώμα, τη σπονδυλική στήλη, και την περιοχή του ισχίου συσχετίζεται θετικά με τον ΔΜΣ, τη λιπώδη μάζα και την ισχνή μάζα σώματος, η επίδραση της τελευταίας όμως φαίνεται να είναι η πιο σημαντική γι' αυτήν την ηλικιακή περίοδο (Wardlaw GM 1996). Αντίστοιχα, στην εμμηνόπαυση η οστική πυκνότητα σε όλο το σώμα, τη σπονδυλική στήλη, το ισχίο και το αντιβράχιο, συσχετίζεται επίσης θετικά με το σωματικό βάρος, τον ΔΜΣ, τη λιπώδη μάζα και την ισχνή μάζα σώματος, αλλά σε αυτή τη φάση η λιπώδης μάζα φαίνεται πως ασκεί ισχυρότερη επίδραση στα οστά απ' ότι η ισχνή. Το ίδιο παρατηρείται και στις ηλικιωμένες γυναίκες, στις οποίες η οστική πυκνότητα συσχετίζεται θετικά με σωματικό βάρος, τον ΔΜΣ, τη λιπώδη μάζα και την ισχνή μάζα σώματος, με τη λιπώδη μάζα να ασκεί και σε αυτή τη φάση ισχυρότερη επίδραση απ' ότι η ισχνή μάζα (Wardlaw GM 1996).

Οι μηχανισμοί, που έχουν κατά καιρούς διατυπωθεί, για να εξηγήσουν την προστατευτική δράση της παχυσαρκίας στην οστική πυκνότητα, αναφέρονται κυρίως, σε μηχανικούς και ορμονικούς παράγοντες.

1.5.1. Μηχανική επίδραση του βάρους στην οστική πυκνότητα.

Το αυξημένο βάρος, τόσο της λιπώδους, όσο και της ισχνής μάζας σώματος προκαλεί αυξημένο μηχανικό φορτίο στα οστά και διεγείρει την εναπόθεση οστού. Η εναπόθεση

οστού είναι ανάλογη με τη φόρτιση συμπίεσης, που ασκείται στο οστό. Για παράδειγμα, τα οστά των αθλητών γίνονται σημαντικά βαρύτερα απ' των ατόμων που δεν ασκούνται. Επίσης, αν ένα άτομο έχει το ένα κάτω άκρο του στο γύψο, αλλά εξακολουθεί να περπατά με το άλλο, το οστό που βρίσκεται στο γύψο λεπταίνει και απασβεστώνεται, ενώ το άλλο μένει παχύ και φυσιολογικά επιμεταλλωμένο. Συνεπώς, είναι φανερό ότι η διαρκής «υπερένταση» (stress) διεγείρει την οστεοβλαστική εναπόθεση οστού (Guyton AC 1990).

Οι μύες ασκούν κατ' εξοχήν τις μεγαλύτερες δυνάμεις στα οστά. Έτσι αν το σώμα δεν κινείται (π.χ. σε κλινήρεις ασθενείς), η μειωμένη σωματική δραστηριότητα και μυϊκή δύναμη προκαλούν οστεοπενία, ανεξάρτητα από το πόσο αυξημένο είναι το σωματικό βάρος (Frost HM 1997). Ηλικιωμένα άτομα, που μετακινούνται με τη βοήθεια μηχανικών βοηθημάτων, έχουν υψηλό κίνδυνο για μειωμένη οστική μάζα, μεγαλύτερη ευθραυστότητα του οστίτη ιστού και οστεοπορωτικά κατάγματα. Επιπρόσθετα, διαστημικές πτήσεις αστροναυτών συνεπάγονται μεγάλη απώλεια οστικής μάζας, όταν οι πτήσεις διαρκούν περισσότερο από λίγες ημέρες και έχει παρατηρηθεί ότι μείωση του βάρους ή βαρύτητα κοντά στο μηδέν έχουν σοβαρές αρνητικές επιδράσεις στα οστά.

Η μυϊκή δύναμη αυξάνεται κατά τη φάση της ανάπτυξης του οργανισμού. Στη συνέχεια φθάνει σε ένα «plateau» κατά τη νεανική ηλικία, ενώ μετά τα τριάντα αρχίζει βαθμιαία να μειώνεται, μένοντας περίπου η μισή στην ηλικία των 80 ετών. Αυτή η πτώση μειώνει και τις μυϊκές δυνάμεις που ασκούνται στα οστά, περιορίζοντας την οστική ανακατασκευή και μειώνοντας έτσι και την οστική μάζα (Frost HM 1997). Ο φυσιολογικός μηχανισμός της εναπόθεσης οστού σε σημεία συμπιεστικής καταπόνησης, θεωρείται ότι οφείλεται σε ένα πιεζοηλεκτρικό φαινόμενο, που λειτουργεί ως εξής: η συμπίεση του οστού προκαλεί την ανάπτυξη ενός αρνητικού δυναμικού στη θέση που εφαρμόζεται και ενός θετικού σε κάποια άλλη θέση του οστού. Έχει αποδειχθεί ότι η εφαρμογή μικρών ποσών ηλεκτρικού ρεύματος στο οστό διεγείρει την οστεοβλαστική δραστηριότητα στον αρνητικό πόλο του ηλεκτροδίου, η οποία θα μπορούσε να εξηγήσει την αύξηση της εναπόθεσης οστού στα σημεία συμπίεσης (Guyton AC 1990).

Ο Ravn και οι συνεργάτες του (1999) σε μια μελέτη 1609 μετεμμηνοπαυσιακών γυναικών εκτίμησαν τη σημασία της ισχνότητας (thinness) (χαμηλό ποσοστό σωματικού λίπους, χαμηλό ΔΜΣ ή χαμηλό σωματικό βάρος), ως παράγοντα κινδύνου για χαμηλή οστική πυκνότητα. Τα αποτελέσματα έδειξαν την ύπαρξη σημαντικής συσχέτισης ανάμεσα στην ισχνότητα, τη χαμηλή οστική πυκνότητα και την αυξημένη οστική απώλεια κατά την εμμηνόπαυση. Σε κάθε σκελετική περιοχή, υπήρχε μεγαλύτερη συσχέτιση μεταξύ του ΔΜΣ και της ανόργανης οστικής μάζας απ' ότι μεταξύ του ποσοστού σωματικού λίπους και της

ανόργανης οστικής μάζας. Επιπρόσθετα, η συσχέτιση του ΔΜΣ με την οστική πυκνότητα ήταν πιο σημαντική στο ισχίο, λιγότερο σημαντική στη σπονδυλική στήλη και ακόμα λιγότερο σημαντική στο αντιβράχιο. Τα ευρήματα βρίσκονται σε συμφωνία με αυτά άλλων ερευνών (Edelstein SL 1993) και υποδηλώνουν μια θετική επίδραση αυτού καθ' αυτού του σωματικού βάρους στην οστική πυκνότητα, επίδραση που ήταν πιο εμφανής στις περιοχές του σκελετού που σηκώνουν βάρος, όπως είναι η σπονδυλική στήλη και το ισχίο. Σύμφωνα με τις παραπάνω μελέτες, στους μηχανικούς μηχανισμούς επίδρασης της παχυσαρκίας στην οστική πυκνότητα, μετέχουν τόσο η ισχνή όσο και η λιπώδης μάζα, αλλά και άλλοι παράγοντες, όπως για παράδειγμα ο τρόπος ζωής.

1.5.2. Ορμονική επίδραση της παχυσαρκίας στην οστική μάζα.

1.5.2.1. Παραγωγή οιστρογόνων στο λιπώδη ιστό

Ο λιπώδης ιστός αποτελεί το κύριο μέρος παραγωγής των οιστρογόνων στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Η αναγνώριση της σημασίας του λιπώδους ιστού ως πηγή οιστρογόνων έγινε αρχικά από τις μελέτες των MacDonald, Siiteri και των συνεργατών τους στη δεκαετία του '70, οι οποίοι όρισαν τη μετατροπή της ανδροστενδιόνης του πλάσματος σε οιστρόνη ως αποτέλεσμα της παχυσαρκίας (Grodin JM 1973, Hemsell DL 1974, Edman CD 1978). Αυτή η παράμετρος αποδείχθηκε ότι σχετίζεται θετικά με το πλεονάζον σωματικό βάρος, τόσο σε προ- όσο και σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και μπορεί να αυξηθεί ως και δέκα φορές σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με νοσογόνο παχυσαρκία. Ωστόσο, το κλάσμα μετατροπής της ανδροστενδιόνης σε οιστρόνη αυξάνεται και με τη γήρανση (Simpson ER 1989).

Παράλληλα, κατά την εμμηνόπαυση, η 17β- οιστραδιόλη προέρχεται από την αρωματοποίηση της τεστοστερόνης στο λιπώδη ιστό. Η τεστοστερόνη εκκρίνεται φυσιολογικά από το κυρίαρχο ωοθηλάκιο και το στρώμα της ωοθήκης κατά 25%, από τα επινεφρίδια επίσης κατά 25% και κατά 50% από το μεταβολισμό της ανδροστενδιόνης. Η ανδροστενδιόνη παράγεται σε μεγαλύτερα ποσά κατά την αναπαραγωγική ηλικία και η παραγωγή της είναι μεγαλύτερη στις γυναίκες απ' ότι στους άνδρες. Η μισή παραγωγή της προέρχεται από τις ωοθήκες και η υπόλοιπη από τα επινεφρίδια και τον περιφερικό μεταβολισμό της δεϋδροεπιανδροστερόνης (DHEA). Η DHEA παράγεται κατά 90% από τα επινεφρίδια και κατά 10% από τις ωοθήκες (Σέγκος ΧΓ 1990).

Η βιοσύνθεση των οιστρογόνων καταλύεται από ένα ένζυμο γνωστό ως αρωματάση P450 (Simpson ER 1996). Το ένζυμο αυτό έχει βρεθεί ότι δεν εκφράζεται στα λιποκύτταρα,

αλλά στα στρωματικά κύτταρα που περιβάλλουν τα λιποκύτταρα και τα οποία μπορεί να είναι πρόδρομα κύτταρα των λιποκυττάρων (Price T 1992). Ο Simpson και οι συνεργάτες του (Bulun SE 1994) μελέτησαν την έκφραση της αρωματάσης σε δείγματα λιπώδους ιστού γυναικών, διαφόρων ηλικιών και βρήκαν αυξημένη έκφραση αυτής στους ιστούς των πιο ηλικιωμένων γυναικών. Επιπρόσθετα, σημείωσαν σημαντικές διαφορές στην έκφραση της αρωματάσης ανάλογα με το μέρος του σώματος, από το οποίο προερχόταν ο λιπώδης ιστός. Η έκφραση ήταν εντονότερη στο λιπώδη ιστό από τους γλουτούς και τους μηρούς, συγκρινόμενη με αυτή από την περιοχή της κοιλιάς και του στήθους.

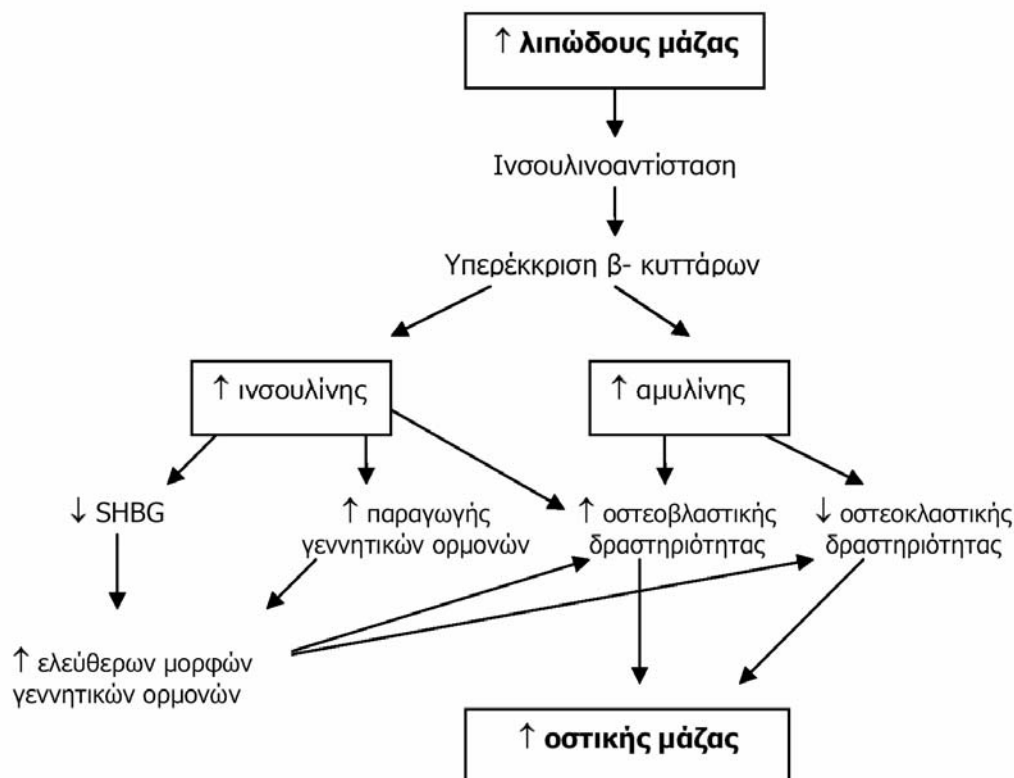
Σε μια άλλη μελέτη οι Kirschner και συν (1990) ερεύνουν τον ρυθμό παραγωγής, τα επίπεδα στο αίμα και το μεταβολισμό ανδρογόνων και οιστρογόνων σε γυναίκες με νοσογόνο παχυσαρκία, οι οποίες είχαν είτε γυναικείου είτε ανδρικού τύπου παχυσαρκία και τα συνέκριναν με τις τιμές γυναικών φυσιολογικού βάρους. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι παχύσαρκες γυναίκες είχαν αυξημένες τιμές στο ρυθμό μεταβολικής κάθαρσης και στο ρυθμό παραγωγής της τεστοστερόνης, της διυδροτεστοστερόνης και της ανδροστενδιόνης, αυξημένη περιφερική αρωματοποίηση της ανδροστενδιόνης σε οιστρόνη και τέλος, αυξημένο ρυθμό απέκκρισης της οιστρόνης (στα ούρα). Παράλληλα, όλες οι παραπάνω τιμές ήταν υψηλότερες στις γυναίκες με ανδρικού τύπου παχυσαρκία, εκτός από την περιφερική αρωματοποίηση της ανδροστενδιόνης σε οιστρόνη και το ρυθμό απέκκρισης της οιστρόνης στα ούρα, που ήταν αυξημένες στις γυναίκες με γυναικείου τύπου παχυσαρκία.

Η έκφραση της αρωματάσης έχει βρεθεί ότι ρυθμίζεται από την ιντερλευκίνη- 6 και τον παράγοντα νέκρωσης των όγκων- α. Κατά τη γήρανση οι συγκεντρώσεις των κυτταροκινών αυτών αυξάνουν, προάγοντας έτσι την περιφερική μετατροπή των ανδρογόνων σε οιστρογόνα, στο λιπώδη ιστό. Παράλληλα με τη γήρανση, η παχυσαρκία είναι άλλη μία κατάσταση κατά την οποία παρατηρείται αυξημένη παραγωγή των ανωτέρω κυτταροκινών. Συνεπώς, η γήρανση και η παχυσαρκία επηρεάζουν εξίσου την περιφερική σύνθεση των οιστρογόνων στο λιπώδη ιστό (Purohit A 2002).

Όλα τα παραπάνω επιβεβαιώνουν τη σημασία του λιπώδους ιστού στην παραγωγή οιστρογόνων μετά την εμμηνόπαυση και υπογραμμίζουν την προστατευτική του δράση έναντι της οστεοπόρωσης. Είναι συνεπώς αναμενόμενο, γυναίκες με περισσότερο σωματικό λίπος να εμφανίζουν υψηλότερη οστική πυκνότητα, λόγω της αυξημένης αρωματοποίησης των ανδρογόνων σε οιστρογόνα και της επακόλουθης δράσης αυτών στο σκελετό.

1.5.2.2. Ορμόνες των β- παγκρεατικών κυττάρων

Η αντίσταση στην ινσουλίνη που παρατηρείται σε παχύσαρκα άτομα αφορά μόνο την υπογλυκαιμική δράση της ορμόνης, ενώ όλες οι άλλες δράσεις της παραμένουν ανεπηρέαστες. Συνεπώς η υπερινσουλιναιμία έχει ως αποτέλεσμα την υπερπαραγωγή ανδρογόνων και οιστρογόνων από τις ωθήκες και παράλληλα μείωση της παραγωγής της SHBG από το ήπαρ. Αυτό συνεπάγεται αύξηση της συγκέντρωσης των ελεύθερων ορμονών φύλου, που με τη σειρά τους προκαλούν μείωση στην οστεοκλαστική δραστηριότητα και πιθανόν αύξηση της οστεοβλαστικής δραστηριότητας, οδηγώντας σε αύξηση της οστικής μάζας (Σχήμα- 1.2) (Reid IR 2002).



Σχήμα- 1.2. Πιθανοί μηχανισμοί μέσω των οποίων η λιπώδης μάζα επηρεάζει τη λειτουργία των κυττάρων του οστίτη ιστού και συνεπώς την οστική μάζα. SHBG: Σφαιρίνη δεσμεύουσα τις ορμόνες του φύλου. (Μετάφραση από: Reid IR. Relationships among body mass, its components and bone. Bone 2002 31: 547-555).

Επιπρόσθετα, η ινσουλίνη είναι πιθανότατα ρυθμιστής της οστεοβλαστικής ανάπτυξης, γιατί έχουν βρεθεί υποδοχείς της στους οστεοβλάστες, όπως και του ομοιάζοντα στην ινσουλίνη αυξητικού παράγοντα 1 (IGF-1), ο οποίος μπορεί να μεσολαβεί στη δράση της ινσουλίνης στο οστό (Pun K 1989). Η υπερινσουλιναιμία προκαλεί επίσης και μείωση της σφαιρίνης που δεσμεύει τον IGF-1 (IGFBG-1), με αποτέλεσμα αύξηση της συγκέντρωσής του και διέγερση του πολλαπλασιασμού των οστεοβλαστών. Πειράματα *in vitro* και *in vivo*

έχουν δείξει ότι η ινσουλίνη διεγείρει τον πολλαπλασιασμό των οστεοβλαστών και αυξάνει τους δείκτες οστικού σχηματισμού όταν χορηγείται τοπικά στο οστό. Επιπλέον, επιδημιολογικές μελέτες έχουν δείξει ότι οι συγκεντρώσεις ινσουλίνης αποτελούν καθοριστικό παράγοντα της οστικής πυκνότητας τόσο σε άντρες όσο και σε γυναίκες, ενώ παράλληλα σχετίζονται θετικά με το σωματικό βάρος και τη λιπώδη μάζα (Reid IR 1993, Stolk RP 1996). Αντίθετα, η οστική πυκνότητα τείνει να είναι μειωμένη σε άτομα με ανεπάρκεια ινσουλίνης (π.χ. Σακχαρώδη Διαβήτη τύπου I) (Leidig-Bruckner G 2001).

Η ινσουλίνη δεν είναι η μόνη ορμόνη των β- παγκρεατικών κυττάρων που υπερεκκρίνεται στην παχυσαρκία. Το ίδιο συμβαίνει με την αμυλίνη, ένα πεπτίδιο με 37 αμινοξέα, που εκκρίνεται μαζί με την ινσουλίνη και που έχει αποδειχτεί *in vitro* και *in vivo* ότι διεγείρει άμεσα τον οστεοβλαστικό πολλαπλασιασμό, ενώ ασκεί και μία δράση παρόμοια με αυτήν της καλσιτονίνης στους οστεοκλάστες (Reid IR 2002). Τέλος, πρόσφατα ανακαλύφθηκε και μία άλλη ορμόνη των β- παγκρεατικών κυττάρων, η πεπτίνη, που ασκεί επίσης αναβολική δράση στο οστό, ενισχύοντας την επίδραση της ινσουλίνης και της αμυλίνης (Reid IR 2002).

1.5.2.3. Ορμόνες του λιπώδους ιστού

Η ενδοκρινική λειτουργία του λιπώδους ιστού δεν περιορίζεται μόνο στην μετατροπή των στεροειδών ορμονών του φύλου, όπως περιγράφηκε παραπάνω, αλλά σύμφωνα με πρόσφατα επιστημονικά δεδομένα, ο λιπώδης ιστός είναι το σημείο παραγωγής πολλών πεπτιδίων, κάποια από τα οποία είναι κυτταροκίνες και κάποια άλλα, όπως η λεπτίνη, έχουν δομή παρόμοια με αυτή των κυτταροκινών. Το γεγονός αυτό οδήγησε στην διατύπωση του όρου λιποκυτταροκίνες (adipocytokines) για να περιγράψει όλες αυτές τις πρωτεΐνες που εκκρίνονται από το λιπώδη ιστό και οι οποίες δρουν κυρίως τοπικά, ως αυτοκρινικοί ή παρακρινικοί παράγοντες, αλλά και συστηματικά ως ενδοκρινικοί παράγοντες. Στον Πίνακα-1.5 αναφέρονται τα κυριότερα πεπτίδια που παράγονται από το λιπώδη ιστό. Η ανακάλυψη των παραπάνω πεπτιδίων οδήγησε στο ερώτημα μήπως η θετική επίδραση του λιπώδους ιστού στην οστική μάζα οφείλεται εν μέρει στη δράση κάποιων από αυτούς τους παράγοντες.

Πίνακας- 1.5. Ουσίες παραγόμενες από το λιπώδη ιστό (Τροποποίηση από: Frayn KN 2003).

	<i>Δράση</i>
Λεπτίνη (leptin)	Ενδοκρινική & παρακρινική
Αντιπονεκτίνη (adiponectin)	Ενδοκρινική
Αδιψίνη (adipsin)	Ενδοκρινική & παρακρινική
TNF-α	Παρακρινική
IL- 6	Ενδοκρινική & παρακρινική
Διαλυτοί υποδοχείς του TNF	Ενδοκρινική
LPL	Κυρίως παρακρινική
Ρεζιστίνη (resistin)	Άγνωστη?
PAI-1	Παρακρινική
FAF	Ενδοκρινική?

1.6. ΛΕΠΤΙΝΗ ΚΑΙ ΑΝΤΙΠΟΝΕΚΤΙΝΗ – Τα έως τώρα επιστημονικά δεδομένα

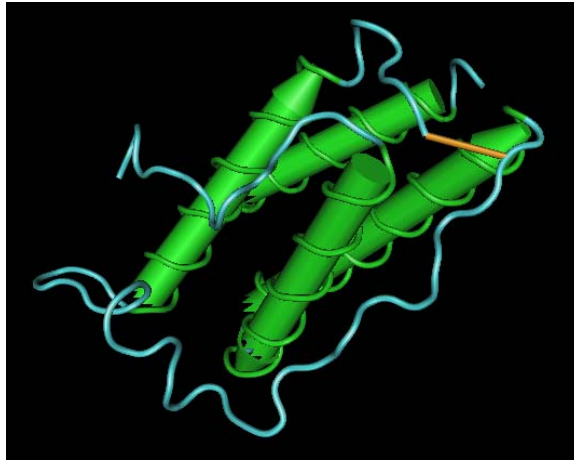
1.6.1. Λεπτίνη

Το 1994 οι Zhang και συν. απομόνωσαν το ob γονίδιο των ποντικών, αλλά και το ανθρώπινο ανάλογό του, ενώ οι Masuzaki και συν. το 1995 έδειξαν ότι η ανθρώπινη OB πρωτεΐνη αποτελείται από 166 αμινοξέα. Η ονομασία που προτάθηκε για την πρωτεΐνη αυτή ήταν «λεπτίνη» (Halaas JL 1995). Η λεπτίνη (η ονομασία της προέρχεται από τη λέξη λεπτός) είναι μία πρωτεΐνη 16- kDa (Εικόνα- 1.1), της οποίας η κρυσταλλική δομή υποδηλώνει ότι ανήκει στην οικογένεια των κυτταροκινών (Zhang F 1997). Η ορμόνη αυτή εκκρίνεται κυρίως (>95%) από το λιπώδη ιστό και κυκλοφορεί σε συγκεντρώσεις ανάλογες της λιπώδους μάζας. Η λεπτίνη κυκλοφορεί στο πλάσμα σε ελεύθερη μορφή ή δεσμευμένη στο διαλυτό ισομερές του υποδοχέα της (Ob-Re).

1.6.1.1. Ρύθμιση των επιπέδων λεπτίνης στον ορό

Τα επίπεδα της λεπτίνης αυξάνουν εκθετικά με την αύξηση της λιπώδους μάζας και η παραγωγή της είναι μεγαλύτερη στα υποδόρια απ' ότι στα σπλαγχνικά αποθέματα λίπους. Τα επίπεδα λεπτίνης αντανakλούν όχι μόνο το αποθηκευμένο λίπος, αλλά και την ανισορροπία στην ενέργεια. Παρατεταμένη νηστεία ή χρόνιος υποσιτισμός μειώνουν τα

επίπεδα λεπτίνης, ενώ αυξημένη πρόσληψη της τροφής αυξάνει κατά πολύ τα επίπεδά της (Mantzoros CS 1999).



Εικόνα— 1.1. Τρισδιάστατη παρουσίαση του μορίου της λεπτίνης. (Από: www.ncbi.nlm.nih.gov/structure).

Η συγκέντρωση της λεπτίνης μπορεί να επηρεαστεί από τη σύνθεση της διαίτας (Jenkins AB 1997), ενώ παράλληλα μελέτες έχουν δείξει ότι αυξημένα επίπεδα ινσουλίνης ή έγχυση αυτής, καθώς και τα γλυκοκορτικοειδή, προκαλούν αύξηση των επιπέδων λεπτίνης (Mantzoros CS 1999), σε αντίθεση με το κάπνισμα, που προκαλεί μείωση στη λεπτίνη μέσω αύξησης της αδρενεργικής διέγερσης (Mantzoros CS 1998). Επιπρόσθετα, κάποιες κυτταροκίνες όπως η ιντερλευκίνη-1, η ιντερλευκίνη-6, ο TNF- α , μεταβάλλουν την έκφραση του mRNA και τα επίπεδα της κυκλοφορούσας λεπτίνης (Janik JE 1997, Mantzoros CS 1997). Διαφορές στη συγκέντρωση της λεπτίνης παρατηρούνται και ανάμεσα στα δύο φύλα, με τις γυναίκες να έχουν υψηλότερα επίπεδα λεπτίνης λόγω της κατανομής και της ποσότητας του λίπους τους ή λόγω των επαγωγικών επιδράσεων των οιστρογόνων και της προγεστερόνης στη λεπτίνη και της κατασταλτικής επίδρασης των ανδρογόνων σ' αυτή (Rosenbaum M 1996).

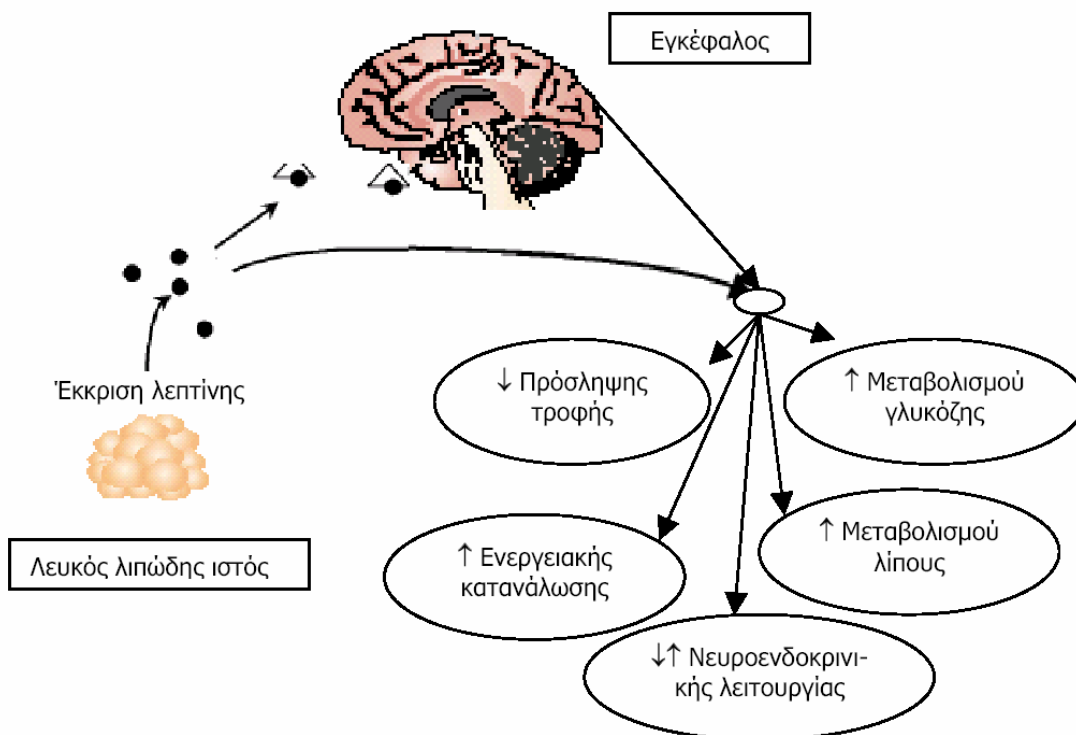
Παρόμοια με άλλες ορμόνες, η έκκριση της λεπτίνης εμφανίζει έναν κιρκάδιο ρυθμό, σημειώνοντας μία νυχτερινή αύξηση, γεγονός που βεβαιώνει ότι οι αλλαγές στη λεπτίνη του πλάσματος στην περίοδο των 24 ωρών, δεν επηρεάζονται από την πέψη των γευμάτων ή από αυξήσεις στην κυκλοφορούσα ινσουλίνη, που σχετίζονται με το γεύμα. Πιο συγκεκριμένα, οι συγκεντρώσεις της λεπτίνης στο πλάσμα είναι μειωμένες γύρω στο μεσημέρι και αρχίζουν να αυξάνουν περίπου στις 3.00 μ.μ., για να φθάσουν στη μέγιστη τιμή τους κατά τη διάρκεια της νύχτας. Η νυχτερινή αύξηση των επιπέδων λεπτίνης προηγείται της αύξησης των επιπέδων της αδρενοκορτικοτροπίνης (ACTH) και της

κορτιζόλης, οι οποίες λαμβάνουν χώρα τις πρώτες πρωινές ώρες. Συνεπώς, η αύξηση της συγκέντρωσης της λεπτίνης δεν είναι αποτέλεσμα της επαγωγής της έκφρασης του ob γονιδίου από την κορτιζόλη (Mantzoros CS 1999).

1.6.1.2. Δράση και κάθαρση της λεπτίνης

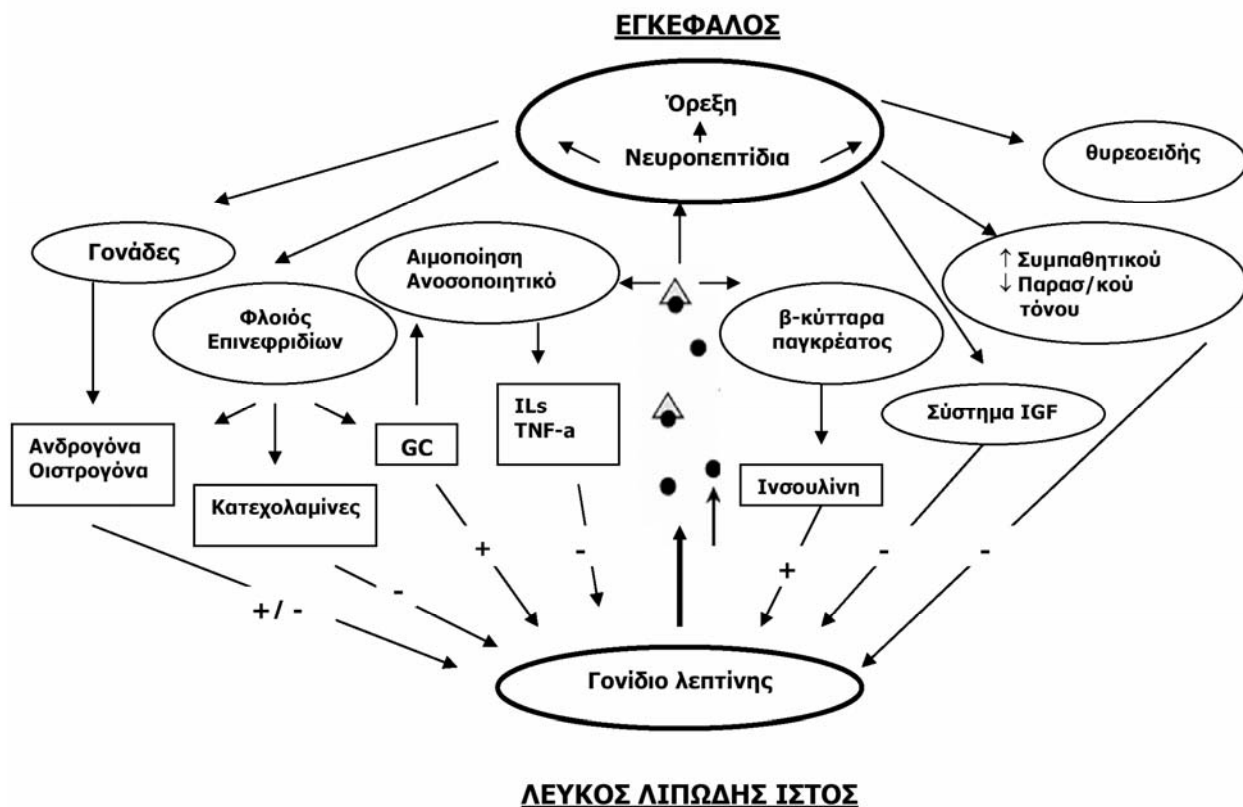
Ο υποδοχέας της λεπτίνης (Ob-R) ανήκει στην οικογένεια των υποδοχέων των κυτταροκινών και συναντάται σε διάφορα ισομερή (Ob-Ra, Ob-Rb, Ob-Rc, Ob-Rd και Ob-Re). Ο Ob-Rb είναι ο κύριος υποδοχέας του υποθαλάμου, ενώ ο Ob-Ra, είναι ο κύριος περιφερικός υποδοχέας της λεπτίνης (Caprio M 2001). Υποδοχείς της λεπτίνης έχουν βρεθεί σε πολλές περιοχές του εγκεφάλου όπως στον υποθάλαμο, στην παρεγκεφαλίδα, στο φλοιό και το χοριοειδές πλέγμα. Κύριος ρόλος της λεπτίνης είναι ο έλεγχος της έκκρισης του νευροπεπτιδίου-Υ από τον υποθάλαμο, το οποίο επηρεάζει τον υποθαλαμο- υποφυσιακό άξονα και πιο συγκεκριμένα τις εκλυτικές ορμόνες της θυρεοειδοτρόπου ορμόνης (TRH) και της κορτικοτροπίνης (CRH), οι οποίες με τη σειρά τους επηρεάζουν τους θυρεοειδικούς και επινεφριδικούς άξονες. Παράλληλα το νευροπεπτίδιο-Υ ρυθμίζει την αύξηση της πρόσληψης τροφής και τη μείωση της θερμογένεσης (Σχήμα- 1.3). Συνεπώς, η έκκριση της λεπτίνης προκαλώντας μείωση της πρόσληψης τροφής και αύξηση της κατανάλωσης ενέργειας, που επιτυγχάνεται με διέγερση της δραστηριότητας του φαιού λιπώδους ιστού, οδηγεί σε αύξηση της οξειδωσης του λίπους. Παράλληλα, η έλλειψη λεπτίνης διεγείρει το αίσθημα της πείνας, εξασφαλίζοντας έτσι ότι το άτομο θα καταναλώσει τροφή για να επιβιώσει, αλλά και για να εφοδιάσει τον οργανισμό με ενέργεια, κατά τις περιόδους της εγκυμοσύνης και της γαλουχίας (Himms-Hagen J 1999).

Εκτός, όμως, από τον υποθάλαμο έχουν βρεθεί υποδοχείς της λεπτίνης και σε άλλους ιστούς, τόσο στους ανθρώπους όσο και στους μύνες. Τέτοιοι ιστοί είναι η καρδιά, ο πλακούντας, οι πνεύμονες, το ήπαρ, οι μύες, οι νεφροί, το πάγκρεας, ο σπλήνας, ο θύμος αδένας, ο προστάτης, οι όρχεις, οι ωθήκες, το λεπτό έντερο και το κόλον. Αυτό το γεγονός συνεπάγεται τη συμμετοχή της λεπτίνης και σε άλλα συστήματα εκτός από τη ρύθμιση της όρεξης και του σωματικού βάρους, ενώ η δράση της έχει περιγραφεί στην ανάπτυξη του εμβρύου, στην ωρίμανση του αναπαραγωγικού συστήματος, στον ηπατικό μεταβολισμό, στην αιμοποίηση, στην αγγειογένεση, στο ανοσοποιητικό σύστημα και στην έκκριση ινσουλίνης (Huang L 2000) (Σχήμα- 1.4).



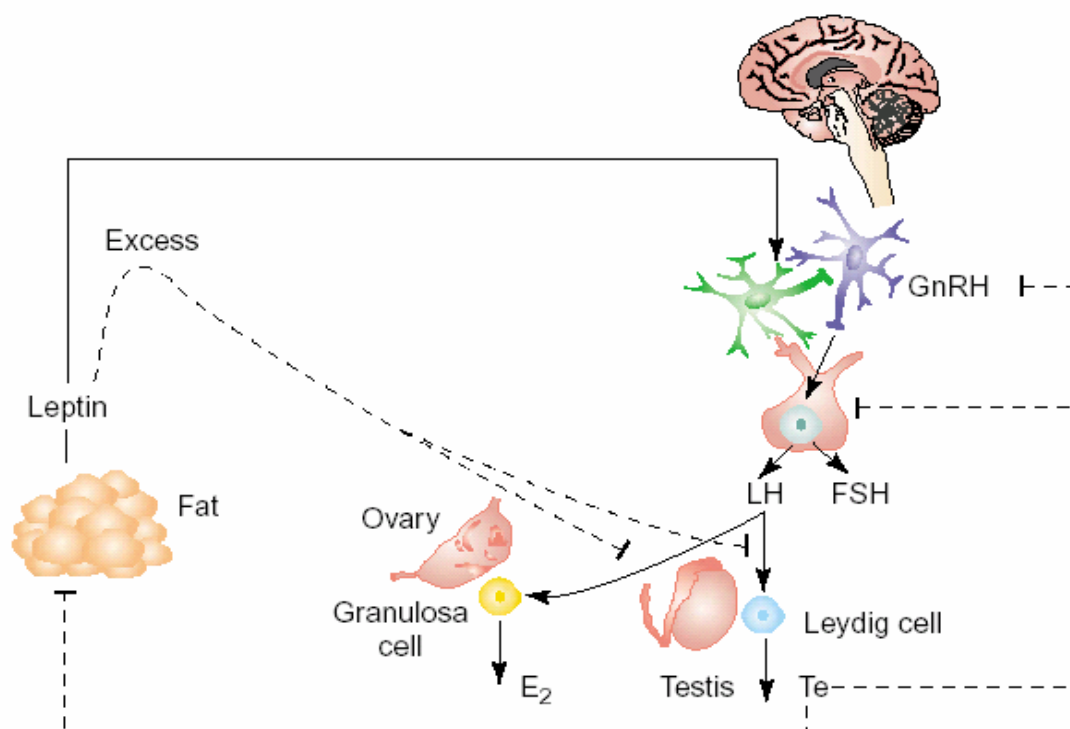
Σχήμα-1.3. Σχηματική παρουσίαση των δράσεων της λεπτίνης. Η λεπτίνη δρα είτε άμεσα είτε ενεργοποιώντας συγκεκριμένα κέντρα του κεντρικού νευρικού συστήματος, για να μειώσει την πρόσληψη τροφής, να αυξήσει την ενεργειακή κατανάλωση, να επηρεάσει το μεταβολισμό της γλυκόζης και του λίπους και να τροποποιήσει τη νευροενδοκρινική λειτουργία. (Μετάφραση από: Mantzoros CS. The role of leptin in human obesity and disease: A review of current evidence. *Ann Int Med* 1999 130: 671-680.)

Οι υποδοχείς της λεπτίνης που βρίσκονται στα νεφρά μεσολαβούν ενδεχομένως, στη διαδικασία της κάθαρσής της (Cumin F 1996), ενώ αυτοί που βρίσκονται στο ενδοθήλιο των τριχοειδών αγγείων του εγκεφάλου (Golden PL 1997) και στο χοριοειδές πλέγμα μεταφέρουν τη λεπτίνη από το αίμα στον εγκέφαλο και στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό, μέσω ενός συστήματος κορεσμού (Caro JF 1996, Schwartz MW 1996). Έχει βρεθεί ότι υπάρχει μία ουδός στα επίπεδα της λεπτίνης στον ορό (25-30 ng/ ml), πέρα από την οποία αυξήσεις στα επίπεδα του ορού δε μεταφράζονται σε ποσοστιαία αύξηση στα επίπεδα του εγκεφαλονωτιαίου υγρού ή του εγκεφάλου. Αυτό το γεγονός έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη αντίστασης στη λεπτίνη και επακόλουθη εμφάνιση παχυσαρκίας.



Σχήμα- 1.4. Σχηματική παρουσίαση των παλίνδρομων ρυθμίσεων που αφορούν στη λεπτίνη. ILs: ιντερλευκίνες, TNF-α: παράγοντας νέκρωσης των όγκων, IGF: αυξητικός παράγοντας της ινσουλίνης, GC: γλυκοκορτικοειδή. (Μετάφραση από: Mantzoros CS. The role of leptin in human obesity and disease: A review of current evidence. Ann Int Med 1999 130: 671-680.)

Όσον αφορά στην επίδραση της λεπτίνης στην ωρίμανση του αναπαραγωγικού συστήματος έχει εκφραστεί η άποψη ότι η λεπτίνη, αντανακλώντας τα αποθέματα λίπους του οργανισμού, δίνει σήμα σε νευροενδοκρινείς μηχανισμούς σχετικά με την ωρίμανση του αναπαραγωγικού συστήματος και την έναρξη της εφηβείας. Η σχέση ανάμεσα στο λίπος του σώματος και την έναρξη της εφηβείας στις γυναίκες, προτάθηκε για πρώτη φορά, πριν 30 χρόνια. Πιο πρόσφατες μελέτες αναφέρονται στην καθυστερημένη εφηβεία, η οποία παρατηρείται σε πολύ ισχνές μπαλαρίνες, καθώς και στην πρώιμη εφηβεία παχύσαρκων γυναικών, υποστηρίζοντας έτσι την αντίληψη ότι ένα μεταβολικό σήμα, που παράγεται πιθανώς από το λιπώδη ιστό, μπορεί να ελέγχει την έναρξη της αναπαραγωγικής λειτουργίας. Σύμφωνα με μελέτες τόσο σε πειραματόζωα όσο και σε ανθρώπους, είναι πλέον ξεκάθαρο πως η λεπτίνη δρα σε διάφορα σημεία του υποθαλαμο- υποφυσιακού- γοναδικού άξονα, συμπεριλαμβάνοντας διάφορους ιστούς και πολλαπλά βιοχημικά μονοπάτια. Η επίδραση της λεπτίνης στην αναπαραγωγική λειτουργία φαίνεται πως καθορίζεται από διάφορα κατώφλια, εξαρτώμενα από τα σημεία που ασκείται η δράση της (Σχήμα- 1.5).



Σχήμα- 1.5. Η λεπτίνη και ο λιπώδης ιστός αποτελούν συστηματικούς ρυθμιστές του υποθαλαμο-υποφυσιακού- γοναδικού άξονα. Η λεπτίνη δρα σε διάφορα σημεία της αναπαραγωγικής οδού, ασκώντας διαφορετικές επιδράσεις στην αναπαραγωγή, εξαρτώμενες από τις συγκεντρώσεις της στο αίμα. Το σύστημα κορεσμού που χαρακτηρίζει τη μεταφορά της λεπτίνης διαμέσου του αιματοεγκεφαλικού φραγμού, εμποδίζει υψηλές δόσεις λεπτίνης να φθάσουν στους υποδοχείς του υποθαλάμου, όπου η λεπτίνη ασκεί τη διεγερτική της δράση στην εκλυτική ορμόνη έκκρισης των γοναδοτροπινών (GnRH), η οποία με τη σειρά της προκαλεί την έκκριση των γοναδοτροπινών. Αντίθετα, υψηλές συγκεντρώσεις λεπτίνης είναι πιθανό να δράσουν στους περιφερικούς υποδοχείς της λεπτίνης και να ασκήσουν την ανασταλτική της δράση στη στεροειδογένεση, που λαμβάνει χώρα στους όρχεις και τις ωοθήκες. Η τεστοστερόνη (Te) δρα τελικά στο λιπώδη ιστό, αναστέλλοντας τη σύνθεση και έκκριση της λεπτίνης, κλείνοντας έτσι τη σύνθετη παλίνδρομη ρύθμιση ανάμεσα στη λεπτίνη και τον υποθαλαμο-υποφυσιακό-γοναδικό άξονα. (Από: Caprio M et al. Leptin in reproduction. Trends Endocrinol Metab 2001 12: 65-72.)

Η υπερλεπτιναιμία *in vivo* φαίνεται ότι διευκολύνει την έναρξη της ήβης, αλλά αν επιμένει χρόνια είναι πιθανό αργότερα να ρυθμίζει αρνητικά (downregulate) τα κεντρικά σήματα της λεπτίνης που διεγείρουν το αναπαραγωγικό σύστημα. Σε γυναίκες με νευρογενή ανορεξία, ο σοβαρός υποσιτισμός σχετίζεται με υπερβολικά μικρές συγκεντρώσεις λεπτίνης στο πλάσμα (<1,85 ng/ ml) και στο εγκεφαλονωτιαίο υγρό, χαμηλές συγκεντρώσεις γοναδοτροπινών, διαταραχή της έμμηνου ρύσης και αμμηνόρροια, οστεοπενία και μειωμένο

οστικό σχηματισμό (Grinspoon S 1996, Grinspoon S 2000). Παράλληλα, ο Laughlin και συν (1997) έδειξαν ότι αθλήτριες με σωματικό λίπος λιγότερο από 15% και/ ή λεπτίνη πλάσματος μικρότερη των 3ng/ml, βρίσκονται σε αυξημένο κίνδυνο για μειωμένη αναπαραγωγική λειτουργία, ενώ μελέτη σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες (Tataranni PA 1997) έδειξε ότι ανωορρηκτικοί κύκλοι μπορεί να συμβούν και σε υψηλότερο ποσοστό σωματικού λίπους (20%) και επίπεδα λεπτίνης (5ng/ml). Στους άντρες τα επίπεδα λεπτίνης αυξάνονται κατά 50% πριν την έναρξη της ήβης και μετά την εφηβεία τα επίπεδα τεστοστερόνης του ορού και το μέγεθος των όρχεων σχετίζονται αρνητικά με τα επίπεδα της λεπτίνης, ενώ στις γυναίκες τα επίπεδα οιστραδιόλης σχετίζονται θετικά με αυτά της λεπτίνης, αφού ληφθεί υπόψη και η λιπώδης μάζα.

Σύμφωνα με τα παραπάνω, είναι πιθανό ότι ένα μικρό εύρος συγκεντρώσεων λεπτίνης είναι απαραίτητο για τη διατήρηση της ομαλής αναπαραγωγικής λειτουργίας και στα δύο φύλα και ότι συγκεντρώσεις μεγαλύτερες ή μικρότερες από αυτά τα κατώφλια μπορεί να προκαλούν δυσλειτουργία στον υποθαλαμο- υποφυσιακό- γοναδικό άξονα.

1.6.1.3. Λεπτίνη και οστό

Με την ανακάλυψη των παραγόμενων από το λιπώδη ιστό πεπτιδίων, διατυπώθηκε η υπόθεση πως κάποια από τα πεπτίδια αυτά πιθανόν να είναι, εν μέρει, υπεύθυνα για την ευεργετική επίδραση του λιπώδους ιστού στην οστική μάζα. Οι πρώτες μελέτες αφορούσαν τη λεπτίνη, η οποία όπως έχει ήδη αναφερθεί, συμμετέχει σε διάφορα ενδοκρινικά μονοπάτια.

Μέχρι το 1999 που συντάχθηκε το πρωτόκολλο της παρούσας διατριβής, τα δεδομένα από τη βιβλιογραφία ήταν περιορισμένα. Συγκεκριμένα, υπήρχαν δύο δημοσιευμένες κλινικές μελέτες που ερευνούσαν τη συσχέτιση της κυκλοφορούσας λεπτίνης με την οστική πυκνότητα, σε γυναίκες μέσης ηλικίας (Goulding A 1998, Rauch F 1998). Σύμφωνα με την πρώτη μελέτη, η λεπτίνη συσχετιζόταν θετικά με την οστική πυκνότητα όλου του σώματος, μετά από διόρθωση ως προς τον παράγοντα της ηλικίας, αλλά δε βρέθηκε καμία συσχέτιση με βιοχημικούς δείκτες οστικού σχηματισμού και απορρόφησης. Οι συγκεκριμένοι ερευνητές συμπέραναν ότι η λεπτίνη δε μεσολαβεί στην προστατευτική δράση της παχυσαρκίας στο οστό. Αντίστοιχα και η άλλη ερευνητική ομάδα δεν βρήκε κάποια συσχέτιση ανάμεσα στη λεπτίνη και σε δείκτες οστικής πυκνότητας, οστικής γεωμετρίας και οστικού μεταβολισμού (Rauch F 1998). Αντίθετα με τις ανωτέρω κλινικές μελέτες ήταν τα ευρήματα μίας *in vivo* μελέτης σε ob/ob ποντίκια στα οποία, η χορήγηση

λεπτίνης είχε ως αποτέλεσμα σημαντική αύξηση των ιστολογικών δεικτών οστικού σχηματισμού (Liu C 1997).

Παράλληλα με τις *in vivo* μελέτες, υπήρχαν και κάποιες *in vitro* σύμφωνα με τις οποίες η λεπτίνη ασκούσε θετική επίδραση στους οστεοβλάστες. Αναλυτικότερα, η λεπτίνη αύξησε τον αριθμό των όζων μεταλλομένου οστού σε καλλιέργειες οστεοβλαστών μυώνων (Iwaniec UT 1998). Αντίστοιχα, η έκθεση στρωματικών κυττάρων ανθρώπινου μυελού σε λεπτίνη, τα οποία διαφοροποιούνται σε οστεοβλαστικές και λιποκυτταρικές σειρές, προήγαγε τη διαφοροποίηση σε οστεοβλάστες και ανέστειλε την κατεύθυνση των λιποκυττάρων (Thomas T 1999). Τέλος, χορήγηση λεπτίνης σε ινοβλάστες εμβρύων μυώνων, οι οποίοι διαφοροποιούνται σε μυϊκά κύτταρα, λιποκύτταρα και χονδροκύτταρα, προκάλεσε διέγερση του πολλαπλασιασμού τους, ανάλογη της δόσης της λεπτίνης (Takahashi Y 1997).

Στη συνέχεια πολλοί ερευνητές ασχολήθηκαν με την επίδραση της λεπτίνης στον οστίτη ιστό και τα έως τώρα δεδομένα είναι αντικρουόμενα, οδηγώντας στη διατύπωση δύο διαφορετικών θεωριών. Η μία θεωρία υποστηρίζει, ότι η λεπτίνη μεσολαβεί στην επίδραση του λιπώδους ιστού στον οστίτη ιστό διεγείροντας άμεσα την οστεογένεση. Λειτουργικοί υποδοχείς της λεπτίνης εκφράζονται σε στρωματικά κύτταρα του μυελού των οστών (Liu C 1997, Cornish J 2002, Reseland JE 2001), συμπεριλαμβανομένων των οστεοβλαστών, σε εμβρυϊκό οστεοχόνδρινο επίστρωμα ποντικών (murine fetal osteocartilaginous template) (Hoggard N 1997) και σε χονδροκύτταρα της αυξητικής πλάκας (growth plate chondrocytes) (Kume K 2000). Η χορήγηση λεπτίνης σε ob/ob ποντίκια, περιφερικά, προκάλεσε διέγερση της οστικής ανάπτυξης (Liu C 1997), ιδιαίτερα του φλοιώδους οστίτη ιστού (Thomas T 1999). Επιπρόσθετα, συνεχής ενδοπεριτοναϊκή έγχυση λεπτίνης σε ποντίκια που είχαν υποστεί ωοθηκεκτομή εμπόδισε μερικώς την απώλεια οστού (Burguera B 2001), ενώ ενδοπεριτοναϊκή έγχυση σε ακινητοποιημένα ποντίκια εμπόδισε πλήρως την οστική απώλεια που συνοδεύει την ακινησία (Thomas T 2001). Οι παραπάνω επιδράσεις της λεπτίνης πιθανόν να οφείλονται εν μέρει στην ικανότητά της να διεγείρει των πολλαπλασιασμό των προ-οστεοβλαστών, σύμφωνα με τα αποτελέσματα *in vitro* μελετών (Takahashi Y 1997), αλλά και στην ιδιότητά της να προάγει τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών εις βάρος των λιποκυττάρων (Iwaniec UT 1998, Thomas T 1999).

Παράλληλα, η λεπτίνη φαίνεται ότι είναι ικανή να αναστέλλει την οστεοκλαστογένεση, διεγείροντας την έκφραση της οστεοπρωτεγερίνης (Burguera B 2001, Holloway WR 2002) ή αναστέλλοντας την έκφραση του RANKL (Burguera B 2001), ενώ έχει βρεθεί ότι αναστέλλει και την έκφραση ενός ανταγωνιστή της ιντερλευκίνης-1, ο οποίος ευθύνεται για την απώλεια οστού σε καταστάσεις ανεπάρκειας οιστρογόνων (Gabay C 2001).

Η δεύτερη θεωρία αντίθετα, υποστηρίζει ότι η ευεργετική επίδραση της λιπώδους μάζας στον οστίτη ιστό μπορεί να οφείλεται σε αναστολή των δράσεων της λεπτίνης στο κεντρικό νευρικό σύστημα. Την υπόθεση αυτή υποστηρίζουν τα ευρήματα της μελέτης των Ducus και συν. σε ποντίκια με ανεπάρκεια λεπτίνης (ob/ob) ή του λειτουργικού υποδοχέα αυτής (db/db). Αν και τα δύο αυτά είδη ποντικών είναι παχύσαρκα και υπογοναδικά και παρουσιάζουν σε κάποια σημεία αυξημένη οστική μάζα, παρά τον υπογοναδισμό και την υπερκορτιζολαιμία που συνυπάρχουν (Ducus P 2000). Επιπρόσθετα, έγχυση λεπτίνης στην κοιλία του εγκεφάλου (ICV) ob/ob ποντικών διόρθωσε τον φαινότυπο της αυξημένης οστικής μάζας, ενώ προκάλεσε απώλεια οστού σε άγριου τύπου ποντίκια (wild type). Τέλος σε πείραμα παραβίωσης (σύνδεση του κυκλοφορικού συστήματος δύο ποντικών) σε ob/ob ποντίκια, μόνο το ποντίκι που λάμβανε ICV έγχυση λεπτίνης, μείωσε την οστική του μάζα, ενώ το άλλο δεν έχασε οστό, δείχνοντας ότι η ρύθμιση της λεπτίνης στο οστό γίνεται κεντρικά και όχι μέσω διαλυτού παράγοντα (Takeda S 2002). Σύμφωνα με αυτήν την υπόθεση, οι παραπάνω αρνητικές επιδράσεις της λεπτίνης στον οστίτη ιστό δεν ασκούνται στα παχύσαρκα άτομα, λόγω μη φυσιολογικής μεταφοράς της λεπτίνης στο κεντρικό σύστημα και αντίστασης στην λεπτίνη.

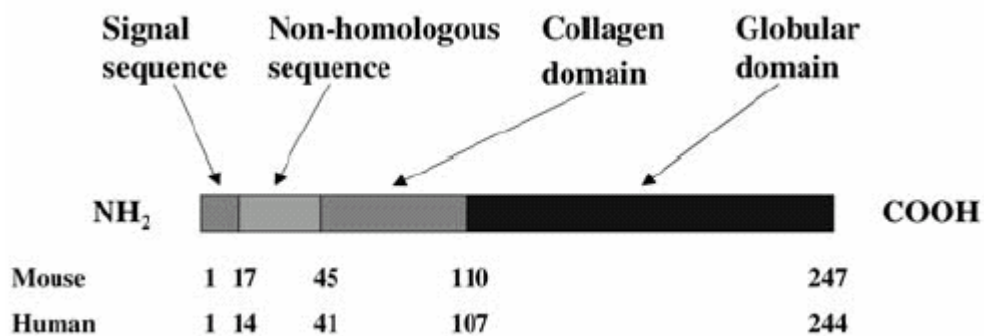
1.6.2. Αντιπονεκτίνη

Η αντιπονεκτίνη αναγνωρίστηκε στα μέσα της δεκαετίας του '90 από τέσσερις ανεξάρτητες ερευνητικές ομάδες, οι οποίες χρησιμοποίησαν διαφορετικές μεθόδους. Η πρωτεΐνη που αντιστοιχεί στο cDNA της αντιπονεκτίνης στα ποντίκια ονομάστηκε Acrp30 (adipocyte complement-related protein) και πρόκειται για μία πρωτεΐνη 30 kDa και 247 αμινοξέων (Scherer PE 1995) (Σχήμα- 1.6). Αντίστοιχα στους ανθρώπους η αντιπονεκτίνη απομονώθηκε από το πλάσμα ως πρωτεΐνη δεσμεύουσα τη ζελατίνη (gelatin binding protein- GBP28) και πρόκειται για μία πρωτεΐνη 28 kDa και 244 αμινοξέων (Nakano Y 1996) (Σχήμα- 1.6, Εικ. 1.2). Το μόριο της ανθρώπινης αντιπονεκτίνης (Εικόνα- 1.2) έχει κοινά στοιχεία με αυτό του τύπου VIII και X κολλαγόνου, της πρωτεΐνης του συμπληρώματος C1q, καθώς και του TNFα (Shapiro L 1998, Beltowski J 2003) .

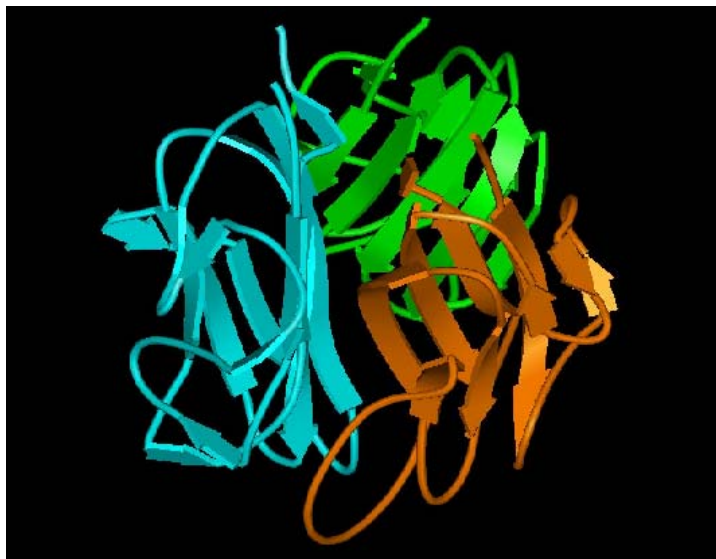
1.6.2.1. Ρύθμιση της έκφρασης και σύνθεσης της αντιπονεκτίνης

Η αντιπονεκτίνη βρίσκεται σε αφθονία στο πλάσμα και καλύπτει το 0.05% των συνολικών πρωτεϊνών του πλάσματος στους μύνες και το 0.01% στους ανθρώπους, με τις συγκεντρώσεις της στο ανθρώπινο πλάσμα να κυμαίνονται στα 5-30 µg/ ml (Stefan N

2002). Όπως συμβαίνει και με άλλες λιποκυτταροκίνες, όπως η λεπτίνη και ο TNF α, η έκφραση και έκκριση της αντιπονεκτίνης ρυθμίζεται από άλλες ορμόνες (Σχήμα- 1.7). Πιο



Σχήμα – 1.6. Η δομή της αντιπονεκτίνης και ο αριθμός των αμινοξέων της στα ποντίκια και στους ανθρώπους. (Από: Ukkola O, Santaniemi M. Adiponectin: a link between excess adiposity and associated comorbidities? J Mol Med 2002 80: 696-702.)



Εικόνα- 1.2. Τρισδιάστατη παρουσίαση του μορίου της αντιπονεκτίνης.
(Από: www.ncbi.nlm.nih.gov/structure).

συγκεκριμένα βραχυχρόνια διέγερση με ινσουλίνη αυξάνει την έκφραση του γονιδίου της αντιπονεκτίνης και την έκκρισή της σε καλλιέργειες λιποκυττάρων, ενώ τόσο η ινσουλίνη όσο και ο IGF- 1 αυξάνουν τη σύνθεση της αντιπονεκτίνης *in vitro* (Stefan N 2002).

Εντούτοις, πρόσφατα αναφέρθηκε ότι η ινσουλίνη προκάλεσε μείωση στην μεταγραφή (transcription) του γονιδίου της αντιπονεκτίνης μετά από διέγερση 16 ωρών *in vitro* (Fasshauer M 2002). Στη συγκεκριμένη μελέτη δε μετρήθηκε η έκκριση της αντιπονεκτίνης και συνεπώς επειδή μπορεί να υπάρχουν διαφορές στην επίδραση της ινσουλίνης στη μεταγραφή γονιδίων και στην έκκριση της πρωτεΐνης, τα αποτελέσματα πρέπει να ερμηνεύονται με προσοχή. Επιπρόσθετα πρέπει να τονιστεί ότι οι μελέτες *in vitro* δεν αντανakλούν αναγκαστικά τις διαδικασίες *in vivo*.

Η μεταγραφή του γονιδίου της αντιπονεκτίνης μειώνεται μετά από διέγερση με TNF α και γλυκοκορτικοειδή, ενώ οι β- αδρενεργικοί αγωνιστές και το διβουτυριλο-κυκλικό AMP (dibutyl-AMP) μειώνουν και τη μεταγραφή του γονιδίου, αλλά και την έκκριση της αντιπονεκτίνης (Stefan N 2002). Τέλος, οι πυρηνικοί ορμονικοί υποδοχείς PPAR, συμμετέχουν στη ρύθμιση της σύνθεσης της αντιπονεκτίνης. Οι θειαζολιδινεδιόνες (thiazolidinediones), που είναι αγωνιστές των PPARγ διεγείρουν την έκφραση του γονιδίου της αντιπονεκτίνης και αυξάνουν τα επίπεδα της κυκλοφορούσας αντιπονεκτίνης σε παχύσαρκα ποντίκια, αλλά και παχύσαρκους ανθρώπους με αντίσταση στην ινσουλίνη (Maeda N 2001). Επειδή η αντιπονεκτίνη βελτιώνει την ανοχή στη γλυκόζη αυξάνοντας την ευαισθησία στην ινσουλίνη, η επίδραση των θειαζολιδινεδιονών στην αντιπονεκτίνη μπορεί εν μέρει να εξηγήσει την υπογλυκαιμική δράση των φαρμάκων αυτών σε ασθενείς με σακχαρώδη διαβήτη τύπου II (Beltowski J 2003).

Μέχρι στιγμής έχουν αναγνωριστεί δύο υποδοχείς της αντιπονεκτίνης (Yamauchi T 2003). Ο ένας εκφράζεται κυρίως στους σκελετικούς μύες (ADIPOR1) και ο δεύτερος στο ήπαρ (ADIPOR2). Όσον αφορά στον καταβολισμό της αντιπονεκτίνης του πλάσματος, δεν υπάρχουν πολλά δεδομένα, εντούτοις οι νεφροί είναι πιθανό να συμμετέχουν σε αυτήν τη διαδικασία, γιατί οι συγκεντρώσεις της αντιπονεκτίνης αυξάνονται σημαντικά σε άτομα με προχωρημένη νεφρική ανεπάρκεια (Zoccali C 2002).

Υπάρχει ξεκάθαρη σχέση ανάμεσα στην αντιπονεκτίνη και τη λιπώδη μάζα στους ανθρώπους, αλλά αντίθετα με τη λεπτίνη, τα επίπεδα αντιπονεκτίνης μειώνονται σημαντικά στους παχύσαρκους, καθιστώντας έτσι την αντιπονεκτίνη ως την πρώτη, μέχρι στιγμής, πρωτεΐνη του λιπώδους ιστού που συσχετίζεται αρνητικά με την παχυσαρκία. Η απώλεια σωματικού βάρους προκαλεί αύξηση των επιπέδων αντιπονεκτίνης, γεγονός που προτείνει την ύπαρξη μίας αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης ανάμεσα στο λιπώδη ιστό και την παραγωγή αντιπονεκτίνης στους ανθρώπους (Diez JJ 2003). Όπως συμβαίνει και με τη λεπτίνη, οι συγκεντρώσεις της αντιπονεκτίνης φαίνεται να εξαρτώνται από το φύλο, με τις γυναίκες να παρουσιάζουν υψηλότερες συγκεντρώσεις από τους άντρες. Επιπρόσθετα, τα επίπεδα αντιπονεκτίνης δε είναι μειωμένα μόνο στην περίπτωση της παχυσαρκίας, αλλά και

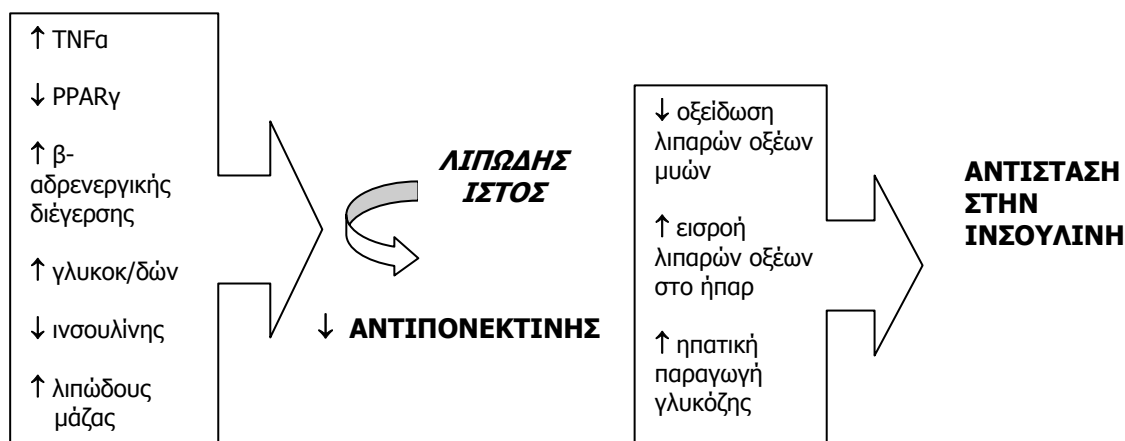
σε ασθενείς με νοσήματα συχνά συσχετιζόμενα με την παχυσαρκία, όπως ο τύπου II σακχαρώδης διαβήτης και η στεφανιαία νόσος.

1.6.2.2. Δράσεις της αντιπονεκτίνης

Οι αρχικές πληροφορίες για τη δράση της αντιπονεκτίνης προέκυψαν από μελέτες που ερευνούσαν τους μηχανισμούς της φλεγμονής, δείχνοντας ότι καταστέλλει τον επαγόμενο από τον TNF- α πυρηνικό μεταγραφικό παράγοντα- κB (TNF- α induced nuclear transcription factor- κB). Αυτό το μονοπάτι κατέχει κεντρικό ρόλο στην εκδήλωση της φλεγμονής, προάγοντας την έκφραση πολλών μορίων όπως της μυελοπεροξειδάσης, της συνθετάσης-2 του νιτρικού οξέος, της κυκλοοξυγενάσης -2, του TNF, της IL-1 και προσκολλητικών μορίων (VCAM-1) (Hansson GK 2001). Η αντιπονεκτίνη καταστέλλει επίσης το μετασχηματισμό των μακροφάγων σε αφρώδη κύτταρα, που είναι ένα ακόμη σημαντικό βήμα της παθογένεσης της αθηροσκλήρωσης (Stefan N 2002) και ασκεί και μία ανασταλτική δράση στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων των λείων μυϊκών ινών των αγγείων, ο οποίος επάγεται από διάφορους αυξητικούς παράγοντες (Ukkola O 2002). Τα αποτελέσματα επιδημιολογικών ερευνών έχουν επίσης συσχετίσει την αντιπονεκτίνη με την ανάπτυξη αθηροσκληρωτικής αγγειακής νόσου, δείχνοντας ότι οι συγκεντρώσεις της πρωτεΐνης στο πλάσμα ασθενών με στεφανιαία νόσο, είναι σημαντικά χαμηλότερες από ότι σε υγιείς μάρτυρες (Ouchi N 1999), υποστηρίζοντας την άποψη ότι η αντιπονεκτίνη μπορεί να προστατεύει με κάποιο τρόπο από την αθηροσκλήρωση.

Επιπρόσθετα, υπάρχουν ολόένα και περισσότερες ενδείξεις που υποστηρίζουν την άποψη ότι η αντιπονεκτίνη αποτελεί σημαντικό ρυθμιστή της ευαισθησίας στην ινσουλίνη. Πειράματα σε ζώα έχουν δείξει ότι μειωμένη έκφραση αντιπονεκτίνης σχετίζεται με ινσουλινοαντίσταση και ότι αυτή αναστρέφεται με χορήγηση αντιπονεκτίνης (Yamauchi T 2001). Στους ανθρώπους έχει παρατηρηθεί μία αρνητική συσχέτιση ανάμεσα στα επίπεδα αντιπονεκτίνης στο πλάσμα και τα επίπεδα ινσουλίνης νηστείας/ αντίσταση στην ινσουλίνη (Gavrilu A 2003). Οι μηχανισμοί που πιθανόν να εξηγούν τη δράση της αντιπονεκτίνης στο μεταβολισμό της ινσουλίνης συνοψίζονται παρακάτω. Η αντιπονεκτίνη επάγει την έκφραση μορίων που εμπλέκονται στην οξειδωση των λιπαρών οξέων και την έκλυση ενέργειας στους σκελετικούς μύες, οδηγώντας σε μείωση των περιεχόμενων τριγλυκεριδίων στους μύες αυτούς. Παράλληλα, η αντιπονεκτίνη καταστέλλει την εισροή λιπαρών οξέων στο ήπαρ και μειώνει τη νεογλυκογένεση (Ukkola O 2002) (Σχήμα- 1.7).

Όλες οι παραπάνω μεταβολικές διαδικασίες διαταράσσονται σε καταστάσεις που χαρακτηρίζονται από χαμηλά επίπεδα αντιπονεκτίνης, όπως η παχυσαρκία και ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου II, οδηγώντας στην εμφάνιση αντίστασης στην ινσουλίνη.



Σχήμα – 1.7. Ρυθμιστές της έκκρισης της αντιπονεκτίνης και προτεινόμενοι μηχανισμοί της σχέσης της υποαντιπονεκτιναιμίας με την αντίσταση στην ινσουλίνη. (Μετάφραση από: Ukkola O, Santaniemi M. Adiponectin: a link between excess adiposity and associated comorbidities? J Mol Med 2002 80: 696-702).

1.6.2.3. Αντιπονεκτίνη και οστό

Δεν υπάρχουν πειραματικές μελέτες *in vivo* ή *in vitro* που να διερευνούν την πιθανή συσχέτιση ανάμεσα στην αντιπονεκτίνη και την οστική μάζα. Όσον αφορά επιδημιολογικά δεδομένα, συγχρόνως με την παρούσα εργασία δημοσιεύθηκε και άλλη μία μελέτη (Lenchik L 2003), η οποία συμπεριέλαβε 42 άνδρες και 38 γυναίκες, με μεγάλο ηλικιακό εύρος (39-81 έτη), το 86% των οποίων είχε σακχαρώδη διαβήτη τύπου II. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των ερευνητών αυτών, η αντιπονεκτίνη φάνηκε να συσχετίζεται αρνητικά με την οστική πυκνότητα μετά από διόρθωση ως προς τους παράγοντες ηλικία, φύλο, φυλή, κάπνισμα και παρουσία διαβήτη. Λόγω της ανομοιομορφίας του δείγματος, της παρουσίας σακχαρώδους διαβήτη, που επηρεάζει τόσο την οστική πυκνότητα, όσο και τα επίπεδα αντιπονεκτίνης και της χρήσης διαφόρων φαρμακευτικών σκευασμάτων (ινσουλίνης, οιστρογόνων, γλυκοκορτικοειδών, θυρεοειδικών ορμονών, θειαζιδών και στατινών), τα οποία δεν ελήφθησαν υπόψη κατά την πραγματοποίηση των συσχετίσεων, η εξαγωγή συμπερασμάτων είναι επισφαλής.

2. ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2.1. ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας διατριβής είναι να διερευνήσει εάν η θετική επίδραση του λιπώδους ιστού στην οστική μάζα περιεμμηνόπαυσιακών γυναικών, οφείλεται εν μέρει, στη δράση κάποιων ορμονών που παράγονται από αυτόν και συγκεκριμένα της λεπτίνης ή/ κ' της αντιπονεκτίνης.

2.2. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η λιπώδης μάζα αποτελεί καθοριστικό παράγοντα της οστικής πυκνότητας, αλλά οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στη σχέση αυτή παραμένουν αβέβαιοι. Η λεπτίνη και η αντιπονεκτίνη, ως κυκλοφορούντα πεπτίδια παραγόμενα από το λιπώδη ιστό, μεσολαβούν πιθανόν στην παραπάνω σχέση. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση του πιθανού ρόλου της λεπτίνης και της αντιπονεκτίνης ως διαμεσολαβητές των επιδράσεων της λιπώδους μάζας στο σκελετό περιεμμηνοπαυσιακών γυναικών.

Το δείγμα της μελέτης αποτελούνταν από 84 περιεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με εύρος ηλικιών 42 – 68 έτη. Από αυτές, 55 ήταν μετεμμηνοπαυσιακές, με μέσο χρόνο εμμηνόπαυσης 3,3 έτη. Με τη μέθοδο της απορροφησιμετρίας ακτίνων- Χ διπλής ενέργειας (DXA), μετρήθηκε η οστική πυκνότητα στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης (BMD_{02-04}), καθώς και η ολική περιεκτικότητα των οστών σε ανόργανα στοιχεία (TB BMC). Οι συγκεντρώσεις της λεπτίνης προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο ELISA και της αντιπονεκτίνης με τη ραδιοανοσολογική μέθοδο (RIA). Επιπρόσθετα εκτιμήθηκαν η σύσταση σώματος, με τη μέθοδο της Βιοηλεκτρικής Εμπέδησης (BIA) και οι συγκεντρώσεις διαφόρων ορμονών.

Για να εκτιμήσουμε το σωματικό λίπος των ατόμων με τη μέθοδο BIA και λόγω έλλειψης κάποιας δημοσιευμένης εξίσωσης για την εκτίμηση της σύστασης σώματος περιεμμηνοπαυσιακών γυναικών, ελληνικής καταγωγής, αναπτύξαμε μία νέα εξίσωση και στη συνέχεια ελέγξαμε την αξιοπιστία της, σε ένα τυχαίο δείγμα 60 γυναικών, ηλικιακού εύρους 42 – 65 ετών. Ως μέθοδος αναφοράς χρησιμοποιήθηκε η DXA.

Η νέα εξίσωση που αναπτύχθηκε για την εκτίμηση της FFM ήταν η ακόλουθη:
 $FFM (kg) = 17,825 + 0,380 (\psi\sigma\varsigma^2 / R) + 0,172 \times \beta\acute{\alpha}\rho\omicron\varsigma - 0,156 \times \eta\lambda\iota\kappa\iota\alpha$
και ερμήνευε το 88.4% της διακύμανσης της άλιπης μάζας σώματος ($R^2 = 0,884$), με τυπικό σφάλμα εκτίμησης (SEE) ίσο με 1,89 kg. Σύμφωνα με τον έλεγχο αξιοπιστίας, το συστηματικό σφάλμα (bias) στην εκτίμηση της FFM δεν ήταν στατιστικά σημαντικό ($p = 0,281$) και τα όρια συμφωνίας (limits of agreement) ($\pm 2 SD$) ήταν αποδεκτής αξιοπιστίας.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η λεπτίνη συσχετιζόταν αρνητικά με την BMD_{02-04} ($\beta = -0,005$, $p = 0,027$) και την TB BMC ($\beta = -14,32$ $p = 0,013$). Η παραπάνω συσχέτιση ήταν σημαντική μόνο όταν τα επίπεδα ινσουλίνης συμπεριλαμβάνονταν στις ανεξάρτητες μεταβλητές των υποδειγμάτων της πολλαπλής παλινδρόμησης. Η αντιπονεκτίνη δε παρουσίαζε σημαντική συσχέτιση με την BMD_{02-04} ή την TB BMC, τόσο κατά την παρουσία, αλλά και την απουσία της ινσουλίνης από τις ανεξάρτητες μεταβλητές.

Συμπερασματικά, οι ορμόνες του λιπώδους ιστού, λεπτίνη και αντιπονεκτίνη δε φαίνεται να συνεισφέρουν ως διαμεσολαβητές της θετικής επίδρασης του λίπους στην οστική μάζα, στις περιεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Η αντιπονεκτίνη φαίνεται πως δεν ασκεί καμία

επίδραση στην οστική μάζα, ενώ η αρνητική συσχέτιση ανάμεσα στη λεπτίνη και την οστική μάζα μπορεί να αποδοθεί σε μία περίπλοκη αλληλουχία γεγονότων και αλληλεπιδράσεων μεταξύ των ορμονών, του συμπαθητικού συστήματος και της κατανομής του σωματικού λίπους, που σημειώνονται σε αυτήν την περίοδο της ζωής των γυναικών και όχι μόνο στο σωματικό λίπος.

SUMMARY

Fat mass is an important determinant of bone density, but the mechanism involved in this relation is uncertain. Leptin and adiponectin, as circulating peptides of adipocyte origin, are potential contributors to this relation. The aim of the present study was to investigate the potential role of leptin and adiponectin in mediating fat mass effects on the skeleton of perimenopausal women.

The sample of the present study was composed of 84 perimenopausal women, with age range 42 – 68 years. Fifty five women were postmenopausal with mean years since menopause 3.3 y. Lumbar spine bone mineral density (BMD_{L2-L4}) and total body bone mineral content (TBBMC) were measured with Dual X-ray absorptiometry, leptin levels with enzyme – linked immunosorbent assay (ELISA) and adiponectin levels with radioimmunoassay (RIA). Additionally, the body composition of the participants was estimated with BIA method, and several hormones were measured.

Due to lack of a published equation for the prediction of Greek, perimenopausal women's body composition, we developed and validated a new equation, in a random sample of 60 Greek women, with age range 42 – 65 years. Dual X- ray absorptiometry was used as the reference method.

The new equation that was developed for the estimation of FFM was the following:
$$FFM (kg) = 17,825 + 0,380 (\text{height}^2 / \text{Resistance}) + 0,172 \times \text{weight} - 0,156 \times \text{age}$$
and explained the 88.4% of FFM variation ($R^2 = 0.884$), with a standard error of estimate (SEE) equal to 1.89 kg. According to the validation, the bias of FFM estimation was not statistically significant ($p = 0.281$) and the limits of agreement ($\pm 2SD$) of acceptable validity.

According to the results of the study, it was shown that serum leptin levels were negatively correlated with BMD ($\beta = -0.005$, $p = 0.027$) and TBBMC ($\beta = -14.32$, $p = 0.013$). The above correlation was observed only when serum insulin levels were included, as an independent variable, in the regression analysis model. Adiponectin was not significantly correlated with BMD_{L2-L4} nor with TBBMC, either in the presence or absence of insulin.

In conclusion, the adipocyte hormones leptin and adiponectin do not seem to contribute as fat mediators to increased bone mass, in perimenopausal women. Adiponectin does not appear to exert any effect on bone mass, while the negative correlation among leptin and bone mass may be attributed to a more complicated circuit of events between hormones, sympathetic system and fat distribution, during this period of women's life, rather than to the body fat content only.

2.3. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

2.3.1. Οστική πυκνομετρία

Απορροφησιομετρία ακτίνων- Χ διπλής ενέργειας

Η απορροφησιομετρία ακτίνων- Χ διπλής ενέργειας (DXA) είναι μία σχετικά νέα τεχνική, εξέλιξη της απορροφησιομετρίας φωτονίων διπλής ενέργειας (DPA), η οποία προσφέρει τη δυνατότητα ποσοτικής μέτρησης των οστών και των μαλακών ιστών ολόκληρου του σώματος ή περιοχών αυτού (π.χ. ισχίο, σπονδυλική στήλη- ΣΣ) (Mazess RB 1990). Στη μέθοδο DXA οι ραδιενεργές πηγές έχουν αντικατασταθεί με λυχνίες ακτίνων- Χ υψηλής τεχνολογίας και με την παρεμβολή ειδικών φίλτρων επιτυγχάνεται η παραγωγή φωτονίων που ανήκουν σε δύο μόνο λεπτές ενεργειακές περιοχές (δichρωματική δέσμη ακτίνων- Χ) (Δημητρίου ΠΑ 1993). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα μειωμένο χρόνο σάρωσης, μεγαλύτερη ακρίβεια στη μέτρηση, καλύτερη ανάλυση της εικόνας και ευκολότερη συντήρηση των σαρωτών.

Η ακρίβεια της μεθόδου (accuracy %) εξαρτάται από την περιοχή της σάρωσης και το σφάλμα κυμαίνεται στο 2% για τη σάρωση όλου του σώματος και στο 4-8% για τις περιοχές της ΣΣ (προσθιοπίσθια σάρωση) και του ισχίου. Όσον αφορά στην επαναληψιμότητα της μεθόδου (precision %) το σφάλμα αυτής κυμαίνεται στο 1% για τη σάρωση όλου του σώματος, στο 1-2% για την προσθιοπίσθια σάρωση της ΣΣ και στο 1-3% για το ισχίο (Lees B 1992). Η καλή ακρίβεια και επαναληψιμότητα της μεθόδου, καθώς και η μικρή ποσότητα ακτινοβολίας (Albanese CV 2003) (12 μSv κατά τη σάρωση της ΣΣ και 0,2 μSv κατά την γρήγορη ολοσωματική σάρωση, σε αντίθεση με μία ακτινογραφία θώρακος που έχει ακτινοβολία ίση με 50 μSv , αλλά και την ετήσια δόση της κοσμικής ακτινοβολίας που ανέρχεται στα 2400 μSv) κατέστησαν την DXA ως την πλέον συχνή μέθοδο εκτίμησης της οστικής μάζας και πυκνότητας, με τη σάρωση της ΣΣ και του ισχίου ως τις πιο αξιόπιστες μετρήσεις για τη διάγνωση της οστεοπενίας/ οστεοπόρωσης.

Η μέθοδος της απορροφησιομετρίας βασίζεται στη μέτρηση του ποσοστού εξασθένισης της δέσμης ακτινοβολίας που εισάγεται στους ιστούς του σώματος. Σε κάθε σημείο του σώματος μετράται η εξασθένιση της δέσμης χωριστά για κάθε μία από τις δύο ενέργειες. Στην περίπτωση των οστών η εξασθένιση εξαρτάται από την περιεκτικότητά τους σε μεταλλικά άλατα.

Τα στοιχεία για την οστική πυκνότητα (BMD), που δίνονται από το λογισμικό της μεθόδου, εκφράζονται ως g/cm^2 , αλλά και ως ποσοστά συγκρινόμενα με έναν πληθυσμό ίδιου φύλου, ηλικίας, βάρους και εθνικότητας ή ως τυπικές αποκλίσεις από τον μέσο της

κορυφαίας οστικής μάζας (T- score) και από τον μέσο όρο της οστικής μάζας, ατόμων της ίδιας ηλικίας (Z- score). Στην ολοσωματική σάρωση το λογισμικό δίνει στοιχεία μόνο για την ολική περιεκτικότητα των οστών σε ανόργανα στοιχεία (TB BMC), εκφρασμένη σε γραμμάρια. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO 1994) πρότεινε η οστεοπόρωση να ορίζεται με βάση τις μετρήσεις της οστικής μάζας. Έτσι, σε κάθε άτομο που έχει οστική πυκνότητα, τουλάχιστο 2,5 τυπικές αποκλίσεις χαμηλότερη από το μέσο όρο της κορυφαίας οστικής μάζας νεαρών φυσιολογικών γυναικών, τίθεται η διάγνωση οστεοπόρωσης. Τιμή οστικής πυκνότητας μεταξύ 1- 2,5 τυπικών αποκλίσεων κάτω από το μέσο όρο της κορυφαίας οστικής ορίζεται ως χαμηλή οστική μάζα ή οστεοπενία.

Στα κεφάλαια 2.4.2. και 2.5.2. περιγράφονται λεπτομερώς οι μετρήσεις οστικής πυκνότητας που πραγματοποιήθηκαν για τις ανάγκες της παρούσας μελέτης.

2.3.2. Σύσταση σώματος

Απορροφησιομετρία ακτίνων- Χ διπλής ενέργειας

Εκτός από την εκτίμηση της οστικής πυκνότητας η μέθοδος DXA έχει χρησιμοποιηθεί και ως μέθοδος μέτρησης της σύστασης των μαλακών ιστών (λιπώδους και ισχνής μάζας) ολόκληρου του σώματος. Στην περίπτωση αυτή η χρήση της μεθόδου βασίζεται στον λόγο της εξασθένησης των ακτίνων υψηλής και χαμηλής ενέργειας, καθώς περνούν μέσα από το σώμα, γνωρίζοντας τις τιμές εξασθένησης που προκαλεί το καθαρό λίπος και ο ελεύθερος οστών μυϊκός ιστός, από θεωρητικούς υπολογισμούς και *in vitro* μετρήσεις (Jebb SA 1997).

Το σφάλμα στην ακρίβεια και την επαναληψιμότητα της DXA στην εκτίμηση της άλιπης μάζας σώματος υπολογίζεται στο 1-4% και 1,5% αντίστοιχα, ενώ στην εκτίμηση της λιπώδους μάζας το σφάλμα στην ακρίβεια είναι περίπου 5% και στην επαναληψιμότητα 2-3% (Ellis KJ 2001). Η μέθοδος DXA παρέχει τη δυνατότητα απεικόνισης της σύστασης σώματος και υπολογισμού της ισχνής και της λιπώδους μάζας στα διάφορα μέρη του σώματος και χρησιμοποιείται πλέον ευρύτατα στην κλινική πράξη, αλλά και σε ερευνητικές μελέτες για την εκτίμηση του λιπώδους, του μυϊκού και του οστικού ιστού, σε διάφορες ομάδες πληθυσμού. Παράλληλα η μέθοδος DXA χρησιμοποιείται και για τον έλεγχο αξιοπιστίας (validation) άλλων μεθόδων εκτίμησης της σύστασης σώματος (π.χ. της μεθόδου της βιοηλεκτρικής εμπέδησης) (ενδεικτικά αναφέρονται: Roubenoff R 1997, Jakicic JM 1998, Yannakoulia M 2000, Kyle UG 2001, Desport JC 2003).

Οι περιορισμοί της μεθόδου οφείλονται στις υποθέσεις στις οποίες βασίζεται, η κυριότερη από τις οποίες είναι ότι η ισχνή μάζα σώματος έχει σταθερή ενυδάτωση και περιεχόμενο ηλεκτρολυτών. Έτσι ενώ ένα εύρος ενυδάτωσης της ισχνής μάζας σώματος

από 68,2% έως 78,2% δε μεταβάλλει σημαντικά το ποσοστό λίπους, καταστάσεις κατακράτησης ύδατος, όπως ο ασκίτης και το οίδημα μπορεί να επηρεάσουν σημαντικά τις μετρήσεις (Genton L 2002).

Οι σαρωτές DXA και των τριών κατασκευαστών υπερεκτιμούν ελαφρώς τη λιπώδη μάζα και υποεκτιμούν την ισχνή, όταν συγκρίνονται με πολυδιαμερισματικά υποδείγματα (multicompartment models), σε δείγματα υγιών και ασθενών (Genton L 2002, Wang ZM 1998). Οι εκτιμήσεις των πρόσφατων λογισμικών διαφέρουν 1-3% στην εκτίμηση του σωματικού λίπους από τα πολυδιαμερισματικά υποδείγματα (Lohman TG 2000). Εντούτοις, προβλήματα αντιμετωπίζονται στην εκτίμηση της σύστασης σώματος πολύ παχυσάρκων ατόμων ($ΔΜΣ > 40$) γιατί συχνά δεν μπορούν να τοποθετηθούν στην επιφάνεια σάρωσης, λόγω βάρους και σωματικού όγκου (Das SK 2003). Τα τεχνικά λάθη στην εκτίμηση της σύστασης σώματος με τη DXA, μπορούν να διαπιστωθούν όταν το σωματικό βάρος, όπως προκύπτει από την πρόσθεση των τριών τμημάτων (λίπους, ισχνής και οστικής μάζας), διαφέρει > 1 kg από το σωματικό βάρος που μετράει η ζυγαριά και οδηγούν σε ανακριβή εκτίμηση της σύστασης σώματος και αλλαγών αυτής (Lohman TG 2000). Σε ότι αφορά την εκτίμηση του σωματικού λίπους, η μέθοδος DXA δεν παρουσιάζει σημαντικές διαφορές από την υποβρύχια ζύγιση, τόσο σε υψηλά όσο και σε χαμηλά ποσοστά σωματικού λίπους και συσχετίζεται σημαντικά με αυτή ($r \approx 0,95$) ακόμα και σε προχωρημένη ηλικία, οπότε και αυξάνει το κεντρικό λίπος (Dalsky GP 1990, Hansen NJ 1993, Kohrt WM 1998).

Μέθοδος Βιοηλεκτρικής Εμπέδησης

Η σύνθετη αντίσταση ή εμπέδηση Z (impedance), συνίσταται από την αντίσταση R (Resistance) και την άεργη αντίσταση X_c (Reactance), χωρητικού χαρακτήρα. Η αντίσταση R αποτελεί την πραγματική αντίσταση του αγωγού στη ροή του ρεύματος και είναι το αντίστροφο της αγωγιμότητας, ενώ η άεργη αντίσταση ορίζεται ως το αντίστροφο της χωρητικότητας του πυκνωτή. Η σχέση των Z , R και X_c εκφράζεται μαθηματικά με τον τύπο: $Z = (R^2 + X_c^2)^{1/2}$ (Chumlea WC 1994).

Στον ανθρώπινο οργανισμό οι ιστοί που είναι πλούσιοι σε νερό και ηλεκτρολύτες (αίμα, μυς, εγκεφαλονωτιαίο υγρό) είναι εξαιρετικά αγωγιμοί, ενώ ο λιπώδης ιστός, τα οστά και οι χώροι που περιέχουν αέρια, όπως οι πνεύμονες, δεν έχουν αυτήν την ιδιότητα. Επομένως η αντίσταση που μετράται είναι περίπου αντίστοιχη με αυτή του μυϊκού ιστού, αφού η αγωγιμότητα του σώματος είναι συνάρτηση της περιεκτικότητάς του σε νερό και ηλεκτρολύτες. Αντίθετα, η άεργη αντίσταση, παράγεται στις κυτταρικές μεμβράνες, οι οποίες έχουν ρόλο πυκνωτών. Το ηλεκτρικό ρεύμα που εφαρμόζεται σε ένα σώμα ακολουθεί πάντα την οδό που έχει τη μικρότερη αντίσταση και τη μεγαλύτερη αγωγιμότητα.

Κατά τη μέθοδο της Βιοηλεκτρικής Εμπέδησης (BIA) μικρής έντασης εναλλασσόμενο ηλεκτρικό ρεύμα (συχνότητας συνήθως 50 kHz) εφαρμόζεται στο ανθρώπινο σώμα και μετράται η αντίσταση και η χωρητική αντίσταση. Η επαναληψιμότητα των μετρήσεων εξαρτάται από την ακρίβεια της συσκευής μέτρησης, αλλά και από διάφορους βιολογικούς παράγοντες. Οι διακυμάνσεις από μέρα σε μέρα εξαρτώνται από την ενυδάτωση του σώματος, τη διαιτητική πρόσληψη, το επίπεδο σωματικής δραστηριότητας και το χρονικό διάστημα που το άτομο είναι ξαπλωμένο (Kushner RF 1996).

Η ακρίβεια των αποτελεσμάτων της BIA εξαρτάται και από την εξίσωση εκτίμησης της σύστασης σώματος που χρησιμοποιείται. Ιδανικά, για την εκτίμηση της σύστασης σώματος μίας ομάδας ατόμων είναι απαραίτητο να επιλεγεί μία εξίσωση από τη βιβλιογραφία, η οποία θα πρέπει να έχει προκύψει από πληθυσμό με τα ίδια ή έστω παρόμοια χαρακτηριστικά, όσον αφορά το φύλο, την ηλικία, τη φυλή την ενυδάτωση του μυϊκού ιστού, τα επίπεδα παχυσαρκίας και άλλους παράγοντες. Το σφάλμα στην ακρίβεια και επαναληψιμότητα της μεθόδου στην εκτίμηση της άλιπης μάζας υπολογίζεται στο 2-8% και 2-4% αντίστοιχα, ενώ στην εκτίμηση του σωματικού λίπους στο >8% και >5% αντίστοιχα (Ellis KJ 2001).

Οι εξισώσεις BIA παράγονται με τη στατιστική μέθοδο της παλινδρόμησης, χρησιμοποιώντας ως εξαρτημένη μεταβλητή τα αποτελέσματα της σύστασης σώματος μίας άλλης μεθόδου, η οποία θεωρείται ως κριτήριο ή μέθοδος αναφοράς. Στις ανεξάρτητες μεταβλητές συμπεριλαμβάνονται συνήθως η ηλικία, το φύλο και διάφορες ανθρωπομετρικές μετρήσεις, κάποιες από τις οποίες έχουν χαρακτηριστεί ως οι πιο σημαντικές (π.χ. ο «δείκτης αντίστασης» = $\frac{\text{ύψος}^2}{R}$) (Kushner RF 1992).

Στην παρούσα μελέτη η αντίσταση R και η χωρητική αντίσταση Xc μετρήθηκαν στη συχνότητα των 50 kHz με τετραπολικό πληθυσμογράφο σύνθετης αντίστασης (four terminal impedance plethysmograph) (Model 101Q, RJL- Systems, Mt Clemens, MI, USA) για το σύνολο του δείγματος. Το πρωτόκολλο μέτρησης που εφαρμόστηκε, περιγράφεται αναλυτικά στο κεφάλαιο 2.4.2.

Ανθρωπομετρία

Σκοπός της ανθρωπομετρίας είναι ο καθορισμός διαφόρων μέτρων του ανθρώπινου σώματος και η συλλογή πληροφοριών σχετικά με το σχήμα και τη σύστασή του. Πιο συγκεκριμένα η ανθρωπομετρία περιλαμβάνει μετρήσεις του βάρους, του ύψους, διαφόρων περιφερειών του σώματος και των δερματικών πτυχών. Από το ύψος και το βάρος που μετρώνται εύκολα, γρήγορα και χωρίς ακριβά εργαλεία, υπολογίζουμε διάφορους δείκτες, με

το δείκτη μάζας σώματος (ΔΜΣ- Body Mass Index), ως τον πλέον χρήσιμο και συχνά χρησιμοποιούμενο για την εκτίμηση της παχυσαρκίας (Ellis KJ 2001).

Η δεύτερη πιο συχνά χρησιμοποιούμενη ανθρωπομετρική τεχνική για την εκτίμηση του σωματικού λίπους και πιο συγκεκριμένα του υποδόριου, είναι οι μετρήσεις των δερματικών πτυχών. Ανάμεσα στα μειονεκτήματα της μεθόδου, όσον αφορά την εκτίμηση της σύστασης σώματος, συγκαταλέγονται οι παραδοχές που λαμβάνονται υπόψη (σταθερή αναλογία υποδόριου λίπους, αντιπροσωπευτικότητα των επιλεγμένων δερματικών πτυχών για την εκτίμηση του συνολικού λίπους του σώματος) η ακρίβεια των μετρήσεων, η οποία εξαρτάται από την εμπειρία του εξεταστή, καθώς και διάφορες τεχνικές δυσκολίες που συχνά αντιμετωπίζονται (π.χ. μέτρηση δερματικών πτυχών σε παχύσαρκους ή άτομα με «σφιχτό» δέρμα) (Lukaski HC 1987, Roche AF 1996).

Τέλος, η μέτρηση της περιφέρειας μέσης (waist circumference) και γλουτών (hip circumference), καθώς και του λόγου αυτών (waist to hip ratio) είναι μία διαδικασία εύκολη και γρήγορη, της οποίας η ακρίβεια δεν απαιτεί μεγάλη εκπαίδευση του εξεταστή και η οποία μας δίνει πληροφορίες για την κατανομή του σωματικού λίπους και το είδος της παχυσαρκίας (π.χ. κεντρικού τύπου παχυσαρκία) (Willet W 1990).

2.3.3. Διαιτητική πρόσληψη ασβεστίου

Η πρόσληψη ασβεστίου εκτιμήθηκε με τη χρήση ενός ποσοτικού ερωτηματολογίου συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων (FFQ). Η σύνταξη του ερωτηματολογίου στηρίχθηκε σε ένα ήδη δημοσιευμένο FFQ για την πρόσληψη ασβεστίου (Cummings SR 1987), το οποίο τροποποιήθηκε λαμβάνοντας υπόψη της διατροφικές συνήθειες του ελληνικού πληθυσμού και συνεπώς τις σημαντικότερες πηγές ασβεστίου στη χώρα μας. Η συμπλήρωση του ερωτηματολογίου πραγματοποιούνταν κατόπιν συνέντευξης του εξεταζόμενου και εκτός από την συχνότητα καταγραφόταν από τον εξεταστή και η ποσότητα κατανάλωσης των τροφίμων με βάση τις μερίδες του δημοσιευμένου FFQ (Block G 1986). Ο εξεταστής ρωτούσε επίσης για τυχόν πρόσφατες αλλαγές στις αναφερόμενες διατροφικές συνήθειες, ώστε να εκτιμηθεί κατά πόσο η διαιτητική πρόσληψη αντανάκλαζε μακροχρόνιες διατροφικές συνήθειες.

Η ανάλυση των ερωτηματολογίων έγινε με βάση τους Πίνακες Συνθέσεως Τροφίμων και Ελληνικών Φαγητών (Τριχοπούλου Α 1990) και υπολογίστηκε η ημερήσια πρόσληψη διαιτητικού ασβεστίου (mg/ ημέρα). Η συμπλήρωση του ερωτηματολογίου πραγματοποιήθηκε δύο φορές για μία τυχαία υποομάδα του δείγματος (N=40), σε χρονική απόσταση 2 εβδομάδων, ώστε να εκτιμηθεί η αξιοπιστία των απαντήσεων. Η συσχέτιση της πρόσληψης ασβεστίου ανάμεσα στις δύο χρονικές στιγμές ήταν ισχυρή και σημαντική, όπως

υπολογίστηκε από τον συντελεστή συσχέτισης Spearman ($r = 0.81$, $p = 0.028$). Παράλληλα, η στατιστική t κατά ζεύγη του Student (paired t -test), για την πρόσληψη ασβεστίου στις δύο χρονικές στιγμές δεν ήταν στατιστικά σημαντική ($p = 0.527$).

Τέλος, εκτός από τις ερωτήσεις που αφορούσαν το ασβέστιο, καταγράφηκε και η κατανάλωση (συχνότητα και ποσότητα) διαφόρων ροφημάτων και ποτών.

Το ερωτηματολόγιο συχνότητας κατανάλωσης τροφίμων παρατίθεται στο Παράρτημα.

2.3.4. Σωματική δραστηριότητα

Για την εκτίμηση της συνήθους σωματικής δραστηριότητας των συμμετεχόντων στη μελέτη, η επιλογή του ερωτηματολογίου ήταν δύσκολη, δεδομένου ότι έπρεπε να απευθύνεται σε άτομα μέσης ηλικίας και να μη δίνει μεγάλη βαρύτητα σε αθλήματα, αλλά σε καθημερινές δραστηριότητες. Μετά από βιβλιογραφική ανασκόπηση επιλέχθηκε το ερωτηματολόγιο Baecke (Baecke JA 1982), το οποίο εκτιμά τη δραστηριότητα τόσο στη δουλειά, όσο και στον ελεύθερο χρόνο και εκτός από τον συνολικό δείκτη σωματικής δραστηριότητας υπολογίζει και της τρεις: δείκτη δραστηριότητας στην εργασία (work index), στον ελεύθερο χρόνο (leisure time index) και δείκτη αθλημάτων (sport index).

Το ερωτηματολόγιο συλλέγει πληροφορίες για το επάγγελμα, την κινητικότητα, τα αθλήματα και της δραστηριότητες κατά τον ελεύθερο χρόνο, πέρα των αθλημάτων. Οι προτεινόμενες απαντήσεις είναι εκ των προτέρων βαθμολογημένες από 1 έως 5, με εξαίρεση της ερωτήσεις του είδους του επαγγέλματος και του αθλήματος. Τόσο η εργασία, όσο και τα αθλήματα έχουν κατηγοριοποιηθεί σε τρεις ομάδες ανάλογα με την ένταση της σωματικής προσπάθειας που απαιτούν και βαθμολογούνται ανάλογα. Ο έλεγχος αξιοπιστίας του ερωτηματολογίου έχει εκτιμηθεί σε διάφορους πληθυσμούς και τα αποτελέσματα έχουν δημοσιευτεί παλαιότερα (Pereira M 1997), ενώ υπάρχουν αρκετές επιδημιολογικές μελέτες που έχουν χρησιμοποιήσει το συγκεκριμένο ερωτηματολόγιο σε πληθυσμούς μέσης ηλικίας (45-64 ετών) (ενδεικτικά αναφέρονται Evenson KR 1999, Pereira MA 1999). Το μεταφρασμένο ερωτηματολόγιο παρατίθεται στο Παράρτημα.

2.3.5. Προσδιορισμός συγκεντρώσεων λεπτίνης και αντιπονεκτίνης

Οι συγκεντρώσεις λεπτίνης προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο ELISA, ενώ της αντιπονεκτίνης με τη ραδιοανοσολογική μέθοδο (RIA). Στη συνέχεια περιγράφονται οι βασικές αρχές των παραπάνω μεθόδων, ενώ τα χαρακτηριστικά των kit που χρησιμοποιήθηκαν παρατίθενται στο κεφάλαιο 2.5.2.

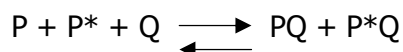
Ανοσοενζυμικός προσδιορισμός (ELISA)

Με τη μέθοδο ELISA επιτυγχάνεται ο προσδιορισμός της ενζυμικής δράσης του συμπλέγματος αντιγόνου-αντισώματος-ενζύμου και διακρίνεται σε δύο τύπους, στη μη ανταγωνιστική (τύπου «sandwich» και ενζυμο-ανοσομετρική) και στην ανταγωνιστική. Ο ποσοτικός προσδιορισμός της λεπτίνης στην παρούσα μελέτη έγινε με μία ELISA τύπου «sandwich». Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή το αντιγόνο που πρόκειται να προσδιοριστεί συνδέεται αρχικά με ακινητοποιημένο αντίσωμα. Η ποσότητα του αντιγόνου που συνδέεται με το αντίσωμα μετράται, αφού προστεθεί αντίσωμα της ίδιας ειδικότητας, σημασμένο με ένζυμο. Για τη μέτρηση αυτή είναι απαραίτητο το αντιγόνο να διαθέτει πολλούς αντιγονικούς καθοριστές έτσι ώστε να μπορέσει, μετά την αντίδρασή του με το ακινητοποιημένο αντίσωμα, να αντιδράσει και με το σημασμένο αντίσωμα, οπότε και παράγεται έγχρωμο προϊόν. Η ενζυμική δράση που ανιχνεύεται είναι ανάλογη της ποσότητας του αντιγόνου, που έχει συνδεθεί με το ακινητοποιημένο αντίσωμα.

Στην πλάκα όπου εξετάζεται το δείγμα, συμπεριλαμβάνεται διάλυμα αντιγόνου γνωστής συγκέντρωσης για το σχηματισμό της πρότυπης καμπύλης αναφοράς. Η συγκέντρωση του αντιγόνου στο δείγμα υπολογίζεται με μεγάλη ακρίβεια, μεταφέροντας τις οπτικές πυκνότητες που λαμβάνονται για μερικές αραιώσεις πάνω στο ευθύγραμμο τμήμα της καμπύλης αναφοράς (Ternynck T 1990).

Ραδιοανοσολογικός προσδιορισμός (RIA)

Οι ανοσολογικοί προσδιορισμοί χρησιμοποιούν αντισώματα σαν αντιδραστήρια για τον προσδιορισμό ουσιών, οι οποίες δεσμεύονται από αυτά. Ο ραδιοανοσολογικός προσδιορισμός χρησιμοποιεί και ραδιενεργό ουσία, παράλληλα με το αντίσωμα. Γενικά στο μίγμα της αντίδρασης συνυπάρχουν η ουσία για την οποία γίνεται ο προσδιορισμός (P), ο ιχνηθέτης (P*) και το ειδικό αντίσωμα (Q). Οι αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα είναι :



Μετά την αποκατάσταση της ισορροπίας μετρείται η συγκέντρωση του P*Q (ή του P*) και συσχετίζεται με τη συγκέντρωση του P στο δείγμα. Όσο περισσότερη P υπάρχει στο πλάσμα ή στον ορό, τόσο πιο πολύ θα αντικατασταθεί η ραδιοσημασμένη ουσία από τη μη ραδιοσημασμένη και τόσο λιγότερο σύμπλεγμα θα σχηματιστεί. Για τον προσδιορισμό του P στο δείγμα πρέπει πρώτα να κατασκευαστεί μία καμπύλη αναφοράς χρησιμοποιώντας διάφορες συγκεντρώσεις P, ξεκινώντας από την τιμή 0, οπότε και σχηματίζεται μόνο το σύμπλοκο P*Q (Διαμαντής ΕΦ 1987).

2.3.6. Άλλες πληροφορίες

Εκτός από τις ανωτέρω διαδικασίες συγκεντρώθηκαν επίσης πληροφορίες για παράγοντες που επηρεάζουν τη σκελετική υγεία, όπως το ιατρικό και ιδιαίτερα το γυναικολογικό ιστορικό των γυναικών, τη χρήση φαρμακευτικών ουσιών, το κάπνισμα και την κατανάλωση διαφόρων ροφημάτων (βλ. Παράρτημα).

2.3.7. Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων έγινε με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS 10.0 (Statistical Package for the Social Sciences) και περιγράφεται αναλυτικά στα κεφάλαια 2.4.2. και 2.5.2.

2.4. Αξιοποίηση της μεθόδου της βιοηλεκτρικής εμπέδησης για την εκτίμηση της σύστασης σώματος γυναικών μέσης ηλικίας – ανάπτυξη νέας εξίσωσης.

Η παρούσα εργασία αποτελεί τμήμα άρθρου, που έχει εγκριθεί για δημοσίευση στο περιοδικό Maturitas ως:

Kontogianni MD, Panagiotakos DB, Skopouli FN. Does body mass index reflect adequately the body fat content in a sample of perimenopausal women?

Περίληψη

Η μέθοδος της βιοηλεκτρικής εμπέδησης (BIA) έχει χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση του ολικού νερού του σώματος (TBW), καθώς και της άλιπης σωματικής μάζας (FFM) σε διάφορες πληθυσμιακές ομάδες. Αν και η μέθοδος παρουσιάζει πολλά πλεονεκτήματα, το κυριότερο μειονέκτημά της είναι, ότι η ακρίβειά της εξαρτάται άμεσα από την επιλογή των κατάλληλων εξισώσεων. Η εξίσωση πρέπει να είναι όσο το δυνατόν πιο συγκεκριμένη και ειδική για την ομάδα που μελετάται, ως προς την ηλικία, το φύλο, την εθνικότητα, το επίπεδο παχυσαρκίας και την κατάσταση υγείας.

Επειδή δεν υπάρχουν εξισώσεις που να έχουν αναπτυχθεί σε δείγματα ελληνικού πληθυσμού και με στόχο να αξιοποιήσουμε τη μέθοδο BIA για την εκτίμηση της σύστασης σώματος περιεμμηνοπαυσιακών γυναικών, αναπτύξαμε στην παρούσα μελέτη, μία νέα εξίσωση και στη συνέχεια ελέγξαμε την αξιοπιστία της, σε ένα τυχαίο δείγμα 60 γυναικών, ελληνικής καταγωγής και ηλικιακού εύρους 42 – 65 ετών. Ως μέθοδος αναφοράς χρησιμοποιήθηκε η απορροφησιομετρία ακτίνων- Χ διπλής ενέργειας (DXA), ενώ εκτιμήθηκαν παράλληλα και άλλοι ανθρωπομετρικοί δείκτες.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η νέα εξίσωση που αναπτύχθηκε ήταν η ακόλουθη: $FFM (kg) = 17,825 + 0,380 (\text{ύψος}^2 / R) + 0,172 \times \text{βάρους} - 0,156 \times \text{ηλικία}$ και ερμήνευε το 88.4% της διακύμανσης της άλιπης μάζας σώματος ($R^2 = 0,884$), με τυπικό σφάλμα εκτίμησης (SEE) ίσο με 1,89 kg. Σύμφωνα με τον έλεγχο αξιοπιστίας, το συστηματικό σφάλμα (bias) στην εκτίμηση της FFM δεν ήταν στατιστικά σημαντικό ($p = 0,281$) και τα όρια συμφωνίας (limits of agreement) ($\pm 2SD$) ήταν αποδεκτής αξιοπιστίας.

Συμπερασματικά, η νέα εξίσωση μπορεί να προβλέψει αξιόπιστα την άλιπη μάζα σώματος σε γυναίκες μέσης ηλικίας (42-65 ετών) με μικρό σφάλμα εξεταστή/ μέτρησης, αφού απαιτεί μόνο τη μέτρηση του ύψους, του βάρους και της αντίστασης R.

2.4.1. Εισαγωγή

Υπάρχουν αρκετές άμεσες και έμμεσες μέθοδοι εκτίμησης της σύστασης σώματος, κάθε μία από τις οποίες παρουσιάζει πλεονεκτήματα και περιορισμούς. Η μέθοδος της βιοηλεκτρικής εμπέδησης (BIA) έχει χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση του ολικού νερού του σώματος (TBW), καθώς και της άλιπης σωματικής μάζας (FFM) σε διάφορες πληθυσμιακές ομάδες. Η συγκεκριμένη μέθοδος παρουσιάζει αρκετά πλεονεκτήματα σε σχέση με τις υπόλοιπες, αφού είναι ασφαλής, γρήγορη, φορητή και εύκολη στην εφαρμογή, απαιτώντας ελάχιστη εκπαίδευση του χειριστή (Kushner RF 1992, Van Loan MD 1990). Εντούτοις, το κυριότερο μειονέκτημά της είναι ότι η ακρίβειά της εξαρτάται άμεσα από την επιλογή των κατάλληλων εξισώσεων. Η εξίσωση πρέπει να είναι όσο το δυνατόν πιο συγκεκριμένη και ειδική για την ομάδα που μελετάται, ως προς την ηλικία, το φύλο, την εθνικότητα, το επίπεδο παχυσαρκίας και την κατάσταση υγείας (Baumgartner RN 1996).

Η μέθοδος της απορροφησιμετρίας ακτίνων X διπλής ενέργειας (DXA) αποτελεί τη μέθοδο αναφοράς για την εκτίμηση της οστικής μάζας, αλλά παρέχει παράλληλα και ακριβείς μετρήσεις της ισχνής μάζας σώματος (LTM) με μικρή έκθεση στην ακτινοβολία. Μελέτες που εκτιμούν την ακρίβεια της DXA (και συγκεκριμένα των πιο πρόσφατων λογισμικών) συγκρίνοντάς τη με πολυδιαμερισματικά μοντέλα αναφοράς, έχουν δείξει πολύ καλή συμφωνία ανάμεσα στις μεθόδους (Wang ZM 1998, Lohman TG 2000). Αντιστοιχία στην εκτίμηση του σωματικού λίπους έχει βρεθεί για όλες τις ηλικίες, αλλά και σε παχύσαρκα και μη άτομα και το τυπικό σφάλμα μέτρησης ανάμεσα στη DXA και τα πολυδιαμερισματικά μοντέλα κυμαίνεται στα 1,73 kg ($3 \pm 1\%$) (Lohman TG 2000). Στην παρούσα μελέτη η μέθοδος DXA χρησιμοποιήθηκε ως μέθοδος αναφοράς για την ανάπτυξη νέας εξίσωσης BIA, μία διαδικασία που έχει πραγματοποιηθεί και σε άλλες ερευνητικές εργασίες (ενδεικτικά αναφέρονται: Jakicic JM 1998, Yannakoulia M 2000, Kyle UG 2001, Desport JC 2003).

Τόσο στη διεθνή, όσο και στην ελληνική βιβλιογραφία δεν υπάρχουν δημοσιευμένες εξισώσεις BIA ειδικές για περιεμμηνοπαυσιακές, μέσης ηλικίας γυναίκες, οι οποίες αποτελούν έναν πληθυσμό με ιδιαίτερα χαρακτηριστικά. Η σύσταση σώματος σε αυτήν την ηλικιακή περίοδο αλλάζει, με κύρια χαρακτηριστικά τη μείωση του περιεχομένου των οστών σε ανόργανα άλατα και την αύξηση του σωματικού λίπους, με ταυτόχρονη αλλαγή και στην κατανομή αυτού. Οι μόνες εξισώσεις που λαμβάνουν υπόψη τον παράγοντα της ηλικίας είναι αυτές του Lohman (Lohman TG 1992), οι οποίες είναι ειδικές για το φύλο και την ηλικία ενηλίκων ατόμων.

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η ανάπτυξη και ο έλεγχος αξιοπιστίας μίας εξίσωσης BIA, με την καλύτερη δυνατή προβλεπτική ακρίβεια στην εκτίμηση της σύστασης σώματος σε μία ομάδα υγιών, περιεμμηνοπαυσιακών γυναικών μέσης ηλικίας.

2.4.2. Υλικό και μέθοδοι

Άτομα

Εξήντα υγιείς γυναίκες (18 προ- και 42 μετεμμηνοπαυσιακές με μέση περίοδο εμμηνόπαυσης $3,45 \pm 4,63$ έτη) πήραν μέρος στη συγκεκριμένη μελέτη και η πρόσκληση συμμετοχής έγινε μέσω μίας αγγελίας για την ένταξη σε ένα πρόγραμμα ελέγχου της οστικής μάζας. Όλες οι γυναίκες ήταν κάτοικοι Αθηνών και το εύρος ηλικίας τους ήταν 42 έως 65 έτη. Καμία από τις γυναίκες δεν παρουσίαζε διαταραχές στην κατάσταση ύδατος του σώματος (π.χ. οίδημα, αφυδάτωση), ούτε λάμβανε κάποιο φαρμακευτικό σκεύασμα που μπορούσε να την επηρεάσει.

Η ομάδα των εξήντα γυναικών χωρίστηκε σε δύο τυχαίες υποομάδες (SG₁: n = 30, SG₂: n = 30). Η πρώτη υποομάδα χρησιμοποιήθηκε για την ανάπτυξη της νέας εξίσωσης και η δεύτερη για τον έλεγχο αξιοπιστίας αυτής. Η κατανομή των ηλικιών ανάμεσα στις δύο υποομάδες, ο δείκτης μάζας σώματος και οι τέσσερις δερματοπτυχές δεν διέφεραν σημαντικά και μόνο ο λόγος περιφέρειας μέσης προς περιφέρεια ισχίων ήταν στατιστικά σημαντικά διάφορος (SG₁: $0,79 \pm 0,05$ έναντι SG₂: $0,77 \pm 0,05$ $p = 0,038$).

Ανθρωπομετρία

Ύψος και βάρος:

Τα άτομα ζυγίστηκαν με ελαφρύ ρουχισμό και χωρίς υποδήματα σε ζυγό με ενσωματωμένο αναστημόμετρο (Seca scale and stadiometer, Mod 220) και με ακρίβεια 0,5 kg. Το ύψος μετρήθηκε με ακρίβεια 0,5 cm, με τα πόδια ενωμένα και το λεγόμενο «Frankfurt plane» του κεφαλιού (δηλ. η οριζόντια γραμμή που εκτείνεται από το κάτω άκρο της κόγχης του ματιού και το μέσο της μύτης ως το μέσο περίπου του αυτιού) σε οριζόντια θέση παράλληλα με το έδαφος. Ο ΔΜΣ υπολογίστηκε ως το πηλίκο του βάρους (kg)/ ύψος² (m²).

Δερματικές πτυχές:

Μετρήσεις της δερματικής πτυχής τρικεφάλου, δικεφάλου, καθώς και της υποπλάτιας και υπερλαγόνιας πραγματοποιήθηκαν στη δεξιά πλευρά του σώματος, όπως περιγράφεται από τους Durnin και Womersley (1974), με ακρίβεια 0,5 mm και με τη βοήθεια δερματοπτυχόμετρου Lange (Cambridge Scientific Instruments, Cambridge, MA).

Περιφέρειες:

Οι περιφέρειες της μέσης και των ισχίων μετρήθηκαν με ακρίβεια 0,1 cm, χρησιμοποιώντας πλαστική μεζούρα. Ως περιφέρεια μέσης μετρήθηκε η μικρότερη δυνατή περιφέρεια στη μέση και ως περιφέρεια γλουτών η μεγαλύτερη περιφέρεια στο ύψος των γλουτών. Από τις δύο αυτές μετρήσεις υπολογίστηκε και ο λόγος περιφέρειας μέσης προς περιφέρεια ισχίων.

Μέθοδος Βιοηλεκτρικής εμπέδησης (BIA)

Η αντίσταση R και η χωρητική αντίσταση Xc μετρήθηκαν στη συχνότητα των 50 kHz, με τετραπολικό πληθυσμογράφο σύνθετης αντίστασης (four terminal impedance plethysmograph) (Model 101Q, RJL- Systems, Mt Clemens, MI). Το πρωτόκολλο της μέτρησης ήταν σύμφωνο με τα πορίσματα δύο Διεθνών Συνεδρίων για τη Βιοηλεκτρική Εμπέδηση (Deurenberg P 1994, Bioelectrical Impedance Analysis in body composition measurement 1996) και τα σημεία στα οποία δόθηκε ιδιαίτερη προσοχή ήταν τα ακόλουθα:

- Οι μετρήσεις σε όλα τα άτομα πραγματοποιήθηκαν πρωινές ώρες, μετά από ολονύκτια νηστεία και απουσία έντονης σωματικής δραστηριότητας.
- Η περιοχή του δέρματος που εφαρμόστηκαν τα ηλεκτρόδια είχε καθαριστεί με οινόπνευμα.
- Οι μετρήσεις έγιναν σε περιβάλλον κανονικής θερμοκρασίας και η θερμοκρασία του σώματος ήταν μέσα στα φυσιολογικά όρια.
- Πριν από τις μετρήσεις απομακρύνονταν όλα τα κοσμήματα.
- Τα άτομα ξάπλωναν σε μία μη αγωγίμη επιφάνεια με τα πόδια ελαφρώς απομακρυσμένα το ένα από το άλλο και τα χέρια σε μικρή απόσταση, αλλά όχι σε επαφή με τον κορμό.
- Οι μετρήσεις πραγματοποιούνταν μέσα στα 5 πρώτα λεπτά από τη στιγμή που το άτομο ξάπλωνε (προς αποφυγή ανακατανομής των υγρών από τα πόδια προς τον κορμό).

Τα ηλεκτρόδια τοποθετούνταν στις κατάλληλες θέσεις (ανά δύο στο χέρι και στο πόδι και σε απόσταση περίπου 5 cm), σύμφωνα με τις συστάσεις της διεθνούς βιβλιογραφίας και αυτές του κατασκευαστή. Για την εφαρμογή των ηλεκτροδίων επιλέχθηκε η δεξιά πλευρά του σώματος και τα ηλεκτρόδια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν ηλεκτρόδια αργύρου, επιφάνειας τουλάχιστον 5 cm².

Απορροφησιομετρία ακτίνων Χ διπλής ενέργειας (DXA)

Η TB BMC (g) και η σύσταση των μαλακών ιστών όλου του σώματος προσδιορίστηκαν με ολοσωματικό σαρωτή DXA (Model Lunar DPX, Lunar Corp., Madison, WI) και υπολογίστηκαν με το ειδικό λογισμικό της εταιρείας Lunar (4.7e). Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο. Ο σαρωτής ελεγχόταν καθημερινά για την ποιότητα των μετρήσεων με πρότυπο προσομοιωτή. Για τις σαρώσεις χρησιμοποιήθηκε η γρήγορη ταχύτητα, αφού δεν έχουν βρεθεί σημαντικές διαφορές στα αποτελέσματα ή στα λάθη ακρίβειας, ανάμεσα στη μέση και στη γρήγορη ταχύτητα (Mazess RB 1990), εκτός των περιπτώσεων που μία πιο αργή σάρωση προτεινόταν από τον κατασκευαστή, σε κάποια

παχύσαρκα άτομα. Η άλιπη μάζα σώματος εκτιμήθηκε από το άθροισμα της TB BMC και της ισχνής μάζας όλου του σώματος.

Στατιστική ανάλυση

Τα περιγραφικά χαρακτηριστικά των συνεχών μεταβλητών που εξετάστηκαν, εκφράστηκαν ως μέσοι και τυπικές αποκλίσεις. Η κανονικότητα των μεταβλητών ελέγχθηκε με τη δοκιμασία των Kolmogorov-Smirnov. Η συσχέτιση της άλιπης μάζας σώματος με διάφορες ανθρωπομετρικές μεταβλητές εξετάστηκε με τους συντελεστές συσχέτισης Pearson και Spearman. Η μέθοδος της πολλαπλής κατά βήματα παλινδρόμησης (stepwise multiple regression analysis) χρησιμοποιήθηκε προκειμένου να προσδιοριστούν οι καλύτερες ερμηνευτικές μεταβλητές της άλιπης μάζας σώματος, όπως αυτή μετρήθηκε με τη μέθοδο αναφοράς, από μία σειρά ανθρωπομετρικών παραμέτρων και παραμέτρων που σχετίζονται με τη βιοηλεκτρική εμπέδηση (p εισόδου $\leq 0,05$).

Η ανάλυση κατά Bland and Altman (1986) χρησιμοποιήθηκε για να ελεγχθεί η αξιοπιστία της εξίσωσης που προέκυψε σε σχέση με τη μέθοδο αναφοράς, στη δεύτερη υποομάδα. Το συστηματικό σφάλμα (bias) (μέση διαφορά ανάμεσα στη FFM όπως μετρήθηκε με τη μέθοδο DXA και τη FFM όπως εκτιμήθηκε από την εξίσωση BIA) και τα όρια συμφωνίας (limits of agreement) ($\pm 2SD$) υπολογίστηκαν σε κάθε περίπτωση, όπως επίσης και οι αντίστοιχοι συντελεστές συσχέτισης προκειμένου να αξιολογηθεί η σχέση μεταξύ μέσου και διαφοράς.

Η στατιστική δοκιμασία t του Student χρησιμοποιήθηκε για τον έλεγχο της διαφοράς στο ποσοστό σωματικού λίπους (BF%), όπως μετρήθηκε με τη μέθοδο DXA και όπως εκτιμήθηκε από την εξίσωση BIA.

Το επίπεδο στατιστικής σημαντικότητας είχε ορισθεί σε $\alpha = 0,05$. Τα δεδομένα επεξεργάστηκαν με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS 10.0 (Statistical Package for the Social Sciences).

2.4.3. Αποτελέσματα

Στον Πίνακα- 2.4.1 παρουσιάζονται η ηλικία και ανθρωπομετρικές παράμετροι του δείγματος, καθώς και παράμετροι που σχετίζονται με τη μέθοδο της βιοηλεκτρικής εμπέδησης. Ο μέσος όρος ηλικίας ήταν $53,96 \pm 6,4$ και $53,00 \pm 6,3$ στις υποομάδες 1 και 2 αντίστοιχα και ο μέσος ΔΜΣ ίσος με $28,8 \pm 3,6$ και στις δύο υποομάδες.

Στον Πίνακα- 2.4.2 φαίνονται οι συντελεστές συσχέτισης ανάμεσα στη FFM όπως εκτιμήθηκε με τη μέθοδο DXA και διάφορες μεταβλητές. Η ηλικία, η ωμική αντίσταση X_c , καθώς και η υποπλάτια και υπερλαγόνια δερματική πτυχή δεν σχετίζονταν σημαντικά με τη FFM.

Πίνακας- 2.4.1

Ανθρωπομετρικά και άλλα περιγραφικά χαρακτηριστικά του δείγματος.

Μεταβλητή	SG ₁ (N=30) ¹	SG ₂ (N=30) ²
	Μέσος ± Τυπική απόκλιση	Μέσος ± Τυπική απόκλιση
Ηλικία (έτη)	53,96 ± 6,4	53,00 ± 6,3
Ύψος (cm)	158,58 ± 7,4	157,02 ± 5,9
Βάρος (kg)	72,65 ± 12,0	71,29 ± 11,7
ΔΜΣ (kg/ m ²)	28,81 ± 3,6	28,80 ± 3,6
Περιφέρεια μέσης (cm)	82,87 ± 8,4	80,06 ± 8,5
Περιφέρεια ισχίων (cm)	104,23 ± 9,5	104,67 ± 9,0
Περιφέρεια μέσης/ περιφέρεια ισχίων ³	0,79 ± 0,05	0,77 ± 0,05
Δερματοπτυχές		
Τρικεφάλου (mm)	35,3 ± 5,7	34,8 ± 5,5
Δικεφάλου (mm)	33,2 ± 7,2	33,3 ± 5,6
Υποπλάτια (mm)	26,6 ± 8,0	25,3 ± 6,4
Υπερλαγόνια (mm)	36,7 ± 9,7	34,4 ± 8,4
Μεταβλητές ΒΙΑ		
Αντίσταση (ohm)	503,9 ± 50,5	493,4 ± 47,8
Χωρητική αντίσταση (ohm)	54,2 ± 6,9	55,2 ± 10,1

¹ Η υποομάδα 1 χρησιμοποιήθηκε για την ανάπτυξη της νέας εξίσωσης βιοηλεκτρικής εμπέδησης.

² Η υποομάδα 2 χρησιμοποιήθηκε για τον έλεγχο αξιοπιστίας της νέας εξίσωσης βιοηλεκτρικής εμπέδησης.

³ έλεγχος t δύο δειγμάτων: p= 0.038

Ως ανεξάρτητες μεταβλητές στην κατά βήματα πολλαπλή παλινδρόμηση χρησιμοποιήθηκαν η ηλικία, το βάρος, το ύψος ή ο δείκτης αντίστασης, η αντίσταση R, ο ΔΜΣ, οι δερματικές πτυχές τρικεφάλου και δικεφάλου και οι περιφέρειες μέσης και ισχίων. Το τελικό υπόδειγμα με τις λιγότερες ανεξάρτητες μεταβλητές και τον μεγαλύτερο συντελεστή προσδιορισμού ήταν το ακόλουθο:

$$\text{FFM (kg)} = 17,825 + 0,380 (\text{ύψος}^2 / R) + 0,172 \times \text{βάρος} - 0,156 \times \text{ηλικία}$$

[*Βάρος (kg), ύψος (cm)*]

Η παραπάνω εξίσωση εξηγούσε το 88.4% της διακύμανσης της άλιπης μάζας σώματος ($R^2 = 0,884$) με SEE ίσο με 1,89 kg. Ο Πίνακας- 2.4.3 δείχνει τη σχετική σημασία των ανεξάρτητων μεταβλητών, καθώς και τη σειρά που εισήλθαν στην εξίσωση της πολλαπλής κατά βήματα παλινδρόμησης. Στις ανεξάρτητες μεταβλητές το ύψος^2 και η αντίσταση R αντικαταστάθηκαν από τον ονομαζόμενο δείκτη αντίστασης ($\text{ύψος}^2 / R$), ο οποίος παρουσίαζε πιο ισχυρή συσχέτιση με τη FFM απ' ό,τι το ύψος, το ύψος^2 και η αντίσταση R (Πίνακας- 2.4.2)

Πίνακας- 2.4.2

Συσχετίσεις της άλιπης μάζας σώματος, όπως μετρήθηκε με τη μέθοδο DXA, με ανθρωπομετρικές μεταβλητές και την αντίσταση R.

	FFM- DXA	
	r	p
Αντίσταση (R)	- 0,607	<0,0001
Ύψος	0,739	<0,0001
Ύψος^2	0,729	<0,0001
$\text{Ύψος}^2 / R$	0,868	<0,0001
Βάρος	0,874	<0,0001
ΔΜΣ	0,590	0,001
Δερματική πτυχή δικεφάλου	0,414	0,023
Δερματική πτυχή τρικεφάλου	0,474	0,008
Περιφέρεια μέσης	0,589	0,001
Περιφέρεια ισχίων	0,492	0,006

Πίνακας- 2.4.3

Αποτελέσματα του υποδείγματος της παλινδρόμησης (τελικό), που εφαρμόστηκε για την ανάπτυξη της εξίσωσης BIA.

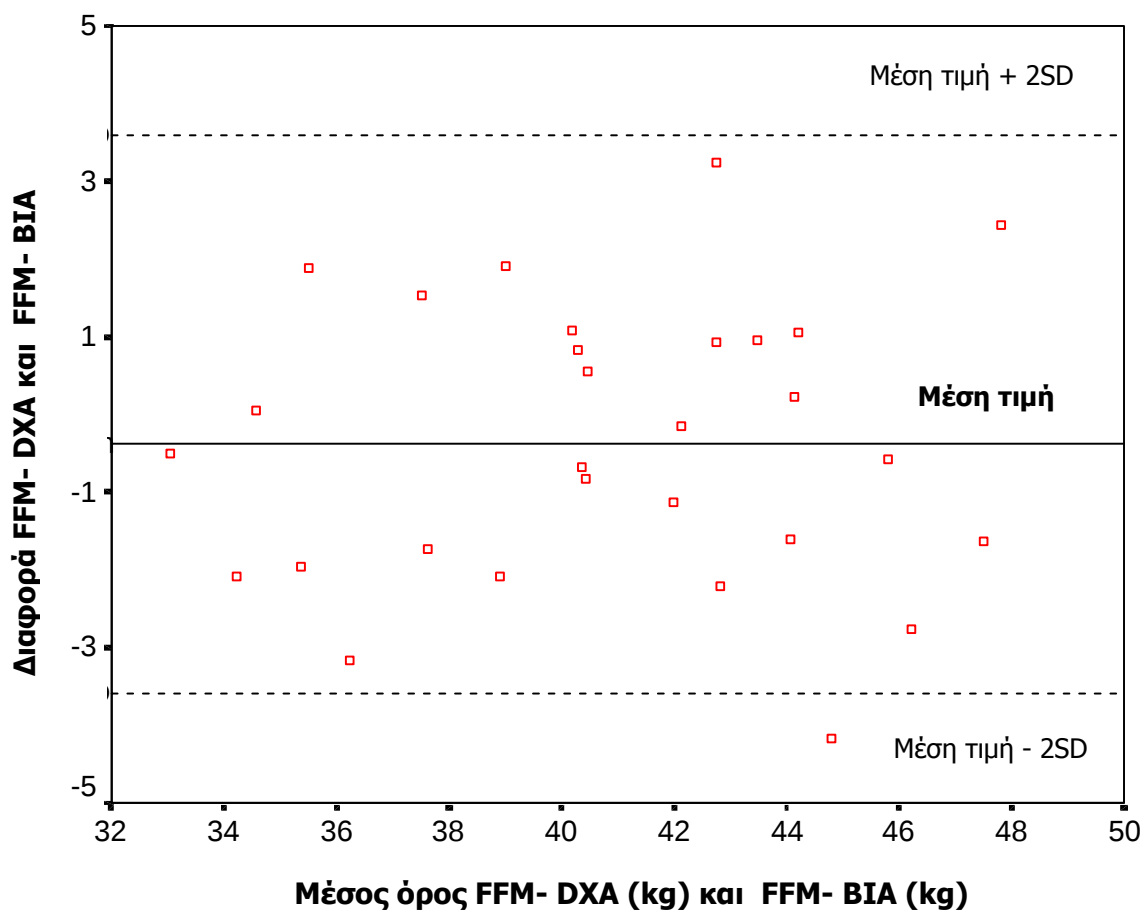
	Unstandardized coefficients		Standardized coefficients	
	B	Τυπικό σφάλμα (SE)	Beta	p
Σταθερός όρος	17,825	3,88		< 0,0001
Ύψος ² (cm ²)/ R (ohm)	0,380	0,080	0,562	< 0,0001
Βάρος (kg)	0,172	0,052	0,392	0,003
Ηλικία	-0,156	0,055	-0,191	0,009

Εξαρτημένη μεταβλητή: Άλιπη μάζα σώματος όπως μετρήθηκε με τη μέθοδο DXA

R: Αντίσταση R

Για τον έλεγχο αξιοπιστίας της νέας εξίσωσης εφαρμόστηκε, στη δεύτερη υποομάδα του δείγματος, η ανάλυση κατά Bland και Altman (Σχήμα- 2.4.1). Το συστηματικό σφάλμα στην εκτίμηση της FFM δεν ήταν στατιστικά σημαντικό ($p = 0,281$) και τα όρια συμφωνίας ($\pm 3,6$ kg) ήταν αποδεκτής αξιοπιστίας, (έχοντας υπόψη ότι η μέση FFM όπως μετρήθηκε με τη μέθοδο DXA ήταν 40,89 kg). Επιπρόσθετα, δεν υπήρχε καμία στατιστικά σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στον μέσο όρο και τη διαφορά της FFM που μετρήθηκε με την DXA και αυτής που υπολογίστηκε με την εξίσωση BIA ($r = -0,042$ $p = 0,829$).

Τέλος, η εφαρμογή των εξισώσεων Lohman στο συγκεκριμένο δείγμα έδειξε ότι υπάρχει συστηματικό σφάλμα ($- 3,97$ kg), στατιστικά σημαντικό ($p < 0,0001$) και ότι το σωματικό λίπος, όπως εκτιμήθηκε από τις εξισώσεις αυτές διέφερε σημαντικά από αυτό που μετρήθηκε με τη μέθοδο αναφοράς ($p < 0,0001$).



Σχήμα- 2.4.1. Σύγκριση της άλιπης μάζας όπως μετρήθηκε με τη μέθοδο DXA και της άλιπης μάζας που υπολογίστηκε με τη μέθοδο της βιοηλεκτρικής αγωγιμότητας – μέθοδος Bland και Altman. Το συστηματικό σφάλμα ($-0,37$ kg) δεν ήταν στατιστικά σημαντικά διάφορο από το μηδέν ($p=0,281$) και τα όρια συμφωνίας ήταν $\pm 3,60$ kg. Καμία στατιστικά σημαντική συσχέτιση δεν ανιχνεύτηκε ανάμεσα στον μέσο και τη διαφορά ($r=0,042$ $p=0,829$).

2.4.4. Συζήτηση

Στην παρούσα μελέτη προσπαθήσαμε να αξιοποιήσουμε τη μέθοδο της βιοηλεκτρικής εμπεδησης για την εκτίμηση της σύστασης σώματος σε ένα δείγμα ελληνίδων, περιεμμηνοπαυσιακών γυναικών μέσης ηλικίας. Στη διεθνή και Ελληνική βιβλιογραφία δεν υπάρχουν δημοσιευμένες εξισώσεις BIA, που να έχουν αναπτυχθεί σε αντίστοιχα δείγματα. Σκοπός συνεπώς αυτής της εργασίας ήταν η ανάπτυξη μίας εξίσωσης με τη μεγαλύτερη δυνατή ακρίβεια στην εκτίμηση της άλιπης μάζας σώματος γυναικών μέσης ηλικίας, χρησιμοποιώντας ως μέθοδο αναφοράς την DXA.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τη διαδικασία ανάπτυξης της νέας εξίσωσης, το βάρος, η ηλικία και ο «δείκτης αντίστασης» (resistance index) αποτελούσαν σημαντικές εκτιμήτριες της άλιπης μάζας σώματος, ερμηνεύοντας το 88,4% της διακύμανσής της. Η ηλικία, αν και στο δείγμα δε σχετιζόταν σημαντικά με την ισχνή μάζα σώματος, συμπεριλήφθηκε στις ανεξάρτητες μεταβλητές, γιατί αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες που καθορίζουν τη σύσταση σώματος και σχετίζεται με μείωση της FFM και αύξηση του σωματικού λίπους (Forbes GB 1976, Noppa H 1979). Ο δείκτης αντίστασης αντικατέστησε το ύψος και την αντίσταση R στις ανεξάρτητες μεταβλητές, γιατί παρουσίαζε ισχυρότερη συσχέτιση με τη FFM. Ο δείκτης αυτός έχει χρησιμοποιηθεί και σε προηγούμενες μελέτες και αποτελεί καλή ερμηνευτική μεταβλητή της άλιπης μάζας σώματος (Segal KR 1985, Diaz EO 1989, Deurenberg P 1991). Όλες οι ανεξάρτητες μεταβλητές της τελικής εξίσωσης μπορούν να μετρηθούν εύκολα και με σημαντική ακρίβεια, καθιστώντας την εξίσωσή μας εύκολη στην εφαρμογή και με μικρά σφάλματα μέτρησης.

Το μέγεθος του δείγματος, που χρησιμοποιήθηκε για την ανάπτυξη της εξίσωσης BIA μπορεί να θεωρηθεί ως επαρκές, εφόσον ήταν ειδικό ως προς το φύλο και την ηλικία και διότι δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές ως προς τη σωματική δραστηριότητα των συμμετεχόντων, των οποίων η ζωή χαρακτηριζόταν καθιστική (sedentary), σύμφωνα με την εκτίμηση που πραγματοποιήθηκε και που δεν παρουσιάζεται στο παρόν κεφάλαιο.

Η αξιολόγηση της αξιοπιστίας της νέας εξίσωσης στη δεύτερη υποομάδα του δείγματος έδειξε ότι η νέα εξίσωση μπορεί να προβλέψει αξιόπιστα την άλιπη μάζα σώματος σε γυναίκες μέσης ηλικίας (42-65 ετών) και η χρήση της συνιστάται, εφόσον είναι εύκολη και με μικρό σφάλμα εξεταστή/ μέτρησης.

Όπως έχει ήδη περιγραφεί, ως μέθοδος αναφοράς για την ανάπτυξη της νέας εξίσωσης χρησιμοποιήθηκε η DXA. Αν και η μέθοδος αυτή περιγράφεται συχνά ως μία από τις μεθόδους-πρότυπα για τη μελέτη της σύστασης σώματος, έχουν εκφραστεί κατά καιρούς και κάποιες επιφυλάξεις σχετικά με την εφαρμογή και τους περιορισμούς της (Roubenoff R 1993), ιδιαίτερα σε πολύ παχύσαρκα άτομα ($ΔΜΣ \geq 40$) (Das SK 2003). Εντούτοις, υπάρχουν μελέτες σύγκρισης της DXA με πολυδιαμερισματικά μοντέλα που επιβεβαιώνουν την ακρίβεια της μεθόδου σε μετρίως παχύσαρκα άτομα (Lohman TG 2000). Στο συγκεκριμένο δείγμα ο μέγιστος $ΔΜΣ$ ήταν 37.6 kg/m^2 και για κανένα από τα παχύσαρκα άτομα δεν υπήρχε πρόβλημα τοποθέτησης στο μηχάνημα σάρωσης. Για την αποφυγή τεχνικών λαθών στην εκτίμηση της σύστασης σώματος στα παχύσαρκα άτομα, χρησιμοποιήθηκε η μεσαία ταχύτητα σάρωσης, όταν αυτή προτεινόταν από τον σαρωτή και συγκρίθηκε το σωματικό βάρος όπως

προκύπτει από την πρόσθεση των τριών τμημάτων (λίπους, ισχνής και οστικής μάζας) της DXA με το σωματικό βάρος που μέτρησε η ζυγαριά, το οποίο και δε διέφερε > 1 kg.

Συμπερασματικά, η μελέτη αυτή είχε ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη μίας νέας εξίσωσης BIA, που αφορά περιεμμηνοπαυσιακές γυναίκες μέσης ηλικίας. Η εξίσωση αυτή μπορεί με ακρίβεια να εκτιμήσει την άλιπη μάζα σώματος, αλλά και με ιδιαίτερη ευκολία, αφού απαιτεί μόνο τη μέτρηση του ύψους, του βάρους και της αντίστασης R.

2.5. Οι συγκεντρώσεις λεπτίνης και αντιπονεκτίνης στο αίμα, ως πιθανοί διαμεσολαβητές στη σχέση ανάμεσα στον λιπώδη ιστό και την οστική πυκνότητα περιεμμηνοπαυσιακών γυναικών.

Η παρούσα εργασία δημοσιεύτηκε ως:

Kontogianni MD, Dafni UG, Routsias JG and Skopouli FN. Blood leptin and adiponectin as possible mediators of the relation between fat mass and bone mineral density in perimenopausal women. J Bone Miner Res 2004 19(4): 546-551.

Περίληψη

Η λιπώδης μάζα αποτελεί καθοριστικό παράγοντα της οστικής πυκνότητας, αλλά οι μηχανισμοί που εμπλέκονται στη σχέση αυτή παραμένουν αβέβαιοι. Η λεπτίνη και η αντιγονεκτίνη, ως κυκλοφορούντα πεπτίδια παραγόμενα από το λιπώδη ιστό, μεσολαβούν πιθανόν στην παραπάνω σχέση. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση του πιθανού ρόλου της λεπτίνης και της αντιγονεκτίνης ως διαμεσολαβητές των επιδράσεων της λιπώδους μάζας στο σκελετό περιεμμηνοπαυσιακών γυναικών.

Είκοσι πέντε προ- και 55 μετεμμηνοπαυσιακές, υγιείς γυναίκες (42-68 ετών) έλαβαν μέρος στη μελέτη. Με τη μέθοδο DXA, μετρήθηκε η οστική πυκνότητα στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης (BMD_{02-04}), καθώς και η TBBMC. Οι συγκεντρώσεις της λεπτίνης προσδιορίστηκαν με τη μέθοδο ELISA και της αντιγονεκτίνης με τη ραδιοανοσολογική μέθοδο (RIA). Επιπρόσθετα εκτιμήθηκαν η σύσταση σώματος και οι συγκεντρώσεις διαφόρων ορμονών.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, η λεπτίνη συσχετιζόταν αρνητικά με την BMD_{02-04} ($\beta = -0,005$, $p = 0,027$) και την TBBMC ($\beta = -14,32$, $p = 0,013$). Η παραπάνω συσχέτιση ήταν σημαντική μόνο όταν τα επίπεδα ινσουλίνης συμπεριλαμβάνονταν στις ανεξάρτητες μεταβλητές των υποδειγμάτων της πολλαπλής παλινδρόμησης. Η αντιγονεκτίνη δεν παρουσίαζε σημαντική συσχέτιση με την BMD_{02-04} ή την TBBMC, τόσο κατά την παρουσία, αλλά και την απουσία της ινσουλίνης από τις ανεξάρτητες μεταβλητές.

Συμπερασματικά, φαίνεται πως η κυκλοφορούσα αντιγονεκτίνη δεν σχετίζεται με την οστική μάζα. Αντίθετα, η κυκλοφορούσα λεπτίνη παρουσιάζει αρνητική συσχέτιση με την οστική μάζα, εξαρτώμενη, όμως από τις συγκεντρώσεις της ινσουλίνης.

2.5.1 Εισαγωγή

Το σωματικό βάρος είναι ένας από τους ισχυρότερους παράγοντες, που σχετίζεται με αυξημένη οστική πυκνότητα και μειωμένο κίνδυνο για κατάγματα και στα δύο φύλα (Seeman E 1983, Melton LJ 3rd 1989, Slemenda CW 1990, Felson DT 1993). Εντούτοις, οι μηχανισμοί που ερμηνεύουν αυτή τη σχέση δεν είναι ακόμη πλήρως κατανοητοί.

Η μηχανική επίδραση της παχυσαρκίας στα οστά συνεισφέρει στη θετική σχέση ανάμεσα στο σωματικό βάρος και την οστική πυκνότητα είτε μέσω του λιπώδους ιστού είτε μέσω των μηχανικών επιδράσεων του αυξημένου σωματικού βάρους, που ασκούνται με τη μεσολάβηση του μυϊκού ιστού (Rubin CT 1985). Εντούτοις, η προστατευτική δράση του βάρους έχει παρατηρηθεί και σε σημεία του σκελετού που δεν φέρουν βάρη (non-weight-bearing sites) (Hla MM 1996), γεγονός που συνεπάγεται ότι παράγοντες άλλοι από τη μηχανική φόρτιση του σκελετού είναι πιθανόν σημαντικοί διαμεσολαβητές της σχέσης ανάμεσα στο σωματικό βάρος και την οστική πυκνότητα.

Το σωματικό λίπος έχει προταθεί ως καλύτερος παράγοντας πρόβλεψης της οστικής μάζας, απ' ότι το σωματικό βάρος και η ισχνή μάζα σώματος (Schott AM 1998). Η αύξηση της αρωματοποίησης των ανδρογόνων σε οιστρογόνα στο λιπώδη ιστό (Schindler AE 1972), που αποτελεί την κύρια πηγή οιστρογόνων μετά την εμμηνόπαυση (Grodin JM 1973), μπορεί εν μέρει να ερμηνεύσει τη θετική επίδραση του λίπους, στην οστική μάζα εμμηνόπαυσιακών γυναικών. Επιπρόσθετα, μειωμένα επίπεδα της δεσμευτικής σφαιρίνης των ορμονών των γονάδων (SHBG) (Reid IR 1992) και η παράλληλη αύξηση των ελεύθερων μορφών των στεροειδών των γονάδων, θεωρούνται πιθανοί μηχανισμοί της συσχέτισης της παχυσαρκίας με την αυξημένη οστική πυκνότητα, καθώς και η άμεση διέγερση του οστικού σχηματισμού, από τα αυξημένα επίπεδα κυκλοφορούσας ινσουλίνης (Reid IR 1993). Ο τελευταίος μηχανισμός πιθανόν αποδίδεται στη μιτογονική δράση της ινσουλίνης στους οστεοβλάστες (Barret – Connor E 1996).

Η λεπτίνη, το παράγωγο του *ob* γονιδίου, είναι μία μικρή πολυπεπτιδική ορμόνη που παράγεται κυρίως από τα λιποκύτταρα (Zhang Y 1994, Tartaglia LA 1995) και σχετίζεται ισχυρά και θετικά με τη λιπώδη μάζα (Thomas T 2000). Ανεπάρκεια λεπτίνης παρατηρείται σπάνια σε παχύσαρκα άτομα, ενώ τα περισσότερα παρουσιάζουν υπερλεπτιναιμία ανάλογη με τη λιπώδη μάζα και αντίσταση στη λεπτίνη (Considine RV 1996). Εκτός από τις δράσεις της λεπτίνης στο νευρικό σύστημα, έχει βρεθεί ότι επηρεάζει και πολλές άλλες ενδοκρινικές οδούς και κυρίως τον υποθαλαμο- υποφυσιακό- γοναδικό άξονα και τη βιολογία της ινσουλίνης (Wauters M 2000).

Τα αποτελέσματα πειραματικών μελετών *in vitro*, καθώς και σε πειραματόζωα, για την επίδραση της λεπτίνης στο μεταβολισμό των οστών είναι αντικρουόμενα. Υπάρχουν μελέτες που έχουν αποκαλύψει πως η λεπτίνη προάγει τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών (Thomas T 1999, Reseland JE 2001) και αναστέλλει τη δημιουργία οστεοκλαστών και την οστική απορρόφηση (Burguera B 2001, Holloway WR 2000, Gregoire Nyomba BL 1999). Εντούτοις, ICV έγχυση λεπτίνης σε ποντίκια με ανεπάρκεια λεπτίνης, τα οποία είναι παχύσαρκα, υπογοναδικά και έχουν αυξημένη οστική μάζα, προκάλεσε απώλεια οστού (Ducy P 2000), ενώ υποδόρια χορήγηση λεπτίνης σε μοντέλα πειραματόζωων ταχείας οστικής απώλειας εμπόδισε εν μέρει την απώλεια οστού (Burguera B 2001, Thomas T 2001).

Επίσης, επιδημιολογικές μελέτες σε ανθρώπους, για το ρόλο της λεπτίνης στο μεταβολισμό των οστών δεν οδηγούν στην εξαγωγή σαφών συμπερασμάτων. Αν και κάποιοι ερευνητές αναφέρουν την ύπαρξη θετικής συσχέτισης ανάμεσα στα επίπεδα λεπτίνης και την οστική πυκνότητα (Thomas T 2001 β, Goulding A 1998, Pasco JA 2001, Yamauchi M 2001), κάποιοι άλλοι δεν κατάφεραν να βρουν κάποια συσχέτιση (Blain H 2002, Rauch F 1998, Odabasi E 2000, Martini G 2001, Ruhl CE 2002), ενώ υπάρχουν και δημοσιευμένες μελέτες που προτείνουν την ύπαρξη αρνητικής συσχέτισης (Blum M 2003, Westvik J 1996, Sato M 2001, Ormarsdottir S 2001).

Η αντιπονεκτίνη από την άλλη μεριά είναι μία λιποκυτταροκίνη, που ανακαλύφθηκε πρόσφατα και η οποία εκφράζεται ειδικά και σημαντικά στα λιπώδη ανθρώπινα κύτταρα (Maeda K 1996). Αυτή η κυτταροκίνη είναι μία πρωτεΐνη, της οποίας το μόριο παρουσιάζει ομοιότητες με αυτό του κολλαγόνου και οι συγκεντρώσεις της στο ανθρώπινο πλάσμα κυμαίνονται στα 5 – 30 µg/ ml (Arita Y 1999). Η αντιπονεκτίνη είναι η μόνη πρωτεΐνη που παράγεται από το λιπώδη ιστό και ρυθμίζεται αρνητικά από την παχυσαρκία, γιατί έχει βρεθεί πως συσχετίζεται αρνητικά με τον ΔΜΣ, το σωματικό λίπος, καθώς και με τις συγκεντρώσεις ινσουλίνης νηστείας και τους δείκτες αντίστασης στην ινσουλίνη (Matsubara M 2002).

Σύμφωνα με τα έως τώρα επιστημονικά δεδομένα η αντιπονεκτίνη έχει αντιυπεργλυκαιμικές, αντιαθηρογενετικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες (Diez JJ 2003). Επιπρόσθετα, είναι παρούσα στον μυελό των οστών και μπορεί να αναστείλει το σχηματισμό των λιποκυττάρων από τα πρόδρομα στρωματικά κύτταρα του μυελού, μέσω ενός μηχανισμού εξαρτώμενου από το COX-2, υποδηλώνοντας έτσι ένα νέο μηχανισμό ρύθμισης της διαφοροποίησης των προ- λιποκυττάρων και μία πιθανή επίδραση του λιπώδους ιστού στον αιμοποιητικό (Yokota T 2002). Εντούτοις δεν υπάρχουν δημοσιευμένες μελέτες *in vivo*

ή *in vitro* που να διερευνούν την πιθανότητα επίδρασης της αντιπονεκτίνης στην οστική μάζα.

Στην παρούσα μελέτη, προσπαθήσαμε να διασαφηνίσουμε την επίδραση της λεπτίνης στην οστική μάζα, εκτιμώντας τους περισσότερους από εκείνους τους παράγοντες, που είναι γνωστό ότι επηρεάζουν τόσο το οστό, όσο και τον μεταβολισμό της λεπτίνης και να διερευνήσουμε την πιθανότητα ύπαρξης κάποιας συσχέτισης ανάμεσα στην πρόσφατα αναγνωρισμένη αντιπονεκτίνη και τον οστίτη ιστό, σε ένα δείγμα περιεμμηνοπαυσιακών γυναικών.

2.5.2. Υλικό και μέθοδοι

Ογδόντα γυναίκες ελληνικής καταγωγής με εύρος ηλικιών 42 – 68 έτη, συμμετείχαν στη συγκεκριμένη έρευνα. Η πρόσκληση ενδιαφέροντος έγινε μέσω μίας αγγελίας που δημοσιεύτηκε σε ένα περιοδικό. Κατόπιν φυσικής εξέτασης διαπιστώθηκε ότι όλες οι γυναίκες ήταν φαινομενικά υγιείς. Δεκατρείς από τις συμμετέχουσες δήλωσαν ότι λάμβαναν φαρμακευτική αγωγή για τη ρύθμιση του θυρεοειδούς, αλλά καμία άλλη ενδοκρινική ή ρευματολογική ασθένεια δεν αναφέρθηκε. Παράλληλα καμία από τις γυναίκες δεν είχε λάβει θεραπεία αναπλήρωσης ορμονών ή αντισυλληπτική αγωγή. Η εμμηνόπαυση ορίστηκε ως η απουσία έμμηνου ρύσης, για τουλάχιστον έξι μήνες με παράλληλα αυξημένα επίπεδα θηλακιοτρόπου ορμόνης (FSH) στον ορό (>40 U/ l). Καμία από τις συμμετέχουσες δεν λάμβανε φαρμακευτική αγωγή που θα μπορούσε να επηρεάσει την οστική πυκνότητα, όπως ασβέστιο, βιταμίνη D, καλσιτονίνη, διφωσφονικά, κορτικοστεροειδή, διουρητικά της αγκύλης, β- αδρενεργικούς αποκλειστές ή ανταγωνιστές της βιταμίνης K.

Συλλέχθηκαν πληροφορίες ως προς την πρόσληψη ασβεστίου, κατά την ενήλικη ζωή, με βάση ένα ερωτηματολόγιο συχνότητας και ποσότητας κατανάλωσης τροφίμων και τη σωματική δραστηριότητα (Baecke, 1982), το κάπνισμα και το ιστορικό καταγμάτων.

Οι αιμοληψίες των εθελοντών έγιναν 08.00–09.00 π.μ. κατόπιν ολονύκτιας νηστείας και δείγματα ορού και πλάσματος αποθηκεύτηκαν σε βαθιά κατάψυξη (στους – 80° C).

Ανθρωπομετρία

Οι συμμετέχουσες ζυγίστηκαν με ελαφρύ ρουχισμό και χωρίς παπούτσια με τη χρήση ζυγαριάς (Seca scale, Mod 220) και με ακρίβεια 0,5 kg. Το ύψος μετρήθηκε με αναστημόμετρο (Seca stadiometer, Mod 220) και με ακρίβεια 0,5 cm. Ο ΔΜΣ υπολογίστηκε

από τον τύπο βάρος (kg)/ ύψος² (m²). Παράλληλα μετρήθηκαν η περιφέρεια μέσης στο σημείο της ελάχιστης περιφέρειας και η περιφέρεια των ισχίων στο ευρύτερο σημείο, με ακρίβεια 0,5 cm και υπολογίστηκε ο λόγος περιφέρειας μέσης/ περιφέρεια ισχίων (WHR).

Η εκτίμηση της σύστασης σώματος πραγματοποιήθηκε για το σύνολο του δείγματος με τη μέθοδο της BIA χρησιμοποιώντας έναν τετραπολικό πληθυσμογράφο σύνθετης αντίστασης και μονής συχνότητας (50 kHz) (Model 101Q, RJL- Systems, Mt Clemens, MI, USA). Η εξίσωση που χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση της άλιπης μάζας σώματος (FFM) είναι αυτή που περιγράφηκε στο κεφάλαιο (2.4.3.). Πενήντα οκτώ από τις γυναίκες του δείγματος υποβλήθηκαν σε εκτίμηση της σύστασης όλου του σώματος και με τη μέθοδο της απορροφησιμετρίας ακτίνων Χ- διπλής ενέργειας (DXA) (software, version 4.7e, Model Lunar DPX, Lunar Corp., Madison, WI, USA) και εκτιμήθηκαν η ισχνή μάζα σώματος (LTM), καθώς και η μάζα του σωματικού λίπους.

Οστική πυκνότητα

Η οστική πυκνότητα (g/ cm²) μετρήθηκε για το σύνολο του δείγματος στην περιοχή της οσφυϊκής μοίρας της σπονδυλικής στήλης (ΟΜΣΣ) και συγκεκριμένα στους σπονδύλους Ο₂- Ο₄ με τη μέθοδο DXA (Model Lunar DPX, Lunar Corp., Madison, WI) και υπολογίστηκε με το λογισμικό της εταιρείας Lunar, έκδοση 4.7e. Για πενήντα οκτώ άτομα, πραγματοποιήθηκε και ολοσωματική σάρωση, με τον ίδιο σαρωτή και υπολογίστηκε η TB BMC (g). Όλες οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο. Ο σαρωτής ελεγχόταν καθημερινά για την ποιότητα των μετρήσεων με πρότυπο προσομοιωτή. Ο χρόνος σάρωσης ήταν για τη μέτρηση στη ΣΣ περίπου 6 – 7 λεπτά και ως ταχύτητα σάρωσης επιλέχθηκε η μεσαία (η οποία και προτείνεται από τον κατασκευαστή για τη μέτρηση αυτή). Όσον αφορά στην ολοσωματική σάρωση, η διάρκειά της ήταν περίπου 10 λεπτά και ως ταχύτητα χρησιμοποιήθηκε η γρήγορη εκτός αν το μηχάνημα πρότεινε τη μεσαία (π.χ. σε κάποια παχύσαρκα άτομα).

Προσδιορισμός επιπέδων ορμονών

Οι ακόλουθες ορμόνες μετρήθηκαν με ραδιοανοσολογικές μεθόδους (RIAs) του εμπορίου: κορτιζόλη (DSL, Webster, Texas; ευαισθησία 0,5 μg/dL; συντελεστής μεταβλητότητας της μεθόδου [intra-assay CV; IA- CV] 5,3 – 8,4%), ινσουλίνη (DSL; ευαισθησία 1,3 μIU/mL; IA- CV 8,3%); οιστραδιόλη (DPC, Los Angeles, California; ευαισθησία 8 pg/mL; IA- CV 4,3 - 7%), τεστοστερόνη (DPC ; ευαισθησία 5 ng/dl; IA- CV 11%), ελεύθερη τεστοστερόνη (DPC; ευαισθησία 0,15 pg/mL; IA- CV 8%) και θηλακιοτρόπος ορμόνη (DiaSorin, Saluggia, Italy; ευαισθησία 0,2 U/L). Οι συγκεντρώσεις

αντιπονεκτίνης προσδιορίστηκαν στο πλάσμα με μία ραδιοανοσολογική μέθοδο του εμπορίου (Linco Research, St Charles, MO; ευαισθησία 2 µg/ml; IA- CV 1,78 – 6,21%), ενώ οι συγκεντρώσεις λεπτίνης προσδιορίστηκαν στον ορό με τη μέθοδο της ανοσοενζυμικής τεχνικής - ELISA (R&D Systems Inc., Mineapolis; ευαισθησία 7,8 pg/mL; IA- CV 3,16%), η οποία διατίθεται στο εμπόριο.

Στατιστική ανάλυση

Η κανονικότητα των μεταβλητών ελέγχθηκε με τη δοκιμασία των Kolmogorov-Smirnov. Πραγματοποιήθηκαν επίσης, έλεγχοι t δύο δειγμάτων (Two samples t-test) και έλεγχοι U των Mann-Whitney, όπου υπήρχε ένδειξη, για τη σύγκριση διαφόρων συνεχών μεταβλητών ανάμεσα στις προεμμηνοπαυσιακές και στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Για τις κανονικές μεταβλητές παρατίθενται συντελεστές συσχέτισης Pearson, ενώ για τις μη κανονικές ή ποιοτικές μεταβλητές, συντελεστές συσχέτισης Spearman. Επιπρόσθετα, εφαρμόστηκε το μοντέλο της γραμμικής παλινδρόμησης βάσει επιλογής διαδοχικής αφαίρεσης (Backward Regression analysis) με κριτήριο αποκλεισμού $p \geq 0,1$, για τη διερεύνηση της σχέσης ανάμεσα στην BMD₀₂₋₀₄ και την TB BMC με τη λεπτίνη ή την αντιπονεκτίνη, λαμβάνοντας υπόψη και διάφορους άλλους παράγοντες που επηρεάζουν την οστική πυκνότητα και παρατίθενται οι συντελεστές προσδιορισμού R². Τέλος, εφαρμόστηκε το μοντέλο της λογιστικής παλινδρόμησης βάσει επιλογής διαδοχικής αφαίρεσης (Backward logistic regression analysis) με εξαρτημένη μεταβλητή τη συμμετοχή στην ομάδα των φυσιολογικών ή οστεοπενικών/ οστεοπορωτικών ατόμων (σύμφωνα με τον ορισμό της οστεοπενίας και της οστεοπόρωσης, όπως καθορίζονται από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας [WHO, 1994]). Τα δεδομένα επεξεργάστηκαν με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS 10.0 (Statistical Package for the Social Sciences).

2.5.3. Αποτελέσματα

Τα χαρακτηριστικά των ατόμων του δείγματος, καθώς και εκτιμήσεις της σύστασης σώματος, της οστικής πυκνότητας, της διαιτητικής πρόσληψης ασβεστίου, της σωματικής δραστηριότητας και οι συγκεντρώσεις διαφόρων ορμονών, παρουσιάζονται στον Πίνακα-2.5.1. Είκοσι πέντε γυναίκες ήταν προεμμηνοπαυσιακές και 55 μετεμμηνοπαυσιακές, με μέση διάρκεια εμμηνόπαυσης 3,3 έτη. Καμία από τις γυναίκες δεν είχε ιστορικό καταγμάτων και σύμφωνα με τις πληροφορίες που συλλέχτηκαν σχετικά με το κάπνισμα, 23,7% των ατόμων κάπνιζαν, 6,3% ήταν πρώην καπνιστές και 70% δεν κάπνισαν ποτέ. Οι μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες ήταν, όπως αναμενόταν, μεγαλύτερες σε ηλικία ($p < 0,0001$)

και είχαν λιγότερη FFM ($p = 0,034$), TB BMC ($p = 0,030$), BMD_{02-04} ($p = 0,013$) και χαμηλότερες συγκεντρώσεις τεστοστερόνης ($p = 0,003$) απ' ό τι οι προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, αλλά υψηλότερα επίπεδα αντιπνεκτίνης ($p = 0,011$).

Σε μεμονωμένα μοντέλα παλινδρόμησης και λαμβάνοντας υπόψη τον παράγοντα εμμηνόπαυση (0= προεμμηνοπαυσιακή περίοδος, 1= εμμηνόπαυση), βρέθηκε ότι η BMD_{02-04} συσχετιζόταν αρνητικά με την εμμηνόπαυση ($\beta = -0,11$ $p = 0,017$) και θετικά με το ΔΜΣ ($\beta = 0,013$ $p = 0,0020$), την LTM ($\beta = 0,013$ $p = 0,015$) και την ισουλίνη ($\beta = 0,020$ $p < 0,0001$). Η TB BMC συσχετιζόταν σημαντικά με την ηλικία ($\beta = -22,43$ $p = 0,015$), το ΔΜΣ ($\beta = 49,32$ $p < 0,0001$), το BF% ($\beta = 39,38$ $p < 0,0001$), την ισχυρή μάζα σώματος ($\beta = 70,11$ $p < 0,0001$), την ισουλίνη ($\beta = 86,94$ $p < 0,0001$), την τεστοστερόνη ($\beta = 9,52$ $p = 0,040$) και τη λεπτίνη ($\beta = 11,43$ $p = 0,019$), μετά από διόρθωση για τον παράγοντα εμμηνόπαυση, σε μεμονωμένα μοντέλα γραμμικών παλινδρομήσεων με δύο ανεξάρτητες μεταβλητές. Τόσο η BMD_{02-04} , όσο και η TB BMC δε συσχετιζόνταν σημαντικά με τις συνήθειες καπνίσματος, την πρόσληψη ασβεστίου, το δείκτη σωματικής δραστηριότητας και τα επίπεδα κορτιζόλης, θηλακιοτρόπου ορμόνης και ελεύθερης τεστοστερόνης.

Η λεπτίνη συσχετιζόταν σημαντικά με το ΔΜΣ ($r = 0,55$ $p < 0,0001$), το BF% ($r = 0,56$ $p < 0,0001$), τη FFM ($r = 0,36$ $p = 0,001$), την LTM ($r = 0,37$ $p = 0,005$), την TB BMC ($r = 0,28$ $p = 0,041$) και τις συγκεντρώσεις ισουλίνης ($r = 0,50$ $p < 0,0001$). Οι παραπάνω συσχετίσεις παρέμειναν στατιστικά σημαντικές μετά από διόρθωση για τον παράγοντα εμμηνόπαυση.

Όσον αφορά την αντιπνεκτίνη, συσχετιζόταν θετικά με την εμμηνόπαυση ($r = 0,32$ $p = 0,007$), με τις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες να παρουσιάζουν υψηλότερες συγκεντρώσεις αντιπνεκτίνης ($p = 0,011$). Σε μεμονωμένα υποδείγματα παλινδρόμησης και μετά από διόρθωση ως προς τον παράγοντα εμμηνόπαυση, η αντιπνεκτίνη συσχετιζόταν θετικά με την ηλικία ($\beta = 0,01$ $p = 0,092$) και αρνητικά με την FFM ($\beta = -0,01$ $p = 0,097$), τα επίπεδα οιστραδιόλης ($\beta = -0,0007$ $p = 0,012$) και τα επίπεδα ισουλίνης ($\beta = -0,018$ $p = 0,010$).

Σύμφωνα με την ανάλυση της πολλαπλής παλινδρόμησης, η αντιπνεκτίνη συσχετιζόταν αρνητικά με το ΔΜΣ ($\beta = -0,012$ $p = 0,083$), το BF% ($\beta = -0,012$ $p = 0,061$) και το WHR ($\beta = -0,964$ $p = 0,092$), μετά από διόρθωση για την ηλικία και την εμμηνόπαυση. Τέλος η αντιπνεκτίνη δε συσχετιζόταν σημαντικά με τη TB BMC, ενώ παρουσίαζε αρνητική συσχέτιση με την οστική πυκνότητα στην ΟΜΣΣ, η οποία όμως δεν παρέμεινε στατιστικά σημαντική μετά από διόρθωση για τον παράγοντα εμμηνόπαυση.

Πίνακας- 2.5.1. Περιγραφικά στατιστικά στοιχεία του δείγματος της μελέτης.

	Προεμμηνοπαυσιακές (N= 25)	Εμμηνοπαυσιακές (N= 55)	p
	Μέσος όρος ± τυπική απόκλιση	Μέσος όρος ± τυπική απόκλιση	
Ηλικία (έτη)	47,80 ± 3,14	54,47 ± 5,36	<0,0001 ^c
ΔΜΣ (kg/ m ²)	30,01 ± 5,22	28,98 ± 4,19	NS ^d
Περιφέρεια μέσης/ Περιφέρεια ισχίων (WHR)	0,78 ± 0,06	0,79 ± 0,05	NS ^c
% Σωματικού λίπους ^a	42,95 ± 5,79	42,97 ± 4,26	NS ^c
Άλιπη μάζα σώματος (kg) ^a	42,90 ± 4,92	40,36 ± 4,56	0,034 ^c
Ισχνή μάζα σώματος (kg) ^b	40,23 ± 5,70	37,94 ± 4,21	NS ^c
BMD ₀₂₋₀₄ (g/cm ²)	1,23 ± 0,16	1,13 ± 0,18	0,013 ^c
TBBMC (g)	2789,82 ± 433,84	2510,29 ± 394,32	0,030 ^c
Πρόσληψη ασβεστίου (mg)	785,63 ± 391,70	940,48 ± 369,88	NS ^d
Δείκτης σωματικής δραστηριότητας	7,40 ± 1,11	7,48 ± 1,25	NS ^c
Λεπτίνη (ng/ ml)	25,66 ± 11,78	26,48 ± 11,33	NS ^d
Ινσουλίνη (μIU/ ml)	7,25 ± 2,78	7,17 ± 4,32	NS ^d
Αντιπονεκτίνη (μg/ml)	7,9 ± 5,81	11,94 ± 7,00	0,011 ^d
Κορτιζόλη (μg/ dl)	10,43 ± 4,59	10,32 ± 5,16	NS ^c
Ελεύθερη τεστ/νη (pg/ ml)	1,23 ± 0,47	1,60 ± 1,18	NS ^d
Τεστοστερόνη (ng/ ml) (N=45)	41,26 ± 12,60	29,95 ± 13,45	0,003 ^c
Οιστραδιόλη (pg/ ml)		127,76 ± 51,42	
Οιστρόνη (pg/ ml)		25,09 ± 12,52	
FSH (U/ l)		63,31 ± 27,85	

NS: μη στατιστικά σημαντικό

^a όπως μετρήθηκε με τη μέθοδο της βιοηλεκτρικής αγωγιμότητας^b όπως μετρήθηκε με τη μέθοδο DXA (17 προ- και 41 μετεμμηνοπαυσιακές)^c έλεγχος T του Student, ^d έλεγχος U των Mann – Whitney

Στον Πίνακα- 2.5.2 παρουσιάζονται τα μοντέλα της πολλαπλής παλινδρόμησης με εξαρτημένες μεταβλητές την οστική BMD_{02-04} και την $TBBMC$. Ως ανεξάρτητες μεταβλητές στα μοντέλα της παλινδρόμησης χρησιμοποιήθηκαν η ηλικία, η εμμηνόπαυση, το κάπνισμα, η πρόσληψη ασβεστίου, ο δείκτης σωματικής δραστηριότητας, ο ΔΜΣ, το $BF\%$, η LTM , καθώς και η ινσουλίνη, η κορτιζόλη, η ελεύθερη τεστοστερόνη, η FSH , η λεπτίνη και η αντιπυονεκτίνη. Οι μεταβλητές που συσχετιζόνταν σημαντικά με την BMD_{02-04} , σύμφωνα με τα αποτελέσματα της πολλαπλής παλινδρόμησης ήταν η ηλικία, ο ΔΜΣ, η ινσουλίνη και η λεπτίνη και εξηγούσαν το 36.1% της διακύμανσης της BMD_{02-04} ($R^2 = 0,361$). Στο υπόδειγμα όπου εξαρτημένη μεταβλητή ήταν η $TBBMC$, οι ανεξάρτητες μεταβλητές που συσχετιζόνταν σημαντικά με την εξαρτημένη μεταβλητή ήταν η ηλικία, το $BF\%$, η LTM , η ινσουλίνη και η λεπτίνη και εξηγούσαν το 71% της διακύμανσης της $TBBMC$ ($R^2 = 0,71$). Η λεπτίνη και η ηλικία ήταν οι μόνες μεταβλητές που συσχετιζόνταν αρνητικά με την BMD_{02-04} και την $TBBMC$, ενώ και στα δύο υποδείγματα η ινσουλίνη αποτελούσε συγχυτικό παράγοντα με αποτέλεσμα, όταν δε συμπεριλαμβανόταν στις ανεξάρτητες μεταβλητές, η λεπτίνη δεν εισερχόταν σε κανένα από τα δύο μοντέλα παλινδρόμησης. Η αντιπυονεκτίνη δε συμπεριλαμβανόταν στα μοντέλα παλινδρόμησης, τόσο παρουσία, όσο και επί απουσίας της ινσουλίνης από τις ανεξάρτητες μεταβλητές. Σε μία υποομάδα γυναικών ($N = 45$), για τις οποίες διατίθονταν και τιμές τεστοστερόνης ορού, η ανάλυση της πολλαπλής παλινδρόμησης, με την BMD_{02-04} , ως εξαρτημένη μεταβλητή και την τεστοστερόνη ως επιπλέον ανεξάρτητη μεταβλητή, έδειξε ότι η τεστοστερόνη συσχετιζόταν σημαντικά με την BMD_{02-04} ($\beta = 0,0046$ $p = 0,0010$), όπως και η κορτιζόλη ($\beta = -0,0087$ $p = 0,056$), παράλληλα με την ηλικία, τον ΔΜΣ, την ινσουλίνη και τη λεπτίνη ($R^2 = 0,605$).

Τέλος, όταν διαχωρίσαμε τα άτομα σε φυσιολογικά ή οστεοπενικά/ οστεοπορωτικά παρατηρήθηκαν οι ακόλουθες διαφορές: οι γυναίκες με οστεοπενία ή οστεοπόρωση είχαν χαμηλότερο ΔΜΣ ($p = 0,032$), μεγαλύτερο διάστημα εμμηνόπαυσης ($p = 0,041$), χαμηλότερα επίπεδα τεστοστερόνης ($p < 0,0001$) και ινσουλίνης ($p = 0,017$). Τα επίπεδα λεπτίνης και αντιπυονεκτίνης δε διέφεραν στις δύο ομάδες. Σύμφωνα με την ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης που πραγματοποιήθηκε, με εξαρτημένη μεταβλητή τη συμμετοχή στην ομάδα των φυσιολογικών ή οστεοπενικών/ οστεοπορωτικών ατόμων και χρησιμοποιώντας ως ανεξάρτητες μεταβλητές την ηλικία, το ΔΜΣ, το $BF\%$, τον παράγοντα εμμηνόπαυσης, τα επίπεδα ινσουλίνης, λεπτίνης και αντιπυονεκτίνης, καθώς και τις συνήθειες καπνίσματος, τη διαιτητική πρόσληψη ασβεστίου και τη σωματική δραστηριότητα, μόνο η ινσουλίνη [$\beta = -0.33$ $p = 0,041$, $\exp(\beta) = 0,195$, 95% C.I. (0,046 – 0,825)] και ο παράγοντας εμμηνόπαυση [$\beta = 1,64$ $p = 0,026$, $\exp(\beta) = 1,39$, 95% C.I. (1,013 – 1,90)] εισήχθησαν στο μοντέλο της παλινδρόμησης.

Πίνακας- 2.5.2. Μοντέλα πολλαπλής παλινδρόμησης.

Μεταβλητή	Συντελεστής β ± Τυπικό σφάλμα	p
<i>Εξαρτημένη μεταλητή: BMD 02-04 (R²= 0,361)</i>		
Ηλικία	-0,008 ± 0,003	0,0060
ΔΜΣ	0,013 ± 0,005	0,015
Ινσουλίνη	0,017 ± 0,005	0,0030
Λεπτίνη	-0,005 ± 0,002	0,027
<i>Εξαρτημένη μεταλητή: TB BMC (R²= 0,710)</i>		
Ηλικία	-16,61 ± 6,34	0,013
% Σωματικού λίπους	20,50 ± 10,11	0,050
Ισχνή μάζα σώματος	66,90 ± 9,29	< 0,0001
Ινσουλίνη	22,89 ± 11,36	0,051
Λεπτίνη	-14,32 ± 5,49	0,013

2.5.4. Συζήτηση

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης υποδεικνύουν ότι η λεπτίνη έχει αρνητική συσχέτιση με την οστική πυκνότητα στις περιεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Στη συγκεκριμένη πληθυσμιακή ομάδα, η παραπάνω συσχέτιση βρέθηκε μόνο όταν λάβαμε υπόψη τα επίπεδα ινσουλίνης. Επιπλέον, τα επίπεδα κυκλοφορούσας αντιγονεκτίνης δε φαίνεται να ασκούν κάποια επίδραση στην οστική μάζα.

Οι γυναίκες που βρίσκονται στην περιεμμηνοπαυσιακή περίοδο έχουν κάποια ιδιαίτερα χαρακτηριστικά που μπορούν να συνοψιστούν ως εξής: αλλαγές στο αναπαραγωγικό σύστημα, στις ορμόνες του στρες, στο περιεχόμενο των οστών σε ανόργανα άλατα, αλλά και αύξηση του σωματικού λίπους και αλλαγή στην κατανομή αυτού. Κατά την περιεμμηνοπαυσιακή περίοδο, καθώς τα επίπεδα οιστρογόνων αρχίζουν να μειώνονται σημαντικά, οι ορμόνες του στρες σημειώνουν επίσης μείωση (Chrousos GP 1998), όπως και η απάντηση των κατεχολαμινών στο στρες (Komesaroff PA 1999). Πρόσφατα επιστημονικά δεδομένα έχουν δείξει ότι οι γυναίκες στην εμμηνόπαυση έχουν υψηλότερα επίπεδα κυκλοφορούσας ινσουλίνης και συνεπώς μεγαλύτερη τάση στην αποθήκευση λίπους. Η πλειοψηφία των γυναικών παίρνουν βάρος κατά την περιεμμηνοπαυσιακή περίοδο λόγω αποθήκευσης λίπους ιδιαίτερα στην κοιλιακή χώρα. Το γεγονός αυτό θεωρείται «φυσιολογικό» για τις γυναίκες άνω των σαράντα πέντε ετών (Heymsfield SB 1994,

Räikkönen K 1999). Φαίνεται λοιπόν πως οι περιεμμηνοπαυσιακές γυναίκες έχουν μοναδικά χαρακτηριστικά και γι' αυτό το λόγο στην παρούσα μελέτη συμπεριλάβαμε γυναίκες στα τελευταία χρόνια της προεμμηνοπαυσιακής περιόδου και άλλες στα πρώτα χρόνια μετά την εμμηνόπαυση, θεωρώντας αυτές ως ένα σύνολο με παρόμοια χαρακτηριστικά.

Οι προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες που συμμετείχαν στη μελέτη δεν διέφεραν στατιστικά σημαντικά από τις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες, ως προς το ποσοστό σωματικού λίπους και την κατανομή του, τα επίπεδα ινσουλίνης και κορτιζόλης. Εντούτοις, οι μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες είχαν χαμηλότερη BMD_{O2-O4} και TB BMC και αυξημένα επίπεδα αντιπνεκτίνης. Είναι γνωστό από προηγούμενες μελέτες ότι τα επίπεδα αντιπνεκτίνης συσχετίζονται αρνητικά με τα οιστρογόνα (Combs TP 2003). Εφόσον η αντιπνεκτίνη ασκεί μία προστατευτική δράση στο ενδοθήλιο των αγγείων (Ouchi N 1999), θα μπορούσαμε να υποθέσουμε ότι τα αυξημένα επίπεδα αντιπνεκτίνης στις εμμηνοπαυσιακές γυναίκες προσπαθούν να αντισταθμίσουν την ανεπάρκεια οιστρογόνων και την προστατευτική δράση αυτών σε διάφορους ιστούς και κυτταρικούς πληθυσμούς.

Επιπρόσθετα, όπως έχει βρεθεί και από άλλες μελέτες (Diez JJ 2003), βρήκαμε ότι η αντιπνεκτίνη συσχετίζεται αρνητικά με τα επίπεδα ινσουλίνης και τη λιπώδη μάζα και επιπλέον η παρούσα μελέτη διερεύνησε για πρώτη φορά την ύπαρξη συσχέτισης ανάμεσα στην αντιπνεκτίνη και την οστική μάζα, αλλά καμία σημαντική συσχέτιση δε βρέθηκε.

Όσον αφορά την επίδραση της λεπτίνης στην οστική μάζα, υπάρχουν αρκετές μελέτες σε ανθρώπους, οι οποίες δεν έδειξαν κάποια σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στις δύο αυτές μεταβλητές (Blain H 2002, Rauch F 1998, Odabasi E 2000, Martini G 2001, Ruhl CE 2002). Μία πρόσφατα δημοσιευμένη μεγάλη μελέτη (Ruhl CE 2002), στην οποία συμμετείχαν 5815 άτομα από την Τρίτη Εθνική Έρευνα Υγείας και Διατροφής των Η.Π.Α (Third U.S. National Health and Nutrition Examination Survey), δεν κατάφερε να αποκαλύψει μία σαφή συσχέτιση ανάμεσα στη λεπτίνη και την οστική πυκνότητα. Εντούτοις, σε αυτήν τη μελέτη δεν προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις ορμονών, ούτε εκτιμήθηκε η σύσταση σώματος των ατόμων.

Εντούτοις, οι Pasco και συν. (2001) ανέφεραν πρώτοι την ύπαρξη μίας θετικής επίδρασης της κυκλοφορούσας λεπτίνης στην οστική επιμετάλλωση, λαμβάνοντας υπόψη τους παράγοντες ηλικία και λιπώδη μάζα, αλλά ούτε σε αυτή τη μελέτη προσδιορίστηκαν τα επίπεδα ορμονών και επιπλέον οι ερευνητές δεν έλαβαν υπόψη τον παράγοντα εμμηνόπαυση, κατά την ανάλυση των αποτελεσμάτων. Επίσης, οι Thomas και συν. (2001) έδειξαν ότι η συσχέτιση που υπάρχει ανάμεσα στην λιπώδη και την οστική μάζα αποδυναμώνεται μετά από διόρθωση ως προς τον παράγοντα λεπτίνη, αν και οι ερευνητές δε χρησιμοποίησαν μοντέλα πολλαπλής παλινδρόμησης για την ανάλυση των δεδομένων τους.

Πρόσφατα, οι Blain και συν (2002) ανέφεραν ότι η λεπτίνη σχετίζεται θετικά με την ολική οστική πυκνότητα του σώματος, αλλά και με του ισχίου σε ένα δείγμα μετεμμηνοπαυσιακών, μη παχύσαρκων γυναικών και ότι η σχέση αυτή είναι ανεξάρτητη από την επίδραση που ασκούν στην οστική πυκνότητα τα έτη εμμηνόπαυσης, η λιπώδης μάζα, η έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας, η πρόσληψη ασβεστίου και διάφοροι ορμονικοί παράγοντες. Σε αυτήν τη μελέτη δε βρέθηκε κάποια συσχέτιση ανάμεσα στη λεπτίνη και την οστική πυκνότητα στην ΟΜΣΣ.

Αντίθετα, οι Blum και συν. (2003) βρήκαν ότι για ένα συγκεκριμένο ποσοστό σωματικού λίπους, η λεπτίνη σχετιζόταν αρνητικά με την οστική πυκνότητα σε δείγμα προεμμηνοπαυσιακών γυναικών.

Πειράματα *in vitro* και μελέτες σε πειραματόζωα έχουν δείξει ότι η λεπτίνη ασκεί ανασταλτική δράση στο σχηματισμό νέου οστού (Ducy P 2000) και ότι στην επίδραση αυτή δε φαίνεται να μεσολαβούν ενδοκρινικοί ή παρακρινικοί μηχανισμοί, αλλά η δράση της λεπτίνης στο κεντρικό νευρικό σύστημα (Ducy P 2000). Μελέτες έχουν αποκαλύψει την ύπαρξη ομάδων νευρώνων στον υποθάλαμο, που συμμετέχουν στην αντιοστεογενετική δράση της λεπτίνης, καθώς και ότι οι νευρώνες αυτοί είναι διαφορετικοί από εκείνους που συμμετέχουν στη ρύθμιση του ενεργειακού μεταβολισμού (Ducy P 2000). Επίσης, πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι το συμπαθητικό νευρικό σύστημα είναι ο περιφερικός διαμεσολαβητής της δράσης της λεπτίνης στην οστική μάζα (Takeda S 2002).

Επιπλέον, η λεπτίνη φαίνεται ότι δρα μέσω του συμπαθητικού συστήματος και σε άλλους ιστούς, όπως ο λιπώδης και σε όργανα όπως οι νεφροί και το πάγκρεας (Collins S 1996, Haynes WG 1997, Dunbar JC 1997). Κεντρική ή συστηματική χορήγηση λεπτίνης σε ποντίκια που δεν έχουν υποστεί κάποια παρέμβαση (wild type) ή σε άλλα με ανεπάρκεια λεπτίνης, φαίνεται ότι μειώνει τις συγκεντρώσεις κυκλοφορούσας ινσουλίνης έως και 85% (Jang M 2000, Pelleymounter MA 1995), ενώ τουλάχιστον μία μελέτη έχει δείξει ότι η καταστολή της έκκρισης ινσουλίνης μετά από χορήγηση γλυκόζης επιτυγχάνεται μέσω του συμπαθητικού συστήματος (Mizuno A 1998).

Οι παραπάνω πειραματικές μελέτες βρίσκονται σε συμφωνία με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, η οποία έδειξε ξεκάθαρα ότι η ινσουλίνη ασκεί θετική επίδραση στην οστική μάζα και ότι η αρνητική επίδραση της λεπτίνης στην οστική μάζα, επηρεαζόταν από τα επίπεδα ινσουλίνης. Αυτό μας ώθησε να υποθέσουμε ότι η λεπτίνη δρα πιθανώς κεντρικά, μέσω του συμπαθητικού συστήματος και ότι αναστέλλει την οστικό σχηματισμό είτε άμεσα είτε έμμεσα μέσω καταστολής της έκκρισης ινσουλίνης. Εναλλακτικά, άλλοι άγνωστοι έως τώρα παράγοντες είναι πιθανό να διεγείρουν τη δράση του συμπαθητικού συστήματος, που με τη σειρά του μπορεί να ευοδώνει την αντίσταση στην ινσουλίνη και τη λεπτίνη. Αυτό ίσως

εξηγεί γιατί παχύσαρκοι ενήλικες έχουν υψηλά επίπεδα λεπτίνης και φυσιολογική για την ηλικία τους, οστική μάζα (Ahima RS 2000). Στο δείγμα της παρούσας μελέτης ο μέσος όρος του ΔΜΣ ήταν 29.3 ± 4.53 , με το 37% των ατόμων να είναι υπέρβαρα ($25 \leq \text{BMI} < 30$) και το 30% παχύσαρκα ($\text{BMI} \geq 30$), αντιπροσωπεύοντας έναν υπέρβαρο πληθυσμό, ο οποίος είναι πιθανό να έχει υψηλές συγκεντρώσεις λεπτίνης, λόγω αντίστασης στην ενδογενή λεπτίνη. Εντούτοις, το εύρος των επιπέδων της λεπτίνης, ακόμα και στην ομάδα των παχύσαρκων ατόμων ήταν παρόμοιο με αυτό που παρατηρήθηκε σε άλλες μελέτες, στις οποίες οι παχύσαρκοι είχαν αποκλειστεί (Goulding A 1998, Yamauchi M 2001).

Τέλος, στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες το ενεργοποιημένο συμπαθητικό σύστημα μπορεί επίσης να ερμηνεύσει την αύξηση των επιπέδων της αντιπονεκτίνης. Αυτή η υπόθεση υποστηρίζεται από άλλες μελέτες που έδειξαν ότι η χρόνια διέγερση του συμπαθητικού συστήματος (με χορήγηση β_3 -αδρενεργικών αγωνιστών) οδηγεί σε αύξηση των επιπέδων αντιπονεκτίνης στον ορό (Zhang Y 2002).

Συμπερασματικά, οι ορμόνες του λιπώδους ιστού, λεπτίνη και αντιπονεκτίνη, δε φαίνεται να δρουν άμεσα, ως διαμεσολαβητές της θετικής επίδρασης του λίπους στην οστική μάζα, στις περιεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Η αντιπονεκτίνη φαίνεται πως δεν ασκεί καμία επίδραση στην οστική μάζα, ενώ η αρνητική συσχέτιση ανάμεσα στη λεπτίνη και την οστική μάζα μπορεί δεν οφείλεται μόνο στο σωματικό λίπος, αλλά θα μπορούσε να αποδοθεί σε μία περίπλοκη αλληλουχία γεγονότων και αλληλεπιδράσεων μεταξύ των ορμονών, του συμπαθητικού συστήματος και της κατανομής του σωματικού λίπους, που σημειώνονται σε αυτήν την περίοδο της ζωής των γυναικών.

3. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Agnusdei D**, Civitelli R, Camporeale A, Gennari C. Calcitonin and estrogens. *J Endocrinol Invest* 1990 13: 625-30.
- Ahima RS**, Flier JS. Leptin. *Annu Rev Physiol* 2000 62: 413-37.
- Albanese CV**, Diessel E, Genant HK. Clinical applications of body composition measurements using DXA. *J Clin Densitom* 2003 6: 75-85.
- Andreoli TE**, Bennett JC, Carpenter CC, Plum F. Cecil Βασική παθολογία. Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας 2000, 4^η έκδοση, σελ: 693-732.
- Arita Y**, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoka K, Kuriyama H, Nishida M, Yamashita S, Okubo K, Matsubara K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T, Matsuzawa Y. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. *Biochem Biophys Res Commun* 1999 257: 79-83.
- Arjmandi BH**, Salih MA, Herbert DC, Sims SH, Kalu DN. Evidence for estrogen receptor-linked calcium transport in the intestine. *Bone Miner* 1993 21: 63-74.
- Avioli LV**. Heparin-induced osteopenia: an appraisal. *Adv Exp Med Biol* 1975 52: 375- 387.
- Baecke JAH**, Burema J, Frijters JE. A short questionnaire for the measurement of habitual physical activity in epidemiological studies. *Am J Clin Nutr* 1982 36: 936-942.
- Baron JA**. Smoking and estrogen related disease. *Am J Epidemiol* 1984 119: 9-22.
- Baron RE**. Anatomy and ultrastructure of bone. In: *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. Favus MJ (Ed), 1996 3d edition, Lippincott – Raven, pp: 1-10.
- Barrett-Connor E**, Chang JC, Edelstein SL. Coffee-associated osteoporosis offset by daily milk consumption. The Rancho Bernardo Study. *JAMA* 1994 271: 280-283.
- Barret – Connor E**, Kritz – Silverstein D. Does hyperinsulinemia preserve bone? *Diabetes Care* 1996 19: 1388-1392.
- Baumgartner RN**. Electrical impedance and total body electrical conductivity. In: *Human Body Composition*. Roche AF, Heymsfield SB, Lohman TG, (eds). Champaign, IL: Human Kinetics; 1996, pp: 79 – 107.
- Beltowski J**. Adiponectin and resistin- new hormones of white adipose tissue. *Med Sci Monit* 2003 9: RA55-61.
- Bettica P**, Bevilacqua M, Vago T, Norbiato G. High prevalence of hypovitaminosis D among free-living postmenopausal women referred to an osteoporosis outpatient clinic in northern Italy for initial screening. *Osteoporos Int* 1999 9: 226-229.

Bioelectrical Impedance Analysis in body composition measurement. NIH Technol Assess Statement 1994 Dec 12-14. Am J Clin Nutr 1996 64(Suppl): 524S-532S.

Blain H, Vuillemin A, Guillemin F, Durant R, Hanesse B, de Talance N, Doucet B, Jeandel C. Serum leptin level is a predictor of bone mineral density in postmenopausal women. J Clin Endocrinol Metab 2002 87: 1030-1035.

Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. Lancet 1986 8: 307-310.

Block G, Hartman AM, Dresser CM, Carroll MD, Gannon J, Gardner L. A data-based approach to diet questionnaire design and testing. Am J Epidemiol 1986 124: 453-469.

Bloom W, Fawcett DW. Bone. In: A Textbook of Histology, 1975, 10th edition, WB Saunders Company, pp: 244-288.

Blum M, Harris SS, Must A, Naumova EN, Phillips SM, Rand WM, Dawson – Hughes B. Leptin, body composition and bone mineral density in premenopausal women. Calcif Tissue Int 2003 73: 27-32.

Bray GA. Clinical evaluation of the obese patient. Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 1999 13: 71-92.

Brot C, Jorgensen N, Madsen OR, Jensen LB, Sorensen OH. Relationships between bone mineral density, serum vitamin D metabolites and calcium: phosphorus intake in healthy perimenopausal women. J Intern Med 1999 245: 509-516.

Bulun SE, Simson ER. Competitive RT-PCR analysis indicates levels of aromatase cytochrome P450 transcripts in adipose tissue of buttocks, thighs and abdomen of women increase with advancing age. J Clin End Metab 1994 78: 428-432.

Burguera B, Hofbauer LC, Thomas T, Gori F, Evans GL, Khosla S, Riggs BL, Turner RT. Leptin reduces ovariectomy-induced bone loss in rats. Endocrinology 2001 142: 3546-3553.

Canalis E. Regulation of bone remodeling. In: Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism. Favus MJ (Ed), 1996 3d edition, Lippincott – Raven, pp: 29-34.

Caniggia A, Lore F, di Cairano G, Nuti R. Main endocrine modulators of vitamin D hydroxylases in human pathophysiology. J Steroid Biochem 1987 27: 815-824.

Caprio M, Fabbrini E, Isidori AM, Aversa A, Fabbri A. Leptin in reproduction. Trends Endocrinol Metab 2001 12: 65-72.

Caro JF, Kolaczynski JW, Nyce MR, Ohannesian JP, Opentanova I, Goldman WH, Lynn RB, Zhang PL, Sinha MK, Considine RV. Decreased cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance. Lancet 1996 348: 159-161.

Cauley JA, Gutai JP, Sandler RB, LaPorte RE, Kuller LH, Sashin D. The relationship of endogenous estrogen to bone density and bone area in normal postmenopausal women. *Am J Epidemiol* 1986 124: 752-761.

Chapuy MC, Preziosi P, Maamer M et al. Prevalence of vitamin D insufficiency in an adult normal population. *Osteoporos Int* 1997 7: 439-443.

Chow JW, Lean JM, Chambers TJ. 17 beta-estradiol stimulates cancellous bone formation in female rats. *Endocrinology* 1992 130: 3025-3032.

Chrousos GP, Torpy DJ, Gold PW. Interactions between the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the female reproductive system: clinical implications. *Ann Intern Med* 1998 129: 229-240.

Chumlea WC, Guo SS. Bioelectrical impedance and body composition: present status and future directions. *Nutr Rev* 1994 52: 123-131

Collins S, Kuhn CM, Petro AE, Swick AG, Chrnyk BA, Surwit RS. Role of leptin in fat regulation. *Nature* 1996 380(6576):677.

Combs TP, Berg AH, Rajala MW, Klebanov S, Iyengar P, Jimenez-Chillaron JC, Patti ME, Klein SL, Weinstein RS, Scherer PE. Sexual differentiation, pregnancy, calorie restriction and aging affect the adipocyte – specific secretory protein, adiponectin. *Diabetes* 2003 52: 268-276.

Compston JE, Papapoulos SE, Blanchard F. Report on osteoporosis in the European Community: current status and recommendations for the future. *Osteoporos Int* 1998 8: 531-534.

Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, McKee LJ, Bauer TL, Caro JF. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 1996 334: 292-295.

Cornish J, Callon KE, Bava U, Lin C, Naot D, Hill BL, Grey AB, Broom N, Myers DE, Nicholson GC, Reid IR. Leptin directly regulates bone cell function in vitro and reduces bone fragility in vivo. *J Endocrinol* 2002 175: 405-415.

Cumin F, Baum HP, Levens N. Leptin is cleared from the circulation primarily by the kidney. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1996 20: 1120-1126.

Cummings SR, Block G, McHenry K, Baron RB. Evaluation of two food frequency methods of measuring dietary calcium intake. *Am J Epidemiol* 1987 126: 796-802.

Dalsky GP. Effect of exercise on bone: permissive influence of estrogen and calcium. *Med Sci Sports Exerc* 1990 22: 281-285.

Das SK, Roberts SB, Kehayias JJ, Wang J, Hsu LK, Shikora SA, Saltzman E, McCrory MA. Body composition assessment in extreme obesity and after massive weight loss induced by gastric bypass surgery. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003 284: E1080-1088.

Dawson-Hughes B, Harris SS. Calcium intake influences the association of protein intake with rates of bone loss in elderly men and women. *Am J Clin Nutr* 2002 75: 773-779.

Desport JC, Preux PM, Bouteloup-Demange C, Clavelou P, Beaufrere B, Bonnet C, Couratier PP. Validation of bioelectrical impedance analysis in patients with amyotrophic lateral sclerosis. *Am J Clin Nutr* 2003 77: 1179-1185.

Deurenberg P, van Der Kooy K, Leenen R, Weststrate JA, Seidell JC. sex and age specific prediction formulas for estimating body composition from bioelectrical impedance: a cross-validation study. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1991 15: 17-25.

Deurenberg P, Westerterp KR, Velthuis-Te Wierik EJ. Between-laboratory comparison of densitometry and bio-electrical impedance measurements. *Br J Nutr* 1994 71: 309-316.

Devine A, Criddle RA, Dick IM, Kerr DA, Prince RL. A longitudinal study of the effect of sodium and calcium intakes on regional bone density in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 1995 62: 740-745.

Δημητρίου ΠΑ. Μετρήσεις φωτονιακής οστεοπυλνομετρίας: αρχές – μεθοδολογία. *Οστούν* 1993 4: 55-61.

Διαμαντής ΕΦ, Σίσκος ΠΑ, Παπαναστασίου- Διαμαντή Α. Μαθήματα Κλινικής Χημείας. Εκδόσεις Λύχνος, Αθήνα 1987.

Diaz EO, Villar J, Immink M, Gonzales T. Bioimpedance or anthropometry? *Eur J Clin Nutr* 1989 43: 129-137.

Diez JJ, Iglesias P. The role of the novel adipocyte-derived hormone adiponectin in human disease. *Eur J Endocrinol* 2003 148: 293-300.

Drinkwater BL. Exercise in the prevention of osteoporosis. *Osteoporos Int* 1993 3(Suppl 1): 169-171.

Ducy P, Amling M, Takeda S, Priemel M, Schilling AF, Beil FT, Shen J, Vinson C, Rueger JM, Karsenty G. Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass. *Cell* 2000 100: 197-207.

Ducy P, Schinke T, Karsenty G. The osteoblast: a sophisticated fibroblast under central surveillance. *Science* 2000 289: 1501-1504.

Dunbar JC, Hu Y, Lu H. Intracerebroventricular leptin increases lumbar and renal sympathetic nerve activity and blood pressure in normal rats. *Diabetes* 1997 46: 2040-2043.

Durnin JV, Womersley J. Body fat assessed from total body density and its estimation from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged from 16 to 72 years. *Br J Nutr* 1974 32: 77-97.

Dustan CR, Evans RA, Hills E, Wong SYP, Higgs RJED. Bone death in hip fracture in the elderly. *Calcif Tissue Int* 1990 47: 270 - 275.

Eastell R, Lambert H. Diet and healthy bones. *Calcif Tissue Int* 2002 70: 400-404.

Edelstein SL, Barrett-Connor E. Relation between body size and bone mineral density in elderly men and women. *Am J Epidemiol* 1993 138: 160-169.

Edman CD, MacDonald PC. Effect of obesity on conversion of plasma androstenedione to estrone in ovulatory and anovulator young women. *Am J Obstet Gynecol* 1978 130: 456-461.

Ellis KJ. Selected body composition methods can be used in field studies. *J Nutr* 2001 131: 1589S-1595S.

Eriksen EF, Colvard DS, Berg NJ, Graham ML, Mann KG, Spelsberg TC, Riggs BL. Evidence of estrogen receptors in normal human osteoblast-like cells. *Science* 1988 241: 84-86.

Ernst M, Heath JK, Schmid C, Froesch RE, Rodan GA. Evidence for a direct effect of estrogen on bone cells in vitro. *J Steroid Biochem* 1989 34: 279-284.

Evans CE, Chughtai AY, Blumsohn A, Giles M, Eastell R. The effect of dietary sodium on calcium metabolism in premenopausal and postmenopausal women. *Eur J Clin Nutr* 1997 51: 394-399.

Evenson KR, Rosamond WD, Cai J, Toole JF, Hutchinson RG, Shahar E, Folsom AR. Physical activity and ischemic stroke risk. The atherosclerosis risk in communities study. *Stroke* 1999 30: 1333-1339.

Fasshauer M, Klein J, Neumann S, Eszlinger M, Paschke R. Hormonal regulation of adiponectin gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2002 290: 1084-1089.

Felson DT, Zhang Y, Hannan MT, Anderson JJ. Effects of weight and body mass index on bone mineral density in men and women: the Framingham study. *J Bone Miner Res* 1993 8: 567-573.

Forbes GB, Halloran E. The adult decline in lean body mass. *Hum Biol* 1976 48: 162-173.

Frayn KN, Karpe F, Fielding BA, Macdonald IA, Coppack SW. Integrative physiology of human adipose tissue. *Int J Obes* 2003 27: 875-888.

Freudenheim JL, Johnson NE, Smith EL. Relationships between usual nutrient intake and bone-mineral content of women 35-65 years of age: longitudinal and cross-sectional analysis. *Am J Clin Nutr* 1986 44: 863-876.

Frost HM. Obesity and bone strength and "mass": a tutorial based on insights from a new paradigm. *Bone* 1997 21: 211-214.

Fukayama S, Tashjian AH Jr. Direct modulation by estradiol of the response of human bone cells (SaOS-2) to human parathyroid hormone (PTH) and PTH-related protein. *Endocrinology* 1989 124: 397-401.

Gabay C, Dreyer M, Pellegrinelli N, Chicheportiche R and Meier CA. Leptin directly induces the secretion of interleukin 1 receptor antagonist in human monocytes. *J Clin Endocrinol Metab* 2001 86: 783–789.

Garner SC, Anderson JJ, Mar MH, Parikh I. Estrogens reduce bone loss in the ovariectomized, lactating rat model. *Bone Miner* 1991 15: 19-31.

Gavrila A, Chan JL, Yiannakouris N, Kontogianni M, Miller LC, Orlova C, Mantzoros CS. Serum adiponectin levels are inversely associated with overall and central fat distribution but are not directly regulated by acute fasting or leptin administration in humans: cross-sectional and interventional studies. *J Clin Endocrinol Metab* 2003 88: 4823-4831.

Genton L, Hans D, Kyle UG, Pichard C. Dual-energy X-ray absorptiometry and body composition: differences between devices and comparison with reference methods. *Nutrition* 2002 18: 66-70.

Golden PL, Maccagnan TJ, Pardridge WM. Human blood-brain barrier leptin receptor. Binding and endocytosis in isolated human brain microvessels. *J Clin Invest* 1997 99: 14-18.

Goulding A, Taylor RW. Plasma leptin values in relation to bone mass and density and to dynamic biochemical markers of bone resorption and formation in postmenopausal women. *Calcif Tissue Int* 1998 63: 456-458.

Greenspan SL, Greenspan FS. The effect of thyroid hormone on skeletal integrity. *Ann Int Med* 1999 130:750-758.

Gregoire Nyomba BL, Johnson M, Berard L, Murphy LJ. Relationship between serum leptin and the insulin-like growth factor-I system in humans. *Metabolism* 1999 48: 840-844.

Grinspoon S, Gulick T, Askari H, Landt M, Lee K, Anderson E, Ma Z, Vignati L, Bowsher R, Herzog D, Klibanski A. Serum leptin levels in women with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 1996 81: 3861-3263.

Grinspoon S, Thomas E, Pitts S, Gross E, Mickley D, Miller K, Herzog D, Klibanski A. Prevalence and predictive factors for regional osteopenia in women with anorexia nervosa. *Ann Intern Med* 2000 133: 790-794.

Grodin JM, Siiteri PK, MacDonald PC. Source of estrogen production in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1973 36: 207-14.

Guyton AC. Φυσιολογία του ανθρώπου. Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας 1990, σελ: 698-715.

Hahn TJ. Steroid and drug induced osteopenia. In: *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*. Favus MJ (Ed) Lippincott – Raven, pp: 158-162.

Hahn TJ. Drug-induced disorders of vitamin D and mineral metabolism. Clin Endocrinol Metab 1980 9: 107-129.

Halaas JL, Gajiwala KS, Maffei M, Cohen SL, Chait BT, Rabinowitz D, Lallone RL, Burley SK, Friedman JM. Weight-reducing effects on the plasma protein encoded by the obese gene. Science 1995 269: 543-546.

Hannan MT, Tucker KL, Dawson-Hughes B, Cupples LA, Felson DT, Kiel DP. Effect of dietary protein on bone loss in elderly men and women: the Framingham Osteoporosis Study. J Bone Miner Res 2000 15: 2504-2512.

Hansen NJ, Lohman TG, Going SB, Hall MC, Pamentier RW, Bare LA, Boyden TW, Houtkooper LB. Prediction of body composition in premenopausal females from dual-energy X-ray absorptiometry. J Appl Physiol 1993 75: 1637-1641.

Hansson GK. Regulation of immune mechanisms in atherosclerosis. Ann N Y Acad Sci 2001 947: 157-165.

Harris SS, Dawson-Hughes B. Caffeine and bone loss in healthy postmenopausal women. Am J Clin Nutr 1994 60: 573-578.

Haynes WG, Morgan DA, Walsh SA, Mark AL, Sivitz WI. Receptor-mediated regional sympathetic nerve activation by leptin. J Clin Invest 1997 100: 270-278.

Heaney RP, Abrams S, Dawson-Hughes B, Looker A, Marcus R, Matkovic V, Weaver C. Peak bone mass. Osteoporos Int 2000 11: 985-1009.

Hemsell DL, Grodin JM, Brenner PF, Siiteri PK, MacDonald PC. Plasma precursors of estrogen. II. Correlation of the extent of conversion of plasma androstenedione to estrone with age. J Clin Endocrinol Metab 1974 38: 476-479.

Hernandez-Avila M, Colditz GA, Stampfer MJ, Rosner B, Speizer FE, Willett WC. Caffeine, moderate alcohol intake, and risk of fractures of the hip and forearm in middle-aged women. Am J Clin Nutr 1991 54: 157-163.

Heymsfield SB, Gallagher D, Poehlman ET, Wolper C, Nonas K, Nelson D, Wang ZM. Menopausal changes in body composition and energy expenditure. Exp Gerontol 1994 29: 377-389.

Himms-Hagen J. Physiological roles of the leptin endocrine system: differences between mice and humans. Crit Rev Clin Lab Sci 1999 36: 575-655.

Hla MM, Davis JW, Ross PD, Wasnich RD, Yates AJ, Ravn P, Hosking DJ, McClung MR. A multicenter study of the influence of fat and lean mass on bone mineral content: evidence for differences in their relative influence at major fracture sites. Early Postmenopausal Intervention Cohort (EPIC) Study Group. Am J Clin Nutr 1996 64: 354-360.

Hofbauer LC, Lacey DL, Dunstan CR, Spelsberg TC, Riggs BL, Khosla S. Interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha, but not interleukin-6, stimulate osteoprotegerin ligand gene expression in human osteoblastic cells. *Bone* 1999 25: 255-259.

Hoggard N, Hunter L, Duncan JS, Williams LM, Trayhurn P and Mercer JG. Leptin and leptin receptor mRNA and protein expression in the murine fetus and placenta. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997 94: 11073–11078.

Holloway WR, Collier FM, Aitken CJ, Myers DE, Hodge JM, Malakellis M, Gough TJ, Collier GR, Nicholson GC. Leptin inhibits osteoclast generation. *J Bone Miner Res* 2002 17: 200-209.

Huang L, Cai L. Leptin: a multifunctional hormone. *Cell Res* 2000 10: 81-92.

Hunter DJ, Sambrook PN. Bone loss. Epidemiology of bone loss. *Arthritis Res* 2000 2: 441-445.

Ilich JZ, Kerstetter JE. Nutrition in bone health revisited: a story beyond calcium. *J Am Coll Nutr* 2000 19: 715-737.

Ilich JZ, Brownbill RA, Tamborini L, Crncevic-Orlic Z. To drink or not to drink: how are alcohol, caffeine and past smoking related to bone mineral density in elderly women? *J Am Coll Nutr* 2002 21: 536-544.

Itoh R, Suyama Y, Oguma Y, Yokota F. Dietary sodium, an independent determinant for urinary deoxypyridinoline in elderly women. A cross-sectional study on the effect of dietary factors on deoxypyridinoline excretion in 24-h urine specimens from 763 free-living healthy Japanese. *Eur J Clin Nutr* 1999 53: 886-890.

Iwaniec UT, Shearon CC, Heaney RP, Cullen DM, Yee JA. Leptin increases number of mineralized bone nodules in vitro. *Bone* 1998 23(Suppl): S212 (Abstr).

Jakicic JM, Wing RR, Lang W. Bioelectrical impedance analysis to assess body composition in obese adult women: the effect of ethnicity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1998 22: 243-249.

Jang M, Mistry A, Swick AG, Romsos DR. Leptin rapidly inhibits hypothalamic neuropeptide Y secretion and stimulates corticotropin-releasing hormone secretion in adrenalectomized mice. *J Nutr* 2000 130: 2813-2820.

Janik JE, Curti BD, Considine RV, Rager HC, Powers GC, Alvord WG, Smith JW 2nd, Gause BL, Kopp WC. Interleukin 1 α increases serum leptin concentrations in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1997 82: 3084-3086.

Jebb SA. Measurement of soft tissue composition by dual energy X-ray absorptiometry. *Br J Nutr* 1997 77: 151-163.

Jenkins AB, Markovic TP, Fleury A, Campbell LV. Carbohydrate intake and short-term regulation of leptin in humans. *Diabetologia* 1997 40: 348-351.

Kanis JA. Diagnosis of osteoporosis and assessment of fracture risk. *Lancet* 2002 359: 1929-1936.

Kanis J, Johnell O, Gullberg B, Allander E, Elffors L, Ranstam J, Dequeker J, Dilsen G, Gennari C, Vaz AL, Lyritis G, Mazzuoli G, Miravet L, Passeri M, Perez Cano R, Rapado A, Ribot C. Risk factors for hip fracture in men from southern Europe: the MEDOS study. Mediterranean Osteoporosis Study. *Osteoporos Int* 1999 9: 45-54.

Kerstetter JE, Mitnick ME, Gundberg CM, Caseria DM, Ellison AF, Carpenter TO, Insogna KL. Changes in bone turnover in young women consuming different levels of dietary protein. *J Clin Endocrinol Metab* 1999 84: 1052-1055.

Kiel DP, Felson DT, Hannan MT, Anderson JJ, Wilson PW. Caffeine and the risk of hip fracture: the Framingham Study. *Am J Epidemiol* 1990 132: 675-684.

Kirschner MA, Samojlik E, Drejka M, Szmaj E, Schneider G, Ertel N. Androgen-estrogen metabolism in women with upper body versus lower body obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 1990 70: 473-479.

Kitazawa S, Kajimoto K, Kondo T, Kitazawa R. Vitamin D3 supports osteoclastogenesis via functional vitamin D response element of human RANKL gene promoter. *J Cell Biochem* 2003 89: 771-777.

Koh MJ, Kim DJ, Hong JS, Park JY, Lee KU, Kim SY, Kim GS. Estrogen receptor α gene polymorphisms (Pvu II and Xba) influence association between leptin receptor gene polymorphism (Gln223Arg) and bone mineral density in young men. *Eur J Endocrinol* 2002 147: 777-783.

Kohrt WM. Preliminary evidence that DEXA provides an accurate assessment of body composition. *J Appl Physiol* 1998 84: 372-377.

Komesaroff PA, Esler M D, Sudhir K. Estrogen supplementation attenuates glucocorticoid and catecholamine responses to mental stress in perimenopausal women. *J Clin Endocrinol Metabolism* 1999 84: 606-610.

Komm BS, Terpening CM, Benz DJ, Graeme KA, Gallegos A, Korc M, Greene GL, O'Malley BW, Haussler MR. Estrogen binding, receptor mRNA, and biologic response in osteoblast-like osteosarcoma cells. *Science* 1988 241(4861): 81-84.

Kong YY, Feige U, Sarosi I, Bolon B, Tafuri A, Morony S, Capparelli C, Li J, Elliott R, McCabe S, Wong T, Campagnuolo G, Moran E, Bogoch ER, Van G, Nguyen LT, Ohashi PS, Lacey DL, Fish E, Boyle WJ, Penninger JM. Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand. *Nature* 1999 402: 304-309.

Kubota F, Kifune A, Shibata N, Akata T, Takeuchi K, Takahashi S, Ohsawa M, Takama F. Bone mineral density of epileptic patients on long-term antiepileptic drug therapy: a quantitative digital radiography study. *Epilepsy Res* 1999 33: 93-97.

Kume K, Satomura K, Yamanouchi K, Kitaoka E, Tobiume S, Nishisyo S et al. Localization of leptin in endochondral ossification of mouse femur. *J Bone Miner Res* 2000 15 (Suppl 1): S344 (Abstr).

Kushner RF, Gudivaka R, Schoeller DA. Clinical characteristics influencing bioelectrical impedance analysis measurements. *Am J Clin Nutr* 1996 64 (3 Suppl): 423S-427S.

Kushner RF. Bioelectrical impedance analysis: a review of principles and applications. *J Am Coll Nutr* 1992 11: 199-209.

Kyle UG, Genton L, Karsegard L, Slosman DO, Pichard C. Single prediction equation for bioelectrical impedance analysis in adults aged 20--94 years. *Nutrition* 2001 17: 248-53.

Langlois JA, Mussolino ME, Visser M, Looker AC, Harris T, Madans J. Weight loss from maximum body weight among middle-aged and older white women and the risk of hip fracture: the NHANES I epidemiologic follow-up study. *Osteoporos Int* 2001 12: 763-768.

Langlois JA, Harris T, Looker AC, Madans J. Weight change between age 50 years and old age is associated with risk of hip fracture in white women aged 67 years and older. *Arch Intern Med* 1996 156: 989-994.

Laughlin GA, Yen SS. Hypoleptinemia in women athletes: absence of a diurnal rhythm with amenorrhea. *J Clin Endocrinol Metab* 1997 82: 318-321.

Lee SK, Lorenzo JA. Parathyroid hormone stimulates TRANCE and inhibits osteoprotegerin messenger ribonucleic acid expression in murine bone marrow cultures: correlation with osteoclast-like cell formation. *Endocrinology* 1999 140: 3552-3561.

Lees B, Stevenson JC. An evaluation of dual-energy X-ray absorptiometry and comparison with dual-photon absorptiometry. *Osteoporos Int* 1992 2: 146-152.

Leidig-Bruckner G, Ziegler R. Diabetes mellitus a risk for osteoporosis? *Exp Clin Endocrinol Diab* 2001 109(Suppl): S493-S514.

Lenchik L, Register TC, Hsu FC, Lohman K, Nicklas BJ, Freedman BI, Langefeld CD, Carr JJ, Bowden DW. Adiponectin as a novel determinant of bone mineral density and visceral fat. *Bone* 2003 33: 646-651.

Liu C, Grossman A, Bain S, Strachan M, Puerner D, Bailey C et al. Leptin stimulates cortical bone formation in obese (ob/ob) mice. *J Bone Miner Res* 1997 12 (Suppl 1): S115 (Abstr).

Lohman TG, Harris M, Teixeira PJ, Weiss L. Assessing body composition and changes in body composition. Another look at dual-energy X-ray absorptiometry. *Ann N Y Acad Sci* 2000 904: 45-54.

- Lohman TG.** Advances in body composition assessment. Current issues in exercise science series. Champaign, IL: Human Kinetics Books, 1992.
- Lukaski HC.** Methods for the assessment of human body composition: traditional and new. *Am J Clin Nutr.* 1987 46: 537-556.
- Lukaski HC,** Johnson PE, Bolonchuk WW, Lykken GI. Assessment of fat-free mass using bioelectrical impedance measurements of the human body. *Am J Clin Nutr* 1985 41: 810-817.
- Λυρίτης ΓΠ.** Οστεοπόρωση. Αθήνα 1996, Εκδόσεις Press Line, σελ: 47-85.
- Lyritis GP.** Epidemiology and socioeconomic cost of osteoporotic fractures in Greece. *Calcif Tissue Int* 1992 51: 93-94.
- Maeda K,** Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y, Matsubara K. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (AdiPose Most abundant Gene transcript 1). *Biochem Biophys Res Commun* 1996 221: 286-289.
- Maeda N,** Takahashi M, Funahashi T, Kihara S, Nishizawa H, Kishida K, Nagaretani H, Matsuda M, Komuro R, Ouchi N, Kuriyama H, Hotta K, Nakamura T, Shimomura I, Matsuzawa Y. PPARgamma ligands increase expression and plasma concentrations of adiponectin, an adipose-derived protein. *Diabetes* 2001 50: 2094-2099.
- Majeska RJ,** Ryaby JT, Einhorn TA. Direct modulation of osteoblastic activity with estrogen. *J Bone Joint Surg Am* 1994 76: 713-721.
- Manolagas SC.** Estrogens, cytokines and bone metabolism. In: Sex steroids and bone. Eds: Ziegler R, Pfeilschifter J, Brautigam M, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1994 pp:95 -118.
- Mantzoros CS.** The role of leptin in human obesity and disease: A review of current evidence. *Ann Int Med* 1999 130: 671-680.
- Mantzoros CS,** Liolios AD, Tritos NA, Kaklamani VG, Doulgerakis DE, Griveas I, Moses AC, Flier JS. Circulating insulin concentrations, smoking and alcohol intake are important independent predictors of leptin in young healthy men. *Obes Res* 1998 6: 179-186.
- Mantzoros CS,** Moschos S, Avramopoulos I, Kaklamani V, Liolios A, Doulgerakis DE, Griveas I, Katsilambros N, Flier JS. Leptin concentrations in relation to body mass index and the tumor necrosis factor- α system in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1997 82: 3408-3413.
- Martini G,** Valenti R, Giovani S, Franci B, Campagna S, Nuti R. Influence of insulin-like growth factor-1 and leptin on bone mass in healthy postmenopausal women. *Bone* 2001 28: 113-117.

Masuzaki H, Ogawa Y, Isse N, Satoh N, Okazaki T, Shigemoto M, Mori K, Tamura N, Hosoda K, Yoshimasa Y, Jingami H, Kawada T, Nakao K. Human obese gene expression: adipocyte-specific expression and regional differences in the adipose tissue. *Diabetes* 1995 44: 855-858.

Matsubara M, Maruoka S, Katayose S. Inverse relationship between plasma adiponectin and leptin concentrations in normal-weight and obese women. *Eur J Endocrinol* 2002 147: 173-180.

Mazess RB, Barden HS, Bisek JP, Hanson J. Dual-energy x-ray absorptiometry for total-body and regional bone-mineral and soft-tissue composition. *Am J Clin Nutr* 1990 51: 1106-1112.

Melton LJ 3rd, Kan SH, Frye MA, Wahner HW, O'Fallon WM, Riggs BL. Epidemiology of vertebral fractures in women. *Am J Epidemiol* 1989 129:1000-1011.

Metz JA, Anderson JJ, Gallagher PN Jr. Intakes of calcium, phosphorus, and protein, and physical-activity level are related to radial bone mass in young adult women. *Am J Clin Nutr* 1993 58: 537-42.

Meyer HE, Tverdal A, Falch JA. Changes in body weight and incidence of hip fracture among middle aged Norwegians. *BMJ* 1995 311(6997): 91-92.

Mizuno A, Murakami T, Otani S, Kuwajima M, Shima K. Leptin affects pancreatic endocrine functions through the sympathetic nervous system. *Endocrinology* 1998 139: 3863-3870.

Mundy GR. Bone-resorbing cells. In: *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. Favus MJ (Ed), 1996 3d edition, Lippincott – Raven, pp: 16-24.

Munger RG, Cerhan JR, Chiu BC. Prospective study of dietary protein intake and risk of hip fracture in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 1999 69: 147-152.

Murakami T, Shiraki M, Orimo H, Ohsawa N. Serum estradiol and radial mineral content in postmenopausal females. *Endocrinol Jpn* 1979 26: 635-636.

Nakano Y, Tobe T, Choi-Miura NH, Mazda T, Tomita M. Isolation and characterization of GBP28, a novel gelatin-binding protein purified from human plasma. *J Biochem (Tokyo)* 1996 120: 803-812.

Nguyen TV, Sambrook PN, Eisman JA. Bone loss, physical activity, and weight change in elderly women: the Dubbo Osteoporosis Epidemiology Study. *J Bone Miner Res* 1998 13: 1458-1467.

NIH Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis and Therapy. *JAMA* 2001 285: 785-795.

Noppa H, Andersson M, Bengtsson C, Bruce A, Isaksson B. Body composition in middle-aged women with special reference to the correlation between body fat mass and anthropometric data. *Am J Clin Nutr* 1979 32: 1388-1395.

- Nordin M.** Back pain: lessons from patient education. *Patient Educ Couns* 1995 26: 67-70.
- Odabasi E,** Ozata M, Turan M, Bingol N, Yonem A, Cakir B, Kutlu M, Ozdemir IC. Plasma leptin concentrations in postmenopausal women with osteoporosis. *Eur J Endocrinol* 2000 142: 170-173.
- Ooms ME,** Lips P, Van Lingen A, Valkenburg HA. Determinants of bone mineral density and risk factors for osteoporosis in healthy elderly women. *J Bone Miner Res* 1993 8: 669-675.
- Ormarsdottir S,** Ljunggren O, Mallmin H, Olofsson H, Blum WF, Loof L. Inverse relationship between circulating levels of leptin and bone mineral density in chronic liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2001 16: 1409-1414.
- Ouchi N,** Kihara S, Arita Y, Maeda K, Kuriyama H, Okamoto Y, Hotta K, Nishida M, Takahashi M, Nakamura T, Yamashita S, Funahashi T, Matsuzawa Y. Novel modulator for endothelial adhesion molecules: adipocyte-derived plasma protein adiponectin. *Circulation*. 1999 100: 2473-2476.
- Oursler MJ,** Cortese C, Keeting P, Anderson MA, Bonde SK, Riggs BL, Spelsberg TC. Modulation of transforming growth factor-beta production in normal human osteoblast-like cells by 17 beta-estradiol and parathyroid hormone. *Endocrinology* 1991 129: 3313-3320.
- Pacifici R.** Estrogen, cytokines and pathogenesis of postmenopausal osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1996 11: 1043-1051.
- Pasco JA,** Henry MJ, Kotowicz MA, Collier GR, Ball MJ, Ugoni AM, Nicholson GC. Serum leptin levels are associated with bone mass in nonobese women. *J Clin Endocrinol Metab* 2001 86: 1884-1887.
- Πασπάτη Ι.** Επιδημιολογία οστεοπορωτικών καταγμάτων. *Σκελετική Υγεία* 2004 3(2): 46-48.
- Paspati I,** Galanos A. Hip fracture epidemiology in Greece during 1977-1992. *Calcif Tissue Int* 1998 62: 542-547.
- Parfitt AM.** Osteomalacia and related disorders. In: Avioli LV, Krane SM (eds) *Metabolic Bone Disease and Clinically Related Disorders*, 2nd ed, WB Saunders, Philadelphia, 1990 pp:329 - 396.
- Pelleymounter MA,** Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Boone T, Collins F. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science* 1995 269(5223): 540-543.
- Pereira MA,** FitzerGerald SJ, Gregg EW, Joswiak ML, Ryan WJ, Suminski RR, Utter AC, Zmuda JM. A collection of Physical Activity Questionnaires for health-related research. *Med Sci Sports Exerc* 1997 29(6 Suppl): S1-205.

Pereira MA, Folsom AR, McGovern PG, Carpenter M, Arnett DK, Liao D, Szklo M, Hutchinson RG. Physical activity and incident hypertension in black and white adults: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Prev Med* 1999 28: 304-312.

Price T, Aitken J, Head J, Mahendroo M, Means G, Simpson E. Determination of aromatase cytochrome P450 messenger ribonucleic acid in human breast tissue by competitive polymerase chain reaction amplification. *J Clin Endocrinol Metab* 1992 74: 1247-1252.

Pun KK, Lau P, Ho PW. The characterization, regulation, and function of insulin receptors on osteoblast-like clonal osteosarcoma cell line. *J Bone Miner Res* 1989 4: 853-862.

Purohit A, Reed MJ. Regulation of estrogen synthesis in postmenopausal women. *Steroids* 2002 67: 979-983.

Puzas JE. Osteoblast cell biology – Lineage and functions. In: *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. Favus MJ (Ed), 1996 3d edition, Lippincott – Raven, pp: 11-16.

Räikkönen K, Matthews KA, Kuller LH, Reiber C, Bunker CH. Anger, hostility, and visceral adipose tissue in healthy postmenopausal women. *Metabolism* 1999 48: 1146-1151.

Raisz LG Osteoporosis: current approaches and future prospects in diagnosis, pathogenesis, and management. *J Bone Miner Metab* 1999 17: 79-89.

Rauch F, Blum WF, Klein K, Allolio B, Schonau E. Does leptin have an effect on bone in adult women? *Calcif Tissue Int* 1998 63: 453-455.

Ravn P, Cizza G, Bjarnason NH, Thompson D, Daley M, Wasnich RD, McClung M, Hosking D, Yates AJ, Christiansen C. Low body mass index is an important risk factor for low bone mass and increased bone loss in early postmenopausal women. Early Postmenopausal Intervention Cohort (EPIC) study group. *Bone Miner Res* 1999 14: 1622-1627.

Reginster JY, Deroisy R, Albert A, Denis D, Lecart MP, Collette J, Franchimont P. Relationship between whole plasma calcitonin levels, calcitonin secretory capacity, and plasma levels of estrone in healthy women and postmenopausal osteoporotics. *J Clin Invest* 1989 83: 1073-1077.

Reid IR. Relationships among body mass, its components and bone. *Bone* 2002 31: 547-555.

Reid IR, Evans MC, Cooper GJ, Ames RW, Stapleton J. Circulating insulin levels are related to bone density in normal postmenopausal women. *Am J Physiol* 1993 265(4 Pt 1): E655-659.

Reid IR, Ames R, Evans MC, Sharpe S, Gamble G, France JT, Lim TM, Cundy TF. Determinants of total body and regional bone mineral density in normal postmenopausal women--a key role for fat mass. *J Clin Endocrinol Metab* 1992 75: 45-51.

Reseland JE, Syversen U, Bakke I, Qvigstad G, Eide LG, Hjertner O, Gordeladze JO, Drevon CA. Leptin is expressed in and secreted from primary cultures of human osteoblasts and promotes bone mineralization. *J Bone Miner Res* 2001 16: 1426-1433.

Rigotti NA, Neer RM, Skates SJ, Herzog DB, Nussbaum SR. The clinical course of osteoporosis in anorexia nervosa. A longitudinal study of cortical bone mass. *JAMA* 1991 265: 1133-1138.

Rizzoli R, Bonjour JP. Determinants of peak bone mass and mechanisms of bone loss. *Osteoporos Int* 1999 (Suppl 2): S17-S23.

Roche AF. Anthropometry and ultrasound. In: Roche AF, Heymsfield SB, Lohman TG (Eds). *Human body composition*. 1996 Champaign: Human Kinetics.

Roodman GD. Role of cytokines in the regulation of bone resorption. *Calcif Tissue Int* 1993 53 (Suppl 1): S94 - S98.

Rosenbaum M, Nicolson M, Hirsch J, Heymsfield SB, Gallagher D, Chu F, Leibel RL. Effects of gender, body composition, and menopause on plasma concentrations of leptin. *J Clin Endocrinol Metab* 1996 81: 3424-3427.

Roubenoff R, Baumgartner RN, Harris TB, Dallal GE, Hannan MT, Economos CD, Stauber PM, Wilson PW, Kiel DP. Application of bioelectrical impedance analysis to elderly populations. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 1997 52: M129-136.

Roubenoff R, Kehayias JJ, Dawson-Hughes B, Heymsfield SB. Use of dual-energy X-ray absorptiometry in body composition studies: not yet a gold standard. *Am J Clin Nutr* 1993 58: 1-3.

Rubin CT, Lanyon LE. Regulation of bone mass by mechanical strain magnitude. *Calcif Tissue Int* 1985 37: 411-417.

Ruhl CE, Everhart JE. Relationship of serum leptin concentration with bone mineral density in the United States population. *J Bone Miner Res* 2002 17: 1896-1903.

Sato M, Takeda N, Sarui H, Takami R, Takami K, Hayashi M, Sasaki A, Kawachi S, Yoshino K, Yasuda K. Association between serum leptin concentrations and bone mineral density, and biochemical markers of bone turnover in adult men. *J Clin Endocrinol Metab* 2001 86: 5273-5276.

Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. *J Biol Chem* 1995 270: 26746-26749.

Schindler AE, Ebert A, Friedrich E. Conversion of androstenedione to estrone by human tissue. *J Clin Endocrinol Metab* 1972 35: 627-630.

Schott AM, Cormier C, Hans D, Favier F, Hausherr E, Dargent-Molina P, Delmas PD, Ribot C, Sebert JL, Breart G, Meunier PJ. How hip and whole-body bone mineral density predict hip fracture in elderly women: the EPIDOS Prospective Study. *Osteoporos Int* 1998 8: 247-254.

Schwartz MW, Peskind E, Raskind M, Boyko EJ, Porte D Jr. Cerebrospinal fluid leptin levels: relationship to plasma levels and to adiposity in humans. *Nat Med* 1996 2: 589-593.

Σέγκος ΧΓ, Μανιάς ΝΘ. Γυναικολογική ενδοκρινολογία. Ιατρικές εκδόσεις Λίτσας. 1990 σελ: 1-24 και 319-344.

Seeman E. From density to structure: growing up and growing old on the surfaces of bone. *J Bone Mineral Research* 1997 12: 509-521.

Seeman E, Melton LJ 3rd, O'Fallon WM, Riggs BL. Risk factors for spinal osteoporosis in men. *Am J Med* 1983 75: 977-983.

Segal KR, Gutin B, Presta E, Wang J, van Itallie TB. Estimation of human body composition by electrical impedance methods: a comparative study. *J Appl Phys* 1985 58: 1565-1571.

Shapiro L, Schrerer PE. The crystal structure of a complement- 1q family protein suggests an evolutionary link to tumor necrosis factor. *Curr Biol* 1998 8: 335-338.

Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Luthy R, Nguyen HQ, Wooden S, Bennett L, Boone T, Shimamoto G, DeRose M, Elliott R, Colombero A, Tan HL, Trail G, Sullivan J, Davy E, Bucay N, Renshaw-Gegg L, Hughes TM, Hill D, Pattison W, Campbell P, Boyle WJ, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 1997 89: 309-319.

Simpson ER, Merrill JC, Hollub AJ, Graham-Lorence S, Mendelson CR. Regulation of estrogen biosynthesis by human adipose cells. *Endocr Rev* 1989 10: 136-148.

Slemenda CW, Hui SL, Longcope C, Wellman H, Johnston CC Jr. Predictors of bone mass in perimenopausal women. A prospective study of clinical data using photon absorptiometry. *Ann Intern Med* 1990 112: 96-101.

Slemenda CW, Miller JZ, Hui SL, Reister TK, Johnston CC Jr. Role of physical activity in the development of skeletal mass in children. *J Bone Miner Res* 1991 6: 1227-1233.

Slemenda CW, Reister TK, Hui SL, Miller JZ, Christian JC, Johnston CC Jr. Influences on skeletal mineralization in children and adolescents: evidence for varying effects of sexual maturation and physical activity. *J Pediatr* 1994 125: 201-207.

Stefan N, Stumvoll M. Adiponectin- Its role in metabolism and beyond. *Horm Metab Res* 2002 34: 469-474.

Stewart TL, Ralston SH. Role of genetic factors in the pathogenesis of osteoporosis. *J Endocrinol* 2000 166: 235-245.

- Stolk RP**, Van Daele PL, Pols HA, Burger H, Hofman A, Birkenhager JC, Lamberts SW, Grobbee DE. Hyperinsulinemia and bone mineral density in an elderly population: The Rotterdam Study. *Bone* 1996 18: 545-549.
- Takahashi Y**, Okimura Y, Mizuno I, Iida K, Takahashi T, Kaji H et al. Leptin induces mitogen-activated protein kinase-dependent proliferation of C3H10T1/2 cells. *J Biol Chem* 1997 272: 12897–12900.
- Takeda S**, Elefteriou F, Karsenty G. Common endocrine control of body weight, reproduction, and bone mass. *Annu Rev Nutr* 2003 23: 403-411.
- Takeda S**, Elefteriou F, Levasseur R, Liu X, Zhao L, Parker KL, Armstrong D, Ducy P, Karsenty G. Leptin regulates bone formation via the sympathetic nervous system. *Cell* 2002 111: 305-317.
- Tartaglia LA**, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R, Richards GJ, Campfield LA, Clark FT, Deeds J. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell* 1995 83: 1263-1271.
- Tataranni PA**, Monroe MB, Dueck CA, Traub SA, Nicolson M, Manore MM, Matt KS, Ravussin E. Adiposity, plasma leptin concentration and reproductive function in active and sedentary females. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1997 21: 818-821.
- Teitelbaum SL**. Bone resorption by osteoclasts. *Science* 2000 289(5484): 1504-1508.
- Ternynck T**, Avrameas S. Ανοσοενζυμικές τεχνικές. 1990 έκδοση Ελληνικού Ινστιτούτου Παστέρ.
- Thomas T**, Burguera B, Melton LJ 3rd, Atkinson EJ, O'Fallon WM, Riggs BL, Khosla S. Role of serum leptin, insulin, and estrogen levels as potential mediators of the relationship between fat mass and bone mineral density in men versus women. *Bone* 2001 29: 114-120.
- Thomas T**, Burguera B, Melton LJ 3rd, Atkinson EJ, O'Fallon WM, Riggs BL, Khosla S. Relationship of serum leptin levels with body composition and sex steroid and insulin levels in men and women. *Metabolism* 2000 49:1278-1284.
- Thomas T**, Gori F, Khosla S, Jensen MD, Burguera B, Riggs BL. Leptin acts on human marrow stromal cells to enhance differentiation to osteoblasts and to inhibit differentiation to adipocytes. *Endocrinology* 1999 40: 1630-1638.
- Thomas T**, de Vittoris R, David VN, Vico L, Lafage-Proust MH, Alexander C. Leptin prevents disuse – induced bone loss in tail – suspended female rats. *J Bone Miner Res* 2001 16(Suppl1): S143.
- Tobias JH**, Chow J, Colston KW, Chambers TJ. High concentrations of 17 beta-estradiol stimulate trabecular bone formation in adult female rats. *Endocrinology* 1991 128: 408-412.
- Τριχοπούλου Α**. Πίνακες Συνθέσεως Τροφίμων και Ελληνικών Φαγητών. Αθήνα 1990.

- Trovas G**, Lyritis GP, Galanos A, Raptou P, Katsiri M. Influence of weight gain on spine mineral density in postmenopausal women. *Calcif Tissue Int* 1999 64: 380-383.
- Ukkola O**, Santaniemi M. Adiponectin: a link between excess adiposity and associated comorbidities? *J Mol Med* 2002 80: 696-702.
- Välimäki MJ**, Karkkainen M, Lamberg-Allardt C, Laitinen K, Alhava E, Heikkinen J, Impivaara O, Makela P, Palmgren J, Seppanen R, et al. Exercise, smoking, and calcium intake during adolescence and early adulthood as determinants of peak bone mass. Cardiovascular Risk in Young Finns Study Group. *BMJ* 1994 309: 230-235.
- van der Wielen RP**, Lowik MR, van den Berg H, de Groot LC, Haller J, Moreiras O, van Staveren WA. Serum vitamin D concentrations among elderly people in Europe. *Lancet* 1995 346: 207-210.
- van Hoof HJ**, van der Mooren MJ, Swinkels LM, Sweep CG, Merkus JM, Benraad TJ. Female sex hormone replacement therapy increases serum free 1,25-dihydroxyvitamin D3: a 1-year prospective study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1999 50: 511-516.
- van Loan MD**. Bioelectrical impedance analysis to determine fat-free mass, total body water and body fat. *Sports Med* 1990 10: 205-217.
- van Loan MD**, Mayclin PL. Body composition assessment: dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA) compared to reference methods. *Eur J Clin Nutr* 1992 46: 125-130.
- Vernejoul MC**, Bielakoff J, Herve M, Gueris J, Hott M, Modrowski D, Kuntz D, Miravet L, Ryckewaert A. Evidence for defective osteoblastic function. A role for alcohol and tobacco consumption in osteoporosis in middle-aged men. *Clin Orthop* 1983 179: 107-115.
- Waine C**. Osteoporosis- Prevention and management in primary care. Royal College of General Practitioners. London 1997, p: 24.
- Wang ZM**, Deurenberg P, Guo SS, Pietrobelli A, Wang J, Pierson RN Jr, Heymsfield SB. Six-compartment body composition model: inter-method comparisons of total body fat measurement. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1998 22: 329-337.
- Wardlaw GM**. Putting body weight and osteoporosis into perspective. *Am J Clin Nutr* 1996 63(Suppl): 433S-436S.
- Wauters M**, Considine RV, Van Gaal LF. Human leptin: from an adipocyte hormone to an endocrine mediator. *Eur J Endocrinol* 2000 143: 293-311.
- Westvik J**. Radiological features in generalised lipodystrophy. *Acta Paediatr* 1996 413(Suppl): 44-51.
- WHO** (Study group on assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis). Assessment of fracture risk and its application to screening

for postmenopausal osteoporosis; report of a World Health Organization Study Group, ed 843, Geneva, WHO,1994.

WHO. Measuring obesity- Classification and description of anthropometric data.

Compenhagen: WHO 1988 (EUR/ ICP/ NUT 125).

Wild RA, Buchanan JR, Myers C, Lloyd T, Demers LM. Adrenal androgens, sex-hormone binding globulin and bone density in osteoporotic menopausal women: is there a relationship? *Maturitas* 1987 9: 55-61.

Willet W. Nutritional epidemiology. Oxford University Press, 1990, New York.

Yamauchi M, Sugimoto T, Yamaguchi T, Nakaoka D, Kanzawa M, Yano S, Ozuru R, Sugishita T, Chihara K. Plasma leptin concentrations are associated with bone mineral density and the presence of vertebral fractures in postmenopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2001 55: 341-347.

Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, Tsuchida A, Yokomizo T, Kita S, Sugiyama T, Miyagishi M, Hara K, Tsunoda M, Murakami K, Ohteki T, Uchida S, Takekawa S, Waki H, Tsuno NH, Shibata Y, Terauchi Y, Froguel P, Tobe K, Koyasu S, Taira K, Kitamura T, Shimizu T, Nagai R, Kadowaki T. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature* 2003 423(6941): 762-769.

Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, Mori Y, Ide T, Murakami K, Tsuboyama-Kasaoka N, Ezaki O, Akanuma Y, Gavrilova O, Vinson C, Reitman ML, Kagechika H, Shudo K, Yoda M, Nakano Y, Tobe K, Nagai R, Kimura S, Tomita M, Froguel P, Kadowaki T. The fat-derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nat Med* 2001 7: 941-946.

Yannakoulia M, Keramopoulos A, Tsakalakos N, Matalas AL. Body composition in dancers: the bioelectrical impedance method. *Med Sci Sports Exerc* 2000 32: 228-34.

Yokota T, Meka CS, Medina KL, Igarashi H, Comp PC, Takahashi M, Nishida M, Oritani K, Miyagawa J, Funahashi T, Tomiyama Y, Matsuzawa Y, Kincade PW. Paracrine regulation of fat cell formation in bone marrow cultures via adiponectin and prostaglandins. *J Clin Invest* 2002 109: 1303-1310.

Zhang F, Basinski MB, Beals JM, Briggs SL, Churgay LM, Clawson DK, DiMarchi RD, Furman TC, Hale JE, Hsiung HM, Schoner BE, Smith DP, Zhang XY, Wery JP, Schevitz RW. Crystal structure of the obese protein leptin-E100. *Nature* 1997 387: 206-209.

Zhang Y, Matheny M, Zolotukhin S, Tumer N, Scarpace PJ. Regulation of adiponectin and leptin gene expression in white and brown adipose tissues: influence of beta3-adrenergic agonists, retinoic acid, leptin and fasting. *Biochim Biophys Acta* 2002 1584: 115-122.

Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 1994 372: 425-432.

Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G, Benedetto FA, Cutrupi S, Parlongo S, Malatino LS, Bonanno G, Seminara G, Rapisarda F, Fatuzzo P, Buemi M, Nicocia G, Tanaka S, Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Matsuzawa Y. Adiponectin, metabolic risk factors, and cardiovascular events among patients with end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2002 13: 134-141.

4. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

ΕΡΩΤΗΜΑΤΟΛΟΓΙΟ

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ:.....ΟΝΟΜΑΤ/ΝΥΜΟ:..... ΚΩΔ:

1. 1.1 ΗΛΙΚΙΑ:.....

1.2 ΣΕ ΠΟΙΑ ΗΛΙΚΙΑ ΕΙΧΑΤΕ ΕΜΜΗΝΑΡΧΗ;.....

1.3 ΠΟΣΑ ΧΡΟΝΙΑ ΕΙΣΤΕ ΣΤΗΝ ΕΜΜΗΝΟΠΑΥΣΗ;
ΠΟΤΕ ΕΙΧΑΤΕ ΤΕΛΕΥΤΑΙΑ ΠΕΡΙΟΔΟ ;.....

1.4 ΠΟΣΕΣ ΕΓΚΥΜΟΣΥΝΕΣ ΕΙΧΑΤΕ;.....

1.5 ΠΟΣΟ ΚΑΙΡΟ ΘΗΛΑΣΑΤΕ;.....

2. 2.1 ΕΧΕΤΕ ΥΠΟΒΛΗΘΕΙ ΣΕ ΥΣΤΕΡΕΚΤΟΜΗ: ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

(ηλικία:.....)

2.2 ΕΧΕΤΕ ΥΠΟΒΛΗΘΕΙ ΣΕ ΩΟΘΗΚΕΚΤΟΜΗ: ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

3. ΥΠΑΡΧΕΙ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗΣ: ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

4. ΕΧΕΤΕ ΚΑΝΕΙ ΜΑΚΡΟΧΡΟΝΙΑ ΧΡΗΣΗ ΚΑΠΟΙΟΥ ΑΠΟ ΤΑ ΠΑΡΑΚΑΤΩ ΦΑΡΜΑΚΑ:

4.1 ΔΙΟΥΡΗΤΙΚΑ(θειαζιδες) ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

4.2 ΘΥΡΟΡΜΟΝΗ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

4.3 ΑΝΤΙΕΠΙΛΗΠΤΙΚΑ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

(σκεύασμα:.....)

4.4 ΚΟΡΤΙΚΟΣΤΕΡΟΕΙΔΗ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

4.5 ΣΥΜΠΛΗΡΩΜΑΤΑ ΑΣΒΕΣΤΙΟΥ ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

(.....mg/ ημερ.)

4.6 ΑΛΛΑ ΦΑΡΜΑΚΑ.....

5. ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΟ ΙΣΤΟΡΙΚΟ

5.1 Πόσο συχνά καταναλώνετε τα παρακάτω τρόφιμα:

ΤΡΟΦΙΜΟ	Ποτέ/ Σπάνια	1-3φορ./ μήνα	1-2φορ./ εβδομ.	3-4φορ./ εβδομ.	5-6φορ./ εβδομ.	Καθημε- ρινά	ΜΕΡΙΔΑ
Γάλα							
Γιαούρτι							
Τυρί (παρ/ζάνα, Emmental, Γρα βιέρα)							
Τυρί (Cheddar, Gouda, Edam, Κεφ/τύρι)							
Τυρί Φέτα							
Παγωτό							
Μύδια/Στρείδια							
Σαρδέλλες							
Σπανάκι							
Μπρόκολο							
Φασόλια							
Ρεβύθια							
Ψωμί							
Αμύγδαλα							

5.2 Πόσο συχνά καταναλώνετε τα εξής;

ΡΟΦΗΜΑ	Ποτέ/ Σπάνια	1-3φορ./ μήνα	1-2φορ./ εβδομ.	3-4φορ./ εβδομ.	5-6φορ./ εβδομ.	Καθημερινά	ΠΟΣΟΤΗΤΑ
Καφέ							
Τσάι							
Μπίρα							
Κρασί							
Άλλα οινοπ/ώδη							
Αναψ/κα τύπου cola							

5.3 Καπνίζετε;

ΝΑΙ

ΟΧΙ

Πόσα χρόνια;.....

Πόσα τσιγάρα;.....

5. ΔΗΜΟΣΙΕΥΜΕΝΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ

Date: Aug 31, 2004

To: "Fotini N Skopouli" fskopouli@hua.gr

From: "Maturitas" maturitas@marktvo.nl

Subject: Ms. No. MAT-D-04-00043R1

Ref.: Ms. No. MAT-D-04-00043R1

Does body mass index reflect adequately the body fat content in peri-menopausal women?

Maturitas

Dear Dr. Skopouli,

I am pleased to tell you that your work has now been accepted for publication in Maturitas.

Thank you for submitting your work to this journal.

With kind regards,

Prof. Martina Dören

Editor

Maturitas

Does body mass index reflect adequately the body fat content in peri-menopausal women?

Running title: Body composition middle-aged women

Meropi D. Kontogianni, Demosthenes B. Panagiotakos, Fotini N.

Skopouli

Department of Dietetics and Nutritional Science, Harokopio University, Athens,
Greece

ABSTRACT

Objective: To test whether BMI cut-off points for obesity, reflect adequately the actual obesity status, in a sample of perimenopausal women. For study's purposes a new Bioelectrical Impedance Analysis (BIA) equation was estimated.

Methods: 115 Greek, middle-aged women were tested. Body composition was estimated by Dual x-ray absorptiometry and BIA method. Waist (WC) and hip circumference (HC) and skinfolds were also measured.

Results: The BIA equation predicted Fat Free Mass (FFM) from height, weight, age and resistance ($R^2 = 0.88$, $SEE = 1.89$ kg). The bias was not significant and the limits of agreement ± 3.6 kg. BMI, FFM, Body Fat% (BF%), waist-hip ratio (WHR), WC and HC didn't differ between pre (N=37) and postmenopausal (N=48) women (at $p = 0.05$). Both BF% and BMI correlated with WHR and WC ($r_{BF\%-WHR} = 0.287$, $p=0.009$; $r_{BMI-WHR} = 0.355$, $p=0.001$ and $r_{BF\%-WC} = 0.72$, $p<0.0001$; $r_{BMI-WC} = 0.81$, $p<0.0001$). The mean values for BF%, WC and WHR for women with normal BMI were 36.15% (± 4.19), 72.53 cm (± 3.64) and 0.749 (± 0.05), whereas values for overweight women were 41.42% (± 3.16), 83.06 cm (± 7.55) and 0.787 (± 0.05) and for obese 47.40% (± 3.67), 95.10 cm (± 8.52) and 0.814 (± 0.05), respectively.

Conclusion: The body composition analysis of the study sample revealed undesirably high BF%, even in subjects with BMI below 25, in whom BMI didn't reflect the body fat content. However, BF was mainly distributed at the lower part of the body. Whether BMI or BF% is a more sensitive index for obesity related diseases, in perimenopausal period, remains to be defined.

KEY WORDS: Body mass index, body composition, dual x-ray absorptiometry, bioelectrical impedance analysis, perimenopausal women

INTRODUCTION

It has been widely accepted that excess body fat (BF) and obesity constitute risk factors for future cardiovascular events, as well as other chronic diseases (1). The World Health Organisation (WHO) define obesity as a condition with excessive fat accumulation in the body, to the extent that health and well - being are adversely affected (2). Body mass index (BMI) is generally well correlated with body fat percentage (BF%) and is a good indicator of disease risk (3). However, there is evidence to support that the strength of the relationship between BMI and BF% varies between populations and ethnic groups, implying that a BMI based classification of weight status would necessarily be population specific (4 - 8). Moreover, other investigators suggest that the classification of weight status should also be age and sex specific (9).

Perimenopausal years are very important since a lot of changes in women's body take place, especially due to estrogen's deficiency (10). At this period of a woman's life, bone mass and lean body mass gradually decrease, energy expenditure also decreases, body fat and visceral BF increase, as well as the risk of cardiovascular and metabolic diseases (e.g. insulin resistance, dyslipidemia). To the best of our knowledge studies examining whether BMI reflects the obesity status in perimenopausal women are rare in the literature and their findings vary from country to country.

There are several direct and indirect methods of assessing body composition and each one of them has its own advantages and limitations. Bioelectrical impedance analysis (BIA) method has been extensively used in assessing the total body water (TBW) and fat free mass (FFM) of various groups of people. It is a safe method, rapid, portable, easy to perform and requires minimal operator training (11, 12); however, its accuracy is highly dependent on the selection of appropriate prediction equations, in terms of age, sex, ethnicity, level of obesity and health status (13). On the other hand Dual x- ray absorptiometry (DXA) provides precise measurements of lean tissue and it can therefore be used to validate field methods, such as BIA, in healthy subjects with normal hydration status (14,15).

The aim of this work was to test whether BMI cut – off points for obesity, as defined by WHO (2) reflect adequately the actual obesity status, in a sample of perimenopausal women. For the purposes of the study a new BIA equation has been estimated in order to achieve the highest predictive accuracy for our sample's body composition.

METHODS

Subjects

One hundred and fifteen healthy, sedentary women were recruited to this study through an advertisement, in a local magazine, for an osteoporosis' screening programme. They were all Caucasians, Athens' residents and their age ranged from 41 to 69 y (51.6 ± 6.12). Menopause was defined by absence of menses for more than six months and by elevated serum FSH levels ($\text{FSH} > 40 \text{ U/ l}$). None of the participants had any disease that affects the body's hydration status.

At first, 60 from the 115 women were randomly selected to undergo DXA whole body composition measurement, apart from BIA measurement, in order to develop and validate the new BIA equation. For the estimation of the equation the group of 60 subjects was divided in two randomly selected subgroups (SG_1 : $n = 30$, SG_2 : $n = 30$), using a binary sequence of numbers (for example 0, 1, 0, 1). The first sub-group was used to develop the new regression equation and the second for the validation of the new equation. No differences were observed as regards the age distribution of the two subgroups (mean $\pm$ SD: 53.96 ± 6.4 vs. 53.00 ± 6.3 , $p = 0.643$).

Then, the remaining 55 subjects from the sample of the 115 women were added to SG_2 and a final sample of 85 women (age range 41- 69, mean age: 50.84 ± 5.82) was used to examine the relationship between BMI, BF% and body fat distribution indices.

The study protocol was approved by the Harokopio University Institutional Review Board.

Procedures

Anthropometry

Subjects were weighed wearing light clothes and no shoes. Body weight (Wt) and height (Ht) were measured using a Seca scale and stadiometer (Mod 220) to a precision of 0.5 kg and 0.5 cm, respectively. BMI was calculated as $\text{weight (kg)} / \text{height}^2 (\text{m}^2)$. Waist (WC) and hip (HC) circumferences were measured with a plastic tape measure, to a precision of 0.1 cm and waist to hip ratio (WHR) was estimated. Triceps, biceps, subscapular and suprailiac skinfolds, were estimated on the right side of the body, as described by Durnin and Womersley (16), to a precision of 0.5 mm, using a Lange skinfold caliper (Cambridge Scientific Instruments, Cambridge, MA). All the above procedures were carried out by a single, well-trained researcher from the research team.

Bioelectrical impedance analysis (BIA)

Resistance (R) and reactance (Xc) were measured with a single frequency (50 kHz), four terminal impedance plethysmograph (Model 101Q, RJL- Systems, Mt Clemens, MI). With minimum clothing and all the jewellery removed and after an overnight fast, subjects assumed a supine position with arm and legs abducted from the body, as described by Lukaski et al. (17).

Dual energy x- ray absorptiometry (DXA)

Total body Bone Mineral Content (BMC) and soft tissue composition were determined, for 60 subjects, with a DXA total body scanner (Model Lunar DPX, Lunar Corp., Madison, WI) and calculated by the Lunar software, version 4.7e. A fast scan mode was used, unless a slower mode was suggested by the manufacturer, for obese subjects. The scanner was calibrated on a daily basis. The FFM was estimated as the sum of BMC and the lean bone- free tissue mass (LBM), of the whole body. DXA was used as criterion method for the development of the new BIA equation.

Statistical analysis

Continuous variables are presented as mean values $\pm$ standard deviation (SD), while qualitative as absolute and relative frequencies. Multiple stepwise regression analysis was performed to identify the best predictors of FFM, as measured by DXA, from selected BIA and other variables, known to affect FFM, including age, weight, height², resistance (R), height² /resistance, reactance (Xc), BMI and the four skinfolds (when each predictor variable was selected, the significance of its contribution to the R² of the equation was evaluated, p entry ≤ 0.05). Bland and Altman analysis (18) was used to evaluate the relative validity of the BIA equation against DXA. In summary, in the Bland and Altman analysis, the values derived from two methods of clinical measurement are compared by plotting their difference against their mean or average. The bias (mean difference between FFM measured by DXA and FFM predicted by the regression equation) and the corresponding limits of agreement ($\pm 2SD$) of the mean difference were calculated. Z- test for the mean BF% as measured with DXA and BF% predicted from the BIA equation, was calculated.

The Kolmogorov-Smirnov criterion was used to test for the normality of distributions. Two samples t-test and two samples Mann – Whitney U test were used to test differences in characteristics between the final group of the 85 women and subgroup 1, as well as between pre and postmenopausal women. One- way ANOVA was used to test the differences among BMI- classification groups. Pearson correlation coefficient evaluated the

associations between normally distributed variables, while Spearman correlation coefficient was used for the skewed ones.

The level of significance was defined at $p < 0.05$. Data were analyzed by using the Statistical Package for the Social Sciences software (SPSS version 10.0, SPSS Inc. Texas, USA).

RESULTS

The subjects' age, anthropometric and BIA characteristics are shown in **Table 1**.

Table 2 presents the results from the final regression model for the new BIA equation. Based on the estimated coefficients, the new equation is the following:

$$\text{FFM (kg)} = 17.825 + 0.38 * \text{height}^2 / \text{R} + 0.172 * \text{weight} - 0.156 * \text{age}.$$

This equation explained the 88.4% of the variance of FFM ($R^2 = 0.884$, $\text{SEE} = 1.89 \text{ kg}$). For the validation of the new equation a Bland and Altman analysis was used. The bias was not statistically significant ($p = 0.281$) and the limits of agreement ($\pm 3.6 \text{ kg}$) were of acceptable validity and no statistically significant correlation was detected between average and difference ($r = -0.042$, $p = 0.829$). Therefore the new BIA equation showed clinically acceptable agreement with the reference method. The comparison of the means of BF% as measured with DXA and as predicted by the new BIA equation, did not show a statistically significant difference ($p = 0.668$).

In the final group of 85 women, BMI, FFM, BF%, WHR, WC and HC did not differ between the pre ($N=37$) and postmenopausal ($N=48$) groups (at $p = 0.05$ significance level). BMI had a very strong, positive correlation with BF% ($r = 0.83$, $p < 0.0001$) and also strong correlation with FFM ($r=0.66$, $p<0.0001$). Both BF% and BMI correlated with WHR and WC ($r_{\text{BF\%-WHR}} = 0.287$, $p=0.009$; $r_{\text{BMI-WHR}} = 0.355$, $p = 0.001$ and $r_{\text{BF\%-WC}} = 0.72$, $p < 0.0001$; $r_{\text{BMI-WC}} = 0.81$, $p < 0.0001$).

Table 3 categorizes the subjects according to the WHO BMI cut- off points for normal, overweight and obese people and shows, for each category, the mean $\pm$ SD of BMI, BF%, as predicted by the new BIA equation, WC and WHR. All the variables varied significantly between the groups. The 80% of the women were classified as overweight or obese, according to the BMI classification and only 20% had a normal BMI. However, in this last group, with normal BMI, the mean BF% was as high as 36.15% (± 4.19). Finally, individuals who had normal weight, as well as the overweight ones had mean WHR less than 0.8 (0.749 and 0.787 respectively) and mean WC less than 88 cm (72.53 and 83.06 cm, respectively). All the variables varied significantly between the groups ($p < 0.0001$).

Similar were the findings when only the postmenopausal group was taken into account (normal weight: WHR= 0.747 and WC= 72.43 cm, overweight: WHR=0.786 and WC=82.00 cm).

DISCUSSION

The body composition analysis of our group of perimenopausal women revealed that BMI doesn't reflect, adequately, the actual obesity status, since subjects with BMI below 25 had undesirably high body fat percentages. However, the body fat was mainly distributed at the lower part of the body, both in normal and overweight women. The same was observed when only postmenopausal women were taken into account.

Body mass index (BMI) is generally well correlated with body fat percentage (BF%) and is a good indicator of disease risk (3). However, there is evidence to support that the strength of the relationship between BMI and BF% varies between populations and ethnic groups, as well as between different sex and age groups (4 -8). Perimenopausal period is very important because several changes take place in women's bodies and there are not enough data to show whether BMI reflects the actual obesity status and whether BMI or BF% is a better predictor of disease risk in this sex and age specific group.

Since there are no BIA equations developed from samples of the Greek population, we estimated a new BIA equation that was validated using DXA as the reference method (19-22). The proposed equation showed the best predictive accuracy of both FFM and BF%, compared to other previously published equations (23-25) (data not shown), in our sample. According to the results of the development of the new BIA equation, height²/R, weight and age contributed significantly to the prediction of FFM. All four independent variables can be easily measured, with significant accuracy. The size of the study group which was used for the development and validation of the BIA equation can be considered as being adequate, since it was age and sex specific and there were no significant differences concerning the physical activity of the participants (data not shown). Finally, the validation of the new equation in the randomly selected subgroup 2 revealed that it accurately predicted FFM of women, aged 41- 69 years old and therefore is recommended for body composition estimation of Greek middle-aged women.

Our results indicate that, according to the BMI cut- off points for obesity (2), 30.6% of the subjects were obese, whereas all of the participants were classified as obese, according to their body fat percentage (BF> 30%) (23). This finding suggests that an undesirably high level of body fat exists within our sample, despite an acceptable BMI and

similar results have been published for some ethnic groups (4, 8, 26), but not for Caucasians. On the contrary, Gallagher et al. (9) found that in 50-year-old female Caucasians mean BF% was 30%, whereas their BMI was as low as 23.3 kg/ m² and Lean et al (27) reported in Scottish females a 34% body fat percentage for a BMI of 25. The above results lead to the following question: is the body composition of our perimenopausal women undesirable and does it reflect a predisposition to obesity and related diseases? For further understanding of the women's body composition, we examined body fat distribution indices of our sample. The mean WHR was 0.79 and almost 58% of the subjects had WHR less than 0.8, which reveals a tendency for gynecoid type of obesity (28). Additionally, we evaluated the percentage of the subjects, who had waist circumference more than 88 cm, a cut – off point for women, which is related with high disease risk (28) and that was 35%.

The comparison of our results with that of other studies, in middle aged women from central or Eastern Europe shows that our sample exhibits a more gynecoid fat distribution (29-33). Additionally, data from the Health Survey for England (34) showed that women with age range 45-54 y had mean BMI 27.6 and mean WHR 0.82 and those with age range 55-64 y had mean BMI 28.1 and WHR 0.83 (data 2001), whereas in our sample mean BMI was 28.85 and mean WHR 0.79, revealing again a different type of fat distribution.

Our findings differ from those of the EPIC study (35), according to which, Greek women are among those, with the highest prevalence of large WC and high WHR (age range 50-64 years old). However in this analysis the WC and WHR of Greek women, with mean BMI equal to 29.6, were compared to WC and WHR of women from other countries that had quite lower body mass indexes (22.5 - 27.9). More accurate conclusions, concerning body fat distribution, would have been drawn if women from different countries, but with similar BMI were compared. Therefore, although there is an undesirably high level of body fat in our subjects, it is mainly distributed at the lower part of the body, and may not contribute to an increase of obesity and other diseases' risk, as central body fat distribution does (31, 36). This finding may be due to certain genetic characteristics of our Mediterranean population. In Mediterranean countries the absolute risk of obesity-related diseases, such as coronary heart disease, is among the lowest in Europe (37, 38), especially in female populations and this may be attributed to genetic, as well as to environmental factors, such as diet.

Current findings concerning body composition need further investigation in larger, population representative samples, in order to see whether they reveal special characteristics of Greek females. Moreover it is important to investigate whether BF% or

110

BMI better predicts the risk of obesity related diseases in perimenopausal women and therefore whether new BMI cut-off points are needed for the estimation of disease risk in middle-aged women. This will also help avoiding unjustified weight reduction efforts during this period of women's life, which may increase the risk of osteoporosis.

In summary, the body composition analysis of our sample of perimenopausal women revealed that our subjects had high BF% and that BMI doesn't reflect, adequately, the actual obesity status, especially in subjects with BMI below 25, who had BF% as high as 36%. However, the body fat was mainly distributed at the lower part of the body, with normal and overweight women having low WHR and WC. Whether BMI or BF% is a more sensitive index for obesity related diseases, in the perimenopausal period, remains to be defined.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank Dr. Mary Yannakoulia for her valuable comments during the analysis of the data.

REFERENCES

1. Elrick H. Exercise is medicine. *Physician Sports Med* 1996; 24: 72-78.
2. WHO. Obesity: Preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation on Obesity, Geneva, 3 – 5 June 1997. WHO/ NUT/ NCD/ 98.1. WHO: Geneva, 1998.
3. Bray GA. Clinical evaluation of the obese patient. *Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 1999; 13: 71-92.
4. Wang J, Thornton JC, Russell M, Burastero S, Heymsfield S, Pierson RN Jr. Asians have lower body mass index (BMI) but higher percent body fat than do whites: comparisons of anthropometric measurements. *Am J Clin Nutr* 1994; 60: 23-8.
5. Swinburn BA, Craig PL, Daniel R, Dent DP, Strauss BJ. Body composition differences between Polynesians and Caucasians assessed by bioelectrical impedance. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1996; 20: 889-94.
6. Norgan NG. Population differences in body composition in relation to the body mass index. *Eur J Clin Nutr* 1994; 48 (Suppl 3): S10-27.

7. Deurenberg P, Yap M, van Staveren WA. Body mass index and percent body fat: a meta analysis among different ethnic groups. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1998; 22: 1164-71.
8. Deurenberg-Yap M, Schmidt G, van Staveren WA, Deurenberg P. The paradox of low body mass index and high body fat percentage among Chinese, Malays and Indians in Singapore. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2000; 24: 1011-1017.
9. Gallagher D, Visser M, Sepulveda D, Pierson RN, Harris T, Heymsfield SB. How useful is body mass index for comparison of body fatness across age, sex, and ethnic groups? *Am J Epidemiol* 1996; 143: 228-39.
10. Poehlman ET. Menopause, energy expenditure, and body composition. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2002; 81: 603-11.
11. Kushner RF. Bioelectrical impedance analysis: a review of principles and applications. *J Am Coll Nutr* 1992; 11: 199-209.
12. Van Loan MD. Bioelectrical impedance analysis to determine fat-free mass, total body water and body fat. *Sports Med* 1990; 10: 205-17.
13. Baumgartner RN. Electrical impedance and total body electrical conductivity. In: Roche AF, Heymsfield SB, Lohman TG, (eds). *Human Body Composition*. Champaign, IL: Human Kinetics; 1996, pp: 79 – 107.
14. Jebb SA. Measurement of soft tissue composition by dual energy X-ray absorptiometry. *Br J Nutr* 1997; 77: 151-63.
15. Wang ZM, Deurenberg P, Guo SS et al. Six-compartment body composition model: inter-method comparisons of total body fat measurement. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1998; 22: 329-37.
16. Durnin JVGA, Womersley J. Body fat assessed from total body density and its estimation from skinfold thickness: measurements on 481 men and women aged from 16 to 72 years. *Br J Nutr* 1974; 32: 77- 97.
17. Lukaski HC, Johnson PE, Bolonchuk WW, Lykken GI. Assessment of fat-free mass using bioelectrical impedance measurements of the human body. *Am J Clin Nutr* 1985; 41: 810-7.
18. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; 8: 307 – 310.
19. Svendsen OL, Haarbo J, Heitmann BL, Gotfredsen A, Christiansen C. Measurement of body fat in elderly subjects by dual-energy x-ray absorptiometry, bioelectrical impedance, and anthropometry. *Am J Clin Nutr* 1991; 53: 1117-23.

20. Wattanapenpaiboon N, Lukito W, Strauss BJ, Hsu-Hage BH, Wahlqvist ML, Stroud DB. Agreement of skinfold measurement and bioelectrical impedance analysis (BIA) methods with dual energy X-ray absorptiometry (DEXA) in estimating total body fat in Anglo-Celtic Australians. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1998; 22: 854-60.
21. Kyle UG, Genton L, Karsegard L, Slosman DO, Pichard C. Single prediction equation for bioelectrical impedance analysis in adults aged 20--94 years. *Nutrition* 2001; 17: 248-53.
22. Van Loan MD, Mayclin PL. Body composition assessment: dual-energy X-ray absorptiometry (DEXA) compared to reference methods. *Eur J Clin Nutr* 1992; 46: 125-30.
23. Segal KR, Van Loan M, Fitzgerald PI, Hodgdon JA, Van Itallie TB. Lean body mass estimation by bioelectrical impedance analysis: a four-site cross-validation study. *Am J Clin Nutr* 1988; 47: 7-14.
24. Gray DS, Bray GA, Gemayel N, Kaplan K. Effect of obesity on bioelectrical impedance. *Am J Clin Nutr* 1989; 50: 255-60.
25. Lohman TG. Advances in body composition assessment. Current issues in exercise science series. Champaign, IL: Human Kinetics Books, 1992.
26. Lanham DA, Stead MA, Tsang K, Davies PS. The prediction of body composition in Chinese Australian females. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001; 25: 286-91.
27. Lean ME, Han TS, Deurenberg P. Predicting body composition by densitometry from simple anthropometric measurements. *Am J Clin Nutr* 1996; 63: 4-14.
28. National Institutes of Health. NHLBI education initiative expert panel on identification, evaluation and treatment of overweight and obesity in adults. NIH Publications, October 2000.
29. McCarthy SN, Harrington KE, Kiely M, Flynn A, Robson PJ, Livingstone MB, Gibney MJ. Analyses of the anthropometric data from the North/South Ireland Food Consumption Survey. *Public Health Nutr* 2001; 4(5A): 1099-106.
30. Lahti-Koski M, Pietinen P, Mannisto S, Vartiainen E. Trends in waist-to-hip ratio and its determinants in adults in Finland from 1987 to 1997. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 1436-44.
31. Molarius A, Seidell JC, Visscher TL, Hofman A. Misclassification of high-risk older subjects using waist action levels established for young and middle-aged adults--results from the Rotterdam Study. *J Am Geriatr Soc* 2000; 48: 1638-45.

32. Doll S, Paccaud F, Bovet P, Burnier M, Wietlisbach V. Body mass index, abdominal adiposity and blood pressure: consistency of their association across developing and developed countries. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2002; 26: 48-57.
33. Molarius A, Seidell JC, Sans S, Tuomilehto J, Kuulasmaa K. Waist and hip circumferences, and waist-hip ratio in 19 populations of the WHO MONICA Project. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1999; 23: 116-25.
34. Department of Health. Health Survey for England: Trend data for adults 1993-2001. Available at: <http://www.doh.gov.uk/stats/tables>. Accessed October 7th, 2003.
35. Haftenberger M, Lahmann PH, Panico S, Gonzalez CA, Seidell JC, Boeing H, Giurdanella MC, Krogh V, Bueno-de-Mesquita HB, Peeters PH, Skeie G, Hjartaker A, Rodriguez M, Quiros JR, Berglund G, Janlert U, Khaw KT, Spencer EA, Overvad K, Tjonneland A, Clavel-Chapelon F, Tehard B, Miller AB, Klipstein-Grobusch K, Benetou V, Kiriaki G, Riboli E, Slimani N. Overweight, obesity and fat distribution in 50- to 64-year-old participants in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Public Health Nutr* 2002; 5(6B): 1147-62.
36. Douchi T, Ijuin H, Nakamura S, Oki T, Yamamoto S, Katanozaka M, Nagata Y. The relation between body-fat distribution and lipid metabolism in postmenopausal women. *J Obstet Gynaecol Res* 1996; 22: 353-8.
37. World Health Organization (WHO). WHO Health Report. Geneva: WHO, 2000.
38. Sans S, Kesteloot H, Kromhout D on behalf of the Task Force. The burden of cardiovascular diseases mortality in Europe. Task force of the European Society of Cardiology on Cardiovascular Mortality and Morbidity Statistics in Europe. *Eur Heart J* 1997; 18: 1231-48.

TABLE 1.

Anthropometric and other descriptive characteristics of the study participants.

Variable	SG₁ (N=30)¹ Mean $\pm$SD	SG₂ (N=30)² Mean $\pm$SD	Final (N=85) Mean $\pm$SD
Age (y)	53.96 $\pm$ 6.4	53.00 $\pm$ 6.3	50.84 $\pm$ 5.82 ³
Height (cm)	158.58 $\pm$ 7.4	157.02 $\pm$ 5.9	157.69 $\pm$ 5.5
Weight (kg)	72.65 $\pm$ 12.0	71.29 $\pm$ 11.7	71.79 $\pm$ 12.3
BMI (kg/ m ²)	28.81 $\pm$ 3.6	28.80 $\pm$ 3.6	28.85 $\pm$ 4.59
Waist circumference (cm)	82.87 $\pm$ 8.4	80.06 $\pm$ 8.5	84.55 $\pm$ 10.8
Hip circumference (cm)	104.23 $\pm$ 9.5	104.67 $\pm$ 9.0	106.93 $\pm$ 10.1
Waist to Hip ratio	0.79 $\pm$ 0.05	0.77 $\pm$ 0.05 ⁴	0.79 $\pm$ 0.05

Skinfolds

Triceps (mm)	35.3 $\pm$ 5.7	34.8 $\pm$ 5.5	35.2 $\pm$ 7.2
Biceps (mm)	33.2 $\pm$ 7.2	33.3 $\pm$ 5.6	31.4 $\pm$ 7.6
Subscapular (mm)	26.6 $\pm$ 8.0	25.3 $\pm$ 6.4	27.9 $\pm$ 9.4
Suprailiac (mm)	36.7 $\pm$ 9.7	34.4 $\pm$ 8.4	32.6 $\pm$ 9.6

BIA variables

Resistance (ohm)	503.9 $\pm$ 50.5	493.4 $\pm$ 47.8	511.4 $\pm$ 59.6
Reactance (ohm)	54.2 $\pm$ 6.9	55.2 $\pm$ 10.1	55.1 $\pm$ 8.1

¹Subgroup 1 was used for the production of the new bioelectrical impedance equation.

²Subgroup 2 was used for the validation of the new bioelectrical impedance equation.

³ Significantly different from SG1 (Mann – Whitney U test, p= 0.025).

⁴ Significantly different from SG1 (Mann – Whitney U test, p= 0.042).

TABLE 2.

Results from the regression model (final) that was applied for the development of the BIA equation.

	Unstandardized coefficients		Standardized coefficients	p value
	B	SE	Beta	
Constant	17.825	3.88		< 0.0001
Ht ² / R	0.380	0.080	0.562	< 0.0001
Wt	0.172	0.052	0.392	0.003
Age	-0.156	0.055	-0.191	0.009

Dependent variable: FFM as measured by DXA

Ht: height (cm); Wt: weight (kg); R: resistance from BIA

TABLE 3.

Subjects' categorization, according to the WHO BMI cut- off points for normal, overweight and obese (2).

	BMI categories		
	BMI < 25	25 ≤ BMI < 30	BMI ≥ 30
Subjects N (%)	17 (20.0)	42 (49.4)	26 (30.6)
BMI (mean ± SD)	23.43 ± 1.34	27.75 ± 1.49	34.19 ± 3.80
BF% ¹ (mean ± SD)	36.15 ± 4.19	41.42 ± 3.16	47.40 ± 3.67
WC ² (mean ± SD)	72.53 ± 3.64	83.06 ± 7.55	95.10 ± 8.52
WHR ³ (mean ± SD)	0.749 ± 0.05	0.787 ± 0.05	0.814 ± 0.05

¹ Body fat percentage as predicted by the *New* bioelectrical impedance analysis equation.

² Waist circumference (cm), ³ Waist to hip ratio

6. ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

ΕΠΩΝΥΜΟ:	Κοντογιάννη
ΟΝΟΜΑ:	Μερόπη
ΟΝΟΜΑ ΠΑΤΡΟΣ:	Δημήτριος
ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΓΕΝΝΗΣΕΩΣ:	19/1/1976
ΤΟΠΟΣ ΓΕΝΝΗΣΕΩΣ:	Αθήνα
ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ:	Άγαμη
ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ ΚΑΤΟΙΚΙΑΣ:	Ηρακλέους 150, Καλλιθέα
ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΗ ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ	mkont@hua.gr

ΣΠΟΥΔΕΣ/ ΥΠΗΡΕΣΙΑ

1992-93	Γενικό Λύκειο με βαθμό άριστα, Δεκαοκτώ και 9/11.
1997-98	Τμήμα Διαιτολογίας Χαροκοπείου Πανεπιστημίου με βαθμό πτυχίου οκτώ και δύο δέκατα (8,2), "Λίαν Καλώς".
1999-	Έναρξη διαδακτορικής διατριβής στο Τμ. Επιστ. Διαιτολογίας – Διατροφής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο με θέμα: Ο πιθανός ρόλος ορμονών του λιπώδους ιστού (λεπτίνης & αντιπονεκτίνης) στην οστεοπενία περιεμμηνοπαυσιακών γυναικών
Ιούλιος-Αύγουστος 2001	Μετεκπαίδευση στο Τμήμα Διαιτολογίας-Διατροφής του Πανεπ/κού Νοσοκομείου Queen's Medical Centre, Nottingham, UK.
Φεβρουάριος 2003 - σήμερα	Κλινική Διαιτολόγος στο ΓΝΑ «Λαϊκό».

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

Δεκέμβριος 1995	Certificate of PROFICIENCY in English, University of Cambridge.
Ιανουάριος 2000	ZERTIFICAT Deutsch als Fremdsprache.

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

- Μέτρηση οστικής πυκνότητας στη σπονδυλική στήλη και σύστασης σώματος με τη μέθοδο της απορροφησιομετρίας ακτίνων- Χ διπλής ενέργειας (DXA).
- Εκτίμηση της σύστασης σώματος με τη Μέθοδο της Βιοηλεκτρικής Εμπέδησης (BIA).
- Ανοσοενζυμικός προσδιορισμός πρωτεϊνών (ELISA).

ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΕΡΓΟ

2001 – 2004	Διεξαγωγή εργαστηριακών ασκήσεων στα πλαίσια του μαθήματος «Κλινική Διαιτολογία II», στο Τμ. Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου (Υπεύθυνος μαθήματος: Ζαμπέλας Α.).
-------------	---

1998 – 2004 Εκπαιδεύτρια στο πρόγραμμα πρακτικής άσκησης των φοιτητών του Τμ. Επιστήμης Διαιτολογίας-Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου στα νοσηλευτικά ιδρύματα: ΠΓΝΑ «Γ. Γεννηματάς», ΝΕΕΣ «Κοργιαλένειο-Μπενάκειο» και ΓΝΑ «Λαϊκό», με σύμβαση εργασίας ιδιωτικού δικαίου ορισμένου χρόνου, σύμφωνα με τις διατάξεις του άρθρου 5 του Π.Δ.407/1980.

ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΣΥΓΓΡΑΦΗ ΒΙΒΛΙΩΝ

- | | |
|------|--|
| 2004 | Κατευθυντήριες γραμμές για τη διάγνωση και αντιμετώπιση της οστεοπόρωσης στην Ελλάδα. Παπακίτσου Ε, Πασπάτη Ι, Τουρνής Σ, Ιωακειμίδης Δ, Τροβάς Γ, Καρακασίδου Π, <u>Κοντογιάννη Μ</u> , Λυρίτης Γ. Μονογραφία ΕΛΙΟΣ, Εκδ. Hylonome. |
| 2003 | «Κλινική Διαιτολογία», Α. Ζαμπέλας (εκδ.), του Τμ. Επιστήμης Διαιτολογίας – Διατροφής του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου στα κεφάλαια: «Υγεία των οστών», «Διαταραχές του ανώτερου γαστρεντερικού σωλήνα», «Διαταραχές του κατώτερου γαστρεντερικού σωλήνα», «Διαταραχές ήπατος, χοληφόρων και εξωκρινούς μοίρας παγκρέατος». (Υπό έκδοση). |
| 2003 | «Κλινική Διατροφή», Ν. Κατσιλάμπρος (εκδ.), στα κεφάλαια «Διατροφή κατά τη φυσιολογική κύηση και γαλουχία», «Βιταμίνες – Μέταλλα και Ιχνοστοιχεία» και «Η δίαιτα στον σακχαρώδη διαβήτη». Βήτα Ιατρικές Εκδόσεις (υπό έκδοση). |

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΕΡΓΟ

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ:

1. Kontogianni MD, Panagiotakos DB, Skopouli FN. Does body mass index reflect adequately the body fat content in peri-menopausal women? Maturitas (in press).
2. Yiannakouris N, Melistas L, Kontogianni M, Heist K, Mantzoros CS. The Val⁸¹Ile missense mutation of the melanocortin 3 receptor gene, but not the 1908C/T nucleotide polymorphism in lamin A/C gene, is associated with hyperleptinemia and hyperinsulinemia in obese Greek Caucasians. J Endocrinol Invest (in press).
3. Kontogianni MD, Dafni UG, Routsias JG, Skopouli FN. Blood Leptin and Adiponectin as possible mediators of the relation between fat mass and BMD in perimenopausal women. J Bone Miner Res 2004; 19(4): 546-51.
4. Lee JH, Chan JL, Yiannakouris N, Kontogianni M, Estrada E, Seip R, Orlova C, Mantzoros CS. Circulating resistin levels are not associated with obesity or insulin resistance in humans and are not regulated by fasting or leptin administration: cross-sectional and interventional studies in normal, insulin-resistant, and diabetic subjects. J Clin Endocrinol Metab 2003; 88(10): 4848-56.

5. Gavril A, Chan JL, Yiannakouris N, Kontogianni M, Miller LC, Orlova C, Mantzoros CS. Serum adiponectin levels are inversely associated with overall and central fat distribution but are not directly regulated by acute fasting or leptin administration in humans: cross-sectional and interventional studies. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(10):4823-31.

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ ΣΕ ΕΛΛΗΝΙΚΑ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ:

1. Κοντογιάννη Μ. Διατροφή και σκελετική υγεία. *Σκελετική Υγεία* 2003; Τόμος 2 (3):95-97.
2. Κοντογιάννη Μ. Διατροφή στις ηπατοπάθειες. *Διατροφή – Διαιτολογία* 2003; 7(1-2):18-24.

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. 13th European Congress on Obesity, Prague 26-29/ 5/ 2004. Αναρτημένη ανακοίνωση με θέμα: Body mass index (bmi) and body fat (bf) % as indices of hyperlipidemia, hyperglycemia and insulin resistance, in middle-aged women. MD Kontogianni, DB Panagiotakos, FN Skopouli. *Int J Obes* 2004 28 (Suppl 1): S120.
2. 13th European Congress on Obesity, Prague 26-29/ 5/ 2004. Αναρτημένη ανακοίνωση με θέμα: Epidemiology of overweight and obesity in a Greek adult population; the Attica Study. MD Kontogianni, DB Panagiotakos, GS Risvas, C Chrysohoou, C Pitsavos. *Int J Obes* 2004 28 (Suppl 1): S63.
3. The Endocrine Society's 85th Annual Meeting, Philadelphia, USA 19/6/2003. Βραβευμένη προφορική ανακοίνωση με θέμα: Circulating resistin levels are not associated with obesity or insulin resistance in humans and are not regulated by fasting or leptin administration. Lee JH, Chan JL, Yiannakouris N, Kontogianni M, Orlova C, Mantzoros CS. Abstract book p:99.
4. The Endocrine Society's 85th Annual Meeting, Philadelphia, USA 19/6/2003. Αναρτημένη ανακοίνωση με θέμα: Diurnal rhythmicity and predictors of serum adiponectin levels in humans. Gavril A, Chan JL, Yiannakouris N, Kontogianni M, Orlova C, Peng CK, Mietus JE, Goldberger AL, Mantzoros CS. Abstract book p:264, P1-552.
5. 30th European Symposium on Calcified Tissues, Rome 8 – 12/ 5/ 2003. Αναρτημένη ανακοίνωση με θέμα: Does leptin have an effect on bone mineral density in perimenopausal women? Kontogianni MD, Dafni U, Routsias J and Skopouli FN. *Calcified Tissue International* 2003 72;4:376-377.
6. Clinical Research 2003 Annual Meeting, Baltimore, Maryland, USA, 15/3/2003. Αναρτημένη ανακοίνωση με θέμα: Diurnal rhythmicity and predictors of serum adiponectin levels in humans. Gavril A, Chan JL, Yiannakouris N, Kontogianni M, Orlova C, Peng CK, Mietus JE, Goldberger AL, Mantzoros CS. Abstract in: *Journal of Investigative Medicine* 2003;51,Supplement 2: S376-S377.
7. 1ο Βαλκανικό Συνέδριο Παχυσαρκίας, Αθήνα 6-9/02/2003. Προφορική ανακοίνωση με θέμα: Assessment of body composition, of greek, middle-age, women. Kontogianni MD, Skopouli FN. Abstract book p: 73.
8. 1ο Βαλκανικό Συνέδριο Παχυσαρκίας, Αθήνα 6-9/02/2003. Αναρτημένη ανακοίνωση με θέμα: The Val⁸¹Ile missense mutation of the melanocortin 3 receptor gene, but not the 1908c/t nucleotide

polymorphism in lamin a/c gene, is associated with hyperleptinemia and hyperinsulinemia in obese greek Caucasians. N. Yiannakouris, M. Kontogianni, L. Melistas, K. Heist, C.S. Mantzoros. Abstract book p: 94.

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. 7^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Διατροφής-Διαιτολογίας, Αθήνα 14/11/2003. Προφορική Ανακοίνωση με θέμα: Διαιτητικές συνήθειες ασθενών με Σύνδρομο Ευερέθιστου Εντέρου. Κοντογιάννη Μ, Χάδου Κ, Γαλανόπουλος Γ, Ζαμπέλας Α, Μπομπούση Π, Σαραντώνης Γ, Τζιβράς Μ. Βιβλίο Πρακτικών, σελ: 133-134.
2. 3^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Ελληνικής Εταιρείας Διατροφής και Τροφίμων, 19-21/11/98. Αναρτημένη εργασία με θέμα: Διατροφικές συνήθειες μοναχών στα ελληνικά μοναστήρια. Πολυχρονόπουλος Ε, Κοντογιάννη Μ, Χαντζή Ο, Ζαμπέλας Α, Ματάλα Α.

ΟΜΙΛΙΕΣ

ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ/ ΗΜΕΡΙΔΕΣ:

1. 11/ 9/ 2004, ομιλία στην Επιστημονική ημερίδα του ΕΛΙΟΣ με θέμα: «Συμβουλευτικά προγράμματα σε περιεμφηνοπαυσιακές γυναίκες για την πρόληψη της οστεοπόρωσης».
2. 13/ 12/ 2003, ομιλία στο 8^ο Διεθνές Σεμινάριο ΕΛ.Ι.Ο.Σ, με θέμα: Καταβολικές Παθήσεις και επίδραση στο σκελετό. Σκελετική Υγεία, 2003, Τόμος 2, Τεύχος 4, σελ: 140-141.
3. 15/ 11/ 2003, ομιλία στο 7^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Διατροφής-Διαιτολογίας, με θέμα: Διαιτητική αντιμετώπιση ασθενών με οξεία παγκρεατίτιδα. Βιβλίο Πρακτικών σελ: 95-98.
4. 14/ 10/ 2003, ομιλία στην Επιστημονική Διημερίδα «Παγκόσμια Ημέρα Οστεοπόρωσης» (Οργάνωση: Ελληνικό Ινστιτούτο Οστεοπόρωσης) με θέμα: Διατροφικές ανάγκες και σκελετική υγεία.
5. 4/ 10/ 2003, ομιλία στο 23^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Γαστρεντερολογίας, με θέμα: Η διαιτητική συμβουλή στις εγχειρήσεις του ανώτερου πεπτικού σωλήνα. Βιβλίο πρακτικών σελ 274-277.
6. 7/ 6/ 2003, ομιλία στο 13^ο Παμπελοποννησιακό Καρδιολογικό Συνέδριο (Οργάνωση: Ιατρικός Σύλλογος Αρκαδίας και Καρδιολογική Κλινική Γενικού Παναρκαδικού Νοσοκομείου Τριπόλεως), με θέμα: Δίαιτα και τρόπος ζωής πριν και μετά την εμφάνιση στεφανιαίας νόσου.
7. 29/ 3/ 2003, ομιλία στο 16^ο Μετεκπαιδευτικό Σεμινάριο για Νοσηλευτές : Σακχαρώδης Διαβήτης στην Πράξη (Οργάνωση: Α' ΠΠΚ Πανεπιστημίου Αθηνών και η Νοσηλευτική Υπηρεσία του ΓΝΑ « Λαϊκό»), με θέμα: ω-3 λιπαρά οξέα.
8. 15/ 12/ 2002, ομιλία στο 7^ο Διεθνές Σεμινάριο του Ελληνικού Ινστιτούτου Οστεοπόρωσης με θέμα: Αλλαγές στη σύσταση σώματος κατά τη μέση ηλικία. Σκελετική Υγεία 2002; Τόμος 1(3), σελ:122-123.
9. 13/ 9/ 2002, ομιλία στο σεμινάριο Βασικής Εκπαίδευσης στα Μεταβολικά Νοσήματα των Οστών του Ελληνικού Ινστιτούτου Οστεοπόρωσης, με θέμα: Η σημασία των διαιτητικών παραγόντων στην επίτευξη και διατήρηση της μέγιστης οστικής μάζας.
10. 9/ 4/ 2002, παρουσιάσεις κλινικών περιστατικών στην 1^η Ημερίδα των ομάδων εργασίας της Ελληνικής Εταιρείας Λιπιδιολογίας και Αθηροσκλήρωσης.

ΣΕ ΜΑΘΗΜΑΤΑ:

1. 28/ 4/ 2004, 6/ 5/ 2003 ομιλία με θέμα: Διαιτητική προσέγγιση ασθενών με χρόνια ηπατική ανεπάρκεια και 21/ 4/ 2004, 1/ 4/ 2003 ομιλία με θέμα: Διαιτητική αντιμετώπιση ασθενών με Ιδιοπαθή Φλεγμονώδη Νοσήματα του εντέρου, στα πλαίσια του μαθήματος «Ειδικά Θέματα Κλινικής Διατροφής» του ΠΜΣ «Εφαρμοσμένη Διαιτολογία – Διατροφή» του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου (Υπεύθυνος: Καθηγ. Α. Ζαμπέλας).
2. 15/ 3/ 2004, τρίωρη ομιλία στο μάθημα «Μηχανισμοί Νόσων» του ΠΜΣ «Εφαρμοσμένη Διαιτολογία – Διατροφή» του Χαροκοπείου Πανεπιστημίου (Υπεύθυνη: Καθηγ. Φ. Σκοπούλη) με θέμα: Μέγεθος σώματος και οστική μάζα.
3. 16/ 12/ 2003, 17/ 12/ 2002 ομιλία στο κατ' επιλογήν μάθημα «Κλινική Διατροφή» της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών (Υπεύθυνος: Καθηγητής Ν. Κατσιλάμπρος), με θέμα: Διατροφή κατά την κύηση.
4. 26/ 5/ 2003, δώωρη ομιλία στο μεταπτυχιακό πρόγραμμα της Εθνικής Σχολής Δημόσιας Υγείας (Υπεύθυνος: Καθηγ. Χρήστος Μαντζώρος), με θέμα: Θρεπτικά συστατικά και σύσταση σώματος & Ανάγκες σε θρεπτικά συστατικά και συνιστώμενες διαιτητικές προσλήψεις.

ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΣΕΜΙΝΑΡΙΩΝ - ΣΥΝΕΔΡΙΩΝ

ΣΕΜΙΝΑΡΙΑ:

1. 13-15/ 9/ 2002, "Βασικές γνώσεις για τα μεταβολικά νοσήματα των οστών". Διοργάνωση Ελληνικού Ινστιτούτου οστεοπόρωσης.
2. Intensive Course in Nutritional Medicine, in Harokopio University in collaboration with the University of Surrey, UK from 28/4/1999 until 1/5/1999.
3. 9/3 - 11/5/1998 "Συμβολή της Διατροφής στην προαγωγή υγείας - Αξιολόγηση Διατροφικών Ερευνών" στο πλαίσιο του ΕΠΕΑΕΚ "Προγράμματα Σπουδών -Συγγράμματα" στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο.
4. 25/11 - 18/12/1998 "Προληπτική Ιατρική - Διατροφή και Δημόσια Υγεία" στο πλαίσιο του ΕΠΕΑΕΚ, στο Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο.

ΣΥΝΕΔΡΙΑ:

6 διεθνή και 16 πανελλήνια.

ΣΥΛΛΟΓΟΙ ΚΑΙ ΕΤΑΙΡΕΙΕΣ

Πανελλήνιος Σύλλογος Διαιτολόγων
Ελληνικό Ιδρύμα Οστεοπόρωσης
Ελληνική Διαβητολογική Εταιρεία
Ελληνική Εταιρεία Λιπιδιολογίας και Αθηροσκλήρωσης
Nutrition Society; London, UK
European Society of Parenteral and Enteral Nutrition (ESPEN)