



ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΔΙΑΙΤΟΛΟΓΙΑΣ-ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΜΕ ΘΕΜΑ :

**ΑΝΤΑΠΟΚΡΙΣΗ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΜΕ ΚΑΛΣΙΤΟΝΙΝΗ ΣΕ
ΓΥΝΑΙΚΕΣ ΜΕ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗ ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΤΟ
ΓΟΝΟΤΥΠΟ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΤΗΣ ΚΑΛΣΙΤΟΝΙΝΗΣ**



ΥΠΕΥΘΥΝΗ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ:

ΣΤΑΘΟΠΟΥΛΟΥ ΜΑΡΙΑ

ΑΜ:9931

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΔΕΔΟΥΣΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

ΔΕΔΟΥΣΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ

Λέκτορας

ΜΑΝΙΟΣ ΙΩΑΝΝΗΣ

Λέκτορας

ΣΚΟΠΟΥΛΗ ΦΩΤΕΙΝΗ

Καθηγήτρια

ΑΘΗΝΑ 2003

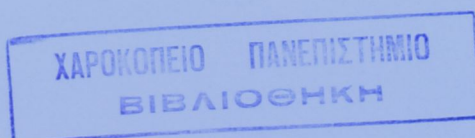
ΠΤΥ
ΣΤΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ:

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου κ. Δεδούση Γιώργο, που μου ανέθεσε το θέμα αυτό και μου έδωσε τη δυνατότητα να συμμετάσχω σε μια πολύ ενδιαφέρουσα ερευνητική εργασία, καθώς και για τη βοήθεια και τη πρόθυμη συνεργασία του κατά τη διάρκεια της εργασίας αυτής.

Επίσης το προσωπικό του Ερευνητικού Κέντρου Μυοσκελετικών Παθήσεων του νοσοκομείου ΚΑΤ και κυρίως τη κ. Κατσαλήρα Κατερίνα και το κ. Γαλανό Αντώνη για το ενδιαφέρον και τη βοήθεια που μου προσέφεραν. Χωρίς τη συμβολή τους η ολοκλήρωση της εργασίας δεν θα ήταν εφικτή.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τη Χουμεριανού Δέσποινα και τις συμφοιτήτριες μου με τις οποίες συνεργάστηκα στο εργαστήριο Μοριακής Βιολογίας του Πανεπιστημίου για την απεριόριστη βοήθεια τους σε καθημερινά δυσκολίες και την πρακτική και ψυχολογική υποστήριξη που μου παρείχαν κατά τη διάρκεια του τελευταίου έτους.



ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η οστεοπόρωση είναι μια πολυπαραγοντική νόσος με σύνθετο γενετικό υπόβαθρο. Ένα από τα γονίδια που σχετίζονται με την οστεοπόρωση είναι το γονίδιο του υποδοχέα της καλσιτονίνης (CTR gene). Συγκεκριμένα ένας πολυμορφισμός στο γονίδιο αυτό φαίνεται ότι σχετίζεται με την οστική πυκνότητα και το κίνδυνο καταγμάτων.

ΣΚΟΠΟΣ: Στην έρευνα αυτή μελετήθηκε η συχνότητα του πολυμορφισμού αυτού σε μεταεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με εγκατεστημένη οστεοπόρωση. Μελετήθηκε ακόμα η ανταπόκριση στη θεραπεία με καλσιτονίνη και η συσχέτιση του γονοτύπου για το γονίδιο του υποδοχέα της καλσιτονίνης με την ανταπόκριση στη θεραπεία.

ΜΕΘΟΔΟΙ: Στις 230 γυναίκες που συμμετείχαν στην έρευνα έγινε γονοτυπική ταυτοποίηση για το γονίδιο CTR, και μετρήθηκε η οστική πυκνότητα σπονδυλικής στήλης και ισχίου πριν την εφαρμογή της θεραπείας με καλσιτονίνη και στο τέλος της θεραπείας (μετά από 12 μήνες).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ: Οι συχνότητες των γονοτύπων για το πολυμορφισμό είναι 41,73% TT, 50% TC, 8,26% CC. Η αύξηση της οστικής πυκνότητας στη σπονδυλική στήλη στους δώδεκα μήνες θεραπείας είναι κατά μέσο όρο 2% και η αύξηση αυτή είναι στατιστικά σημαντική ($P < 0.005$). Η αύξηση της οστικής πυκνότητας στο ισχίο δεν είναι στατιστικά σημαντική. Δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική επίδραση του γονοτύπου του υποδοχέα της καλσιτονίνης στην ανταπόκριση στη θεραπεία με καλσιτονίνη.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ: Η μελέτη αυτή παρέχει αποτελέσματα για τη συχνότητα του πολυμορφισμού του υποδοχέα της καλσιτονίνης σε ελληνικό πληθυσμό και κλινικά στοιχεία σχετικά με την αποτελεσματικότητα της θεραπείας με καλσιτονίνη σε άτομα με εγκατεστημένη οστεοπόρωση. Τέλος παρέχει την πρώτη βιβλιογραφική αναφορά σχετικά με την επίδραση του γονοτύπου στην ανταπόκριση της θεραπεία με καλσιτονίνη η οποία βρέθηκε μη στατιστικά σημαντική. Απαιτούνται όμως περισσότερες έρευνες για την επαλήθευση των αποτελεσμάτων αυτών

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	σελ
A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	4
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΟΣΤΩΝ	5
1.1 Λειτουργίες οστών	5
1.2 Τύποι οστίτη ιστού	5
1.3 Σύνθεση του οστίτη ιστού	5
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΑΝΑΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ	9
2.1 Ορισμός και σκοποί	9
2.2 Λειτουργία της οστικής ανακατασκευής	9
2.3 Ρύθμιση της οστικής ανακατασκευής	10
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΟΣΤΙΚΗ ΜΑΖΑ-ΜΕΓΙΣΤΗ ΟΣΤΙΚΗ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑ	12
3.1 Αύξηση της οστικής μάζας	12
3.2 Μέγιστη οστική πυκνότητα	12
3.3 Απώλεια της οστικής μάζας	14
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΟΣΤΕΟΠΩΡΩΣΗ	15
4.1 Ορισμός οστεοπόρωσης	15
4.2 Επιδημιολογία οστεοπόρωσης	16
4.3 Κλινική εικόνα οστεοπόρωσης	16
4.4 Παθογένεια οστεοπόρωσης	20
4.5 Παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση οστεοπόρωσης	21
4.6 Διάγνωση οστεοπόρωσης	24
4.7 Πρόληψη οστεοπόρωσης	30
4.8 θεραπεία οστεοπόρωσης	34
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΗΣ ΟΣΤΕΟΠΩΡΩΣΗΣ	41
5.1 Κληρονομικότητα στην οστεοπόρωση	41
5.2 Γενετική και οστεοπόρωση	42
5.3 Γονίδια που σχετίζονται με την οστεοπόρωση	44
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΚΑΛΣΙΤΟΝΙΝΗ	50
6.1 Δομή καλσιτονίνης	50
6.2 Γονίδιο καλσιτονίνης	51
6.3 Δράσεις καλσιτονίνης	52
6.4 θεραπευτικές χρήσεις καλσιτονίνης	55

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΥΠΟΔΟΧΕΑΣ ΚΑΛΣΙΤΟΝΙΝΗΣ	60
7.1 Δομή υποδοχέα	60
7.2 Λειτουργία υποδοχέα	61
7.3 Γονίδιο του υποδοχέα της καλσιτονίνης	61
7.4 Πολυμορφισμός του γονιδίου του υποδοχέα της καλσιτονίνης	64
Β. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	66
1. ΣΚΟΠΟΣ	67
2. ΑΣΘΕΝΕΙΣ	68
3. ΥΛΙΚΑ-ΜΕΘΟΔΟΙ	68
3.1 Πλαστικά-Γυαλικά	68
3.2 Μηχανήματα	68
3.3 Διαλύματα	69
3.4 Απομόνωση DNA	69
3.5 Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης PCR	71
3.6 Έλεγχος PCR	73
3.7 Πέψη με ενδονουκλεάσες περιορισμού	74
3.8 Μέτρηση οστικής πυκνότητας	75
3.9 Αξιολόγηση της διαιτητικής πρόσληψης ασβεστίου	76
3.10 Στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων	76
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	77
4.1 Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης	77
4.2 Πέψη με ενδονουκλεάσες περιορισμού	78
4.3 Χαρακτηριστικά του αρχικού δείγματος	79
4.4 Χαρακτηριστικά του τελικού δείγματος	80
4.5 Αποτελέσματα μετά την εφαρμογή της θεραπείας	87
Γ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	93
Δ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	98
Ε. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	105

Α. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΟΣΤΩΝ

1.1 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΕΣ ΟΣΤΩΝ

Τα οστά αποτελούν ένα από τα μεγαλύτερα όργανα του σώματος. Είναι άριστα σχεδιασμένα για να επιτελούν τις εξής λειτουργίες: i) εξασφαλίζουν τη στήριξη του σώματος, ii) επιτρέπουν τη κινητικότητα του ατόμου παρέχοντας μοχλούς, αρθρώσεις και σημεία πρόσφυσης των μυών, iii) προστατεύουν το αιμοποιητικό σύστημα και τα εσωτερικά όργανα δημιουργώντας το πλευρικό πλέγμα, τους σπονδύλους και το κρανίο (1, 2), iv) αποτελούν αποθήκη απαραίτητων ιόντων όπως ασβεστίου, μαγνησίου, φωσφόρου και νατρίου (1), v) ο μυελός τους παράγει κύτταρα του αίματος (αιμοποιητικό σύστημα) (2).

1.2 ΤΥΠΟΙ ΟΣΤΙΤΗ ΙΣΤΟΥ

Ο σκελετός αποτελείται από δύο τύπους οστίτη ιστού. Ο φλοιώδης ή συμπαγής οστίτης ιστός αποτελεί το 80% του σκελετού του ενηλίκου. Διατάσσεται κατά κυκλωτήρη πέταλα στις υποπεριοριστικές και στις ενδοστικές στιβάδες και κατά ομόκεντρα πέταλα γύρω από ένα κεντρικό αγγείο (οστεόνας ή Αβέρσειο σύστημα) μεταξύ των δύο επιφανειών. Ο δοκιδωτός ή σπογγώδης ή δικτυωτός οστίτης ιστός αποτελεί το υπόλοιπο 20% του σκελετού. Διατάσσεται μικροσκοπικά κατά παράλληλα πέταλα και έχει περισσότερα κενά από το φλοιώδη οστίτη ιστό (1). Στις πολυάριθμες κοιλότητες του περιέχεται ο μυελός των οστών. Αυτός μπορεί να είναι ερυθρός μυελός με ενεργό αιματοποίηση ή λευκός μυελός που αποτελείται κυρίως από λίπος (3). Ο σπογγώδης οστίτης ιστός επικρατεί στα σώματα των σπονδύλων, στις πλευρές, στη πύελο και στα άκρα των μακρών οστών.

Γενικά, ο φλοιώδης οστίτης ιστός εξυπηρετεί τις μηχανικές και προστατευτικές λειτουργίες του σκελετού, ενώ ο σπογγώδης εξυπηρετεί περισσότερο τις μεταβολικές (1).

1.3 ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΟΣΤΙΤΗ ΙΣΤΟΥ

Ο οστίτης ιστός αποτελείται από κυτταρικά και μη κυτταρικά συστατικά.

1.3.1 ΚΥΤΤΑΡΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

Τα τρία απαραίτητα, εξειδικευμένα για τις μεταβολικές δραστηριότητες του οστίτη ιστού κύτταρα είναι οι οστεοβλάστες, οι οστεοκλάστες και τα οστεοκύτταρα.

Οι **οστεοβλάστες** είναι τα κύτταρα που ευθύνονται για τη σύνθεση της χωρίς ασβέστιο θεμέλιας ουσίας του οστού, του οστεοειδούς και τη συνακόλουθη αφαλάτωσή του (1). Είναι κύτταρα με κυβοειδή διαμόρφωση, έντονο βασεόφιλο πρωτόπλασμα και αναπτυγμένο σύστημα Golgi (4). Προέρχονται από αρχέγονα μεσεγχεματικά κύτταρα του οστού και του μυελού του και η εξέλιξη και η διαφοροποίηση τους ελέγχεται από αυξητικούς παράγοντες, κυτοκίνες, ορμόνες και τοπικά μηχανικά σήματα (5). Οι οστεοβλάστες έχουν υποδοχείς της παραθορμόνης και των οιστρογόνων. Και οι δύο αυτές ορμόνες διεγείρουν τη δραστηριότητά τους, την οποία επίσης διεγείρουν ο ινσουλινοειδής αυξητικός παράγοντας-1 και ο μετασχηματικός παράγοντας β (1). Έχουν επίσης υποδοχείς για την 1,25 διυδροξύ-βιταμίνη D₃ και για διάφορες κυτοκίνες (4).

Οι **οστεοκλάστες** είναι τα κύτταρα που ευθύνονται για την οστική απορρόφηση τόσο του οστού όσο και του αποτιτανωμένου κολλαγόνου. Είναι γιγαντοκύτταρα (μέχρι 200000 μm^3), με πολλούς πυρήνες (μέχρι 100) (4), άφθονα μιτοχόνδρια, πολλά λυσοσώματα και ελεύθερα ριβοσώματα (5). Έχουν μια κροσσωτή πλευρά και το κυτταρόπλασμα της περιοχής των κροσσών είναι πλούσιο σε ακτίνη, γεγονός που δείχνει την ικανότητά του να προσκολλάται στο οστό, δημιουργώντας έτσι ένα στεγανό περίβλημα μέσα στο οποίο γίνεται η οστική απορρόφηση (4). Είναι πλήρως διαφοροποιημένα κύτταρα που δεν έχουν πλέον την ικανότητα να διαιρεθούν. Προέρχονται από πρόδρομα αιμοποιητικά κύτταρα της σειράς των μονοπύρηνων φαγοκυττάρων και έχουν πολλές ομοιότητες μορφολογικές και λειτουργικές με τα μακροφάγα.(6). Τα πρόδρομα κύτταρα ωριμάζουν σταδιακά, παράγουν ειδικά οστεολυτικά ένζυμα και τελικά συγχωνευόμενα σχηματίζουν το ώριμο, πολυπύρηνο κύτταρο. Η διαδικασία ωρίμανσης των οστεοκλαστών απαιτεί τη παρουσία αιμοποιητικών αυξητικών παραγόντων όπως είναι ο παράγοντας διέγερσης των αποικιών των μακροφάγων (macrophage-colony stimulating factor M-CSF), ενώ προάγεται από κυτταροκίνες όπως η ιντερλευκίνη-6 καθώς και από το σύστημα των ασβεστιοτρόπων ορμονών δηλ. της παραθορμόνης και της 1,25-διυδροξύ-βιταμίνης D₃ (3). Οι οστεοκλάστες έχουν στη κυτταρική τους μεμβράνη

υποδοχείς για τη καλσιτονίνη και περιέχουν πυρηνικούς υποδοχείς για τα οιστρογόνα (4). Τη δραστηριότητά τους διεγείρουν επίσης η ιντερλευκίνη-1, η προσταγλανδίνη E₂ και ο παράγοντας νέκρωσης των όγκων (1). Δεν έχουν όμως υποδοχείς για τη παραθορμόνη και την 1,25-διυδροξυ-βιταμίνη D₃ (7).

Τα **οστεοκύτταρα** είναι οστεοβλάστες που έχουν εγκλεισθεί σε κυψελίδες της θεμέλιας ουσίας του οστού (1) και είναι τα πιο άφθονα κύτταρα στο οστό (5). Το πρωτόπλασμα των οστεοκυττάρων επικοινωνεί μεταξύ τους και με τους οστεοβλάστες της επιφάνειας του οστού με λεπτά ψευδοπόδια μέσα από λεπτούς σωληνίσκους (4). Μέσω αυτής της επικοινωνίας τα οστεοκύτταρα αντιλαμβάνονται τις αλλαγές στο εξωκυττάριο υγρό, συμμετέχουν στην ομοιοστασία του ασβεστίου, εντοπίζουν αλλαγές στα επίπεδα ορμονών όπως τα οιστρογόνα και τα γλυκοκορτικοειδή που επηρεάζουν την επιβίωσή τους (5). Επιπλέον έχει αποδειχτεί ότι τα οστεοκύτταρα όπως και οι οστεοβλάστες μπορούν να συνθέτουν θεμέλια οστική ουσία (4).

Υπάρχει ένας ακόμα τύπος κυττάρων στον οστίτη ιστό που είναι τα επενδυματικά κύτταρα (lining cells). Τα κύτταρα αυτά είναι αποπλατυσμένα και καλύπτουν την επιφάνεια του οστού, τις επιφάνειες των σωλήνων του Volkmann και τους σωληνίσκους τους οποίους διαπερνούν οι αποφυάδες των οστεοκυττάρων (4, 5). Τα κύτταρα αυτά προέρχονται από οστεοβλάστες που έχουν ολοκληρώσει το έργο της οστικής σύνθεσης (5).

1.3.2 ΜΗ ΚΥΤΤΑΡΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ

Τα μη κυτταρικά συστατικά του οστίτη ιστού είναι η οργανική και η ανόργανη θεμέλια ουσία. Κατά βάρος η οργανική ουσία αποτελεί το 30-35% της οστικής μάζας, η ανόργανη ουσία το 60-65% και το υπόλοιπο της οστικής μάζας αποτελείται από τα κυτταρικά συστατικά. Το 90% της οργανικής θεμέλιας ουσίας αποτελείται από κολλαγόνο τύπου I. Άλλες πρωτεΐνες του οστού είναι οι σε μικρότερες ποσότητες απαντώμενες κολλαγόνες και οι μη κολλαγόνες πρωτεΐνες με αφθονότερες την οστεονεκτίνη, την οστεοκαλσίνη, την οστεοποντίνη, την ινονεκτίνη, την θρομβοσπονδίνη, την οστική σιελοπρωτεΐνη, τις πρωτεογλυκάνες και τις πρωτεΐνες του ορού (1). Οι κολλαγόνες ίνες εκτείνονται προς όλες τις κατευθύνσεις μέσα στο οστό, αλλά κυρίως κατά μήκος των δυναμικών γραμμών τάσης.

Η ανόργανη θεμέλια ουσία του οστού αποτελείται από κρυσταλλικά άλατα που καθιζάνουν στο οργανικό υπόστρωμα και αποτελούνται κυρίως από ασβέστιο και φωσφορικά. Το κυριότερο κρυσταλλικό άλας είναι ο υδροξυαπατίτης $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ (8). Οι κρύσταλλοι αυτοί προσκολλούνται πάνω στις κολλαγόνες ίνες και στις μεταξύ τους γλυκοπρωτεΐνες και πρωτεογλυκάνες (1). Στα οστικά άλατα περιλαμβάνονται επίσης άλατα μαγνησίου, νατρίου, καλίου και ανθρακικά τα οποία δε σχηματίζουν σαφείς κρυστάλλους και προσροφώνται στις επιφάνειες των κρυστάλλων του υδροξυαπατίτη (8).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΑΝΑΚΑΤΑΣΚΕΥΗ ΟΣΤΩΝ

2.1 ΟΡΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΣΚΟΠΟΙ

Οστική ανακατασκευή είναι η διαδικασία ανανέωσης των μικρομονάδων των οστών, με διαδοχική ενεργοποίηση και λειτουργία των οστεοκλαστών και των οστεοβλαστών (4). Μέσω αυτής της λειτουργίας αντικαθίσταται το παλαιό οστό από νέο, επιδιορθώνονται μικροκατάγματα και μικροφθορές των μονάδων του οστού, ρυθμίζεται η ομοιοστασία του ιονισμένου ασβεστίου του εξωκυττάριου χώρου και προσαρμόζεται ο σκελετός στις μηχανικές πιέσεις που του ασκούνται και σε αλλαγές στο τρόπο ζωής και διατροφής που τον επηρεάζουν (8, 9). Έτσι, με τη διαδικασία αυτή ο σκελετός ο σκελετός του ενηλίκου ανανεώνεται πλήρως κάθε 10 χρόνια (5), ενώ ανά πάσα στιγμή ανακατασκευάζεται το 4% της ολικής οστικής επιφάνειας (9).

2.2 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΗΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΑΝΑΚΑΤΑΣΚΕΥΗΣ

Η οστική ανακατασκευή διενεργείται σε 5 φάσεις:

1. *Φάση ηρεμίας:* Στη φάση αυτή το οστό είναι μεταβολικά ανενεργό.
2. *Φάση ενεργοποίησης:* Στη φάση αυτή ενεργοποιούνται οι προ-οστεοκλάστες και συντηκόμενοι σε πολυπύρρηνα γιγαντοκύτταρα σχηματίζουν τους οστεοκλάστες, οι οποίοι τελικά συγκεντρώνονται στην επιφάνεια του οστού που πρόκειται να απορροφηθεί. Η ενεργοποίηση των προ-οστεοκλαστών γίνεται μέσω διαφόρων κυτοκινών που απελευθερώνονται από τους οστεοβλάστες (ιντερλευκίνη-11, -6, -1). Η φάση αυτή διαρκεί 5-7 ημέρες και στους δύο τύπους οστίτη ιστού.
3. *Φάση οστικής απορρόφησης:* Στη φάση αυτή οι οστεοκλάστες καθηλώνονται σταθερά επάνω στην οστική επιφάνεια δημιουργώντας ένα στεγανό περίβλημα με τη βοήθεια ιντεγκρινών (4) (διαμεμβρανικοί υποδοχείς των οστεοκλαστών) (3). Στο χώρο αυτό δρουν τα οστεολυτικά ένζυμα και τα οξέα που εκκρίνονται από τους κροσσούς του οστεοκλάστη. Οι υδρολάσες και οι κυστεϊνοπρωτεάσες πέπτουν το πρωτεϊνικό τμήμα της θεμέλιας ουσίας, οι ελεύθερες ρίζες, κυρίως του οξυγόνου, βοηθούν στη πέψη του κολλαγόνου και οι κρύσταλλοι του υδροξυαπατίτη διαλύονται

με τη δράση εκκρινόμενων οξέων. Τα ιόντα ασβεστίου που απελευθερώνονται μεταφέρονται μέσα στον οστεοκλάστη. Η φάση αυτή διαρκεί 3-4 εβδομάδες στο σπογγώδες οστό και 6-10 εβδομάδες στο φλοιώδες οστό.

4. *Φάση κυτταρικής αναστροφής*: Στη φάση αυτή οι οστεοκλάστες που έχουν κορεσθεί από ιόντα ασβεστίου αποκολλώνται, απομακρύνονται από την οστική επιφάνεια και μετακινούνται σε άλλο σημείο του οστού όπου αρχίζουν εκ νέου το έργο της οστικής απορρόφησης αφού πρώτα αποδώσουν τα ιόντα ασβεστίου στο περιβάλλον. Στη θέση τους εμφανίζονται οι οστεοβλάστες. Οι οστεοβλάστες ενεργοποιούνται από αυξητικούς παράγοντες (αυξητικός παράγοντας β και ινσουλινοειδής παράγοντας Ι) οι οποίοι απελευθερώνονται κατά τη διάλυση της θεμέλιας ουσίας στην οποία ήταν εγκλωβισμένοι. Η φάση αυτή διαρκεί 7 ημέρες στο φλοιώδες και 5 ημέρες στο σπογγώδες οστό.
5. *Φάση οστικής παραγωγής*: Στη φάση αυτή οι οστεοβλάστες παράγουν και εναποθέτουν κολλαγόνο και μη κολλαγόνες πρωτεΐνες (οστεοποντίνη, θρομβοποντίνη, φιμπροεκτίνη, πρωτεογλυκάνες, γ-καρβοξυλιωμένες πρωτεΐνες, οστεοκαλσίνη) (4). Το κολλαγόνο πολυμερίζεται γρήγορα και σχηματίζει ίνες με αποτέλεσμα τη διαμόρφωση του οστεοειδούς. Λίγες μέρες μετά το σχηματισμό του οστεοειδούς αρχίζει η κατακρήμνιση αλάτων ασβεστίου και ο σχηματισμός κρυστάλλων υδροξυαπατίτη. Οι κρύσταλλοι αυτοί καθιζάνουν σε κανόνισες σειρές στα κενά των ινών του κολλαγόνου και έτσι ολοκληρώνεται η φάση αυτή (3, 8). Διαρκεί 2-3 μήνες στο φλοιώδες οστό και 145 ημέρες στο σπογγώδες οστό. Είναι η μεγαλύτερη από όλες τις προηγούμενες φάσεις (4).

2.3 ΡΥΘΜΙΣΗ ΤΗΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΑΝΑΚΑΤΑΣΚΕΥΗΣ

Η οστική ανακατασκευή λειτουργεί με απόλυτη συνεργασία και ισορροπία των δύο βασικών κυτταρικών σειρών, των οστεοκλαστών και των οστεοβλαστών. Η συνεργασία αυτή ονομάζεται φαινόμενο σύζευξης (4, 5). Αυτή η σύζευξη είναι απαραίτητη για τη διατήρηση του απόλυτου ισοζυγίου των οστών (3). Όταν η απορρόφηση και η σύνθεση του οστού βρίσκονται σε ισορροπία, διατηρείται η οστική μάζα αφού η ποσότητα του νεοσχηματιζόμενου οστού είναι ίση με τη ποσότητα του απορροφούμενου (9).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΟΣΤΙΚΗ ΜΑΖΑ-ΜΕΓΙΣΤΗ ΟΣΤΙΚΗ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑ

3.1 ΑΥΞΗΣΗ ΤΗΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΜΑΖΑΣ

Χρονολογικά, η οστική μάζα παρουσιάζει μια ταχεία γραμμική αύξηση κατά τη διάρκεια της νηπιακής και εφηβικής ηλικίας και μέχρι το 15^ο με 20^ο έτος οπότε και ολοκληρώνεται η τελείωση των οστών (10). Στη περίοδο αυτή τα οστά επιμηκύνονται, φαρδαίνουν και υφίστανται εξωτερικές και εσωτερικές αλλαγές στη δομή τους. Η αύξηση αυτή πραγματοποιείται τόσο στις επιφύσεις όσο και περιφερικά (9). Στη φάση αυτή υπάρχει υπεροχή της δράσης των οστεοβλαστών έναντι των οστεοκλαστών (4) και η οστική παραγωγή προηγείται της οστικής απορρόφησης. Η ανάπτυξη ολοκληρώνεται στα κορίτσια κατά το 16^ο με 18^ο έτος και στα αγόρια κατά το 18^ο με 20^ο έτος της ηλικίας τους (9).

Η οστική μάζα όμως συνεχίζει να αυξάνεται με εναπόθεση νέων στοιβάδων οστίτη ιστού (πύκνωση οστού). Στη φάση αυτή η οστεοβλαστική δραστηριότητα υπερέχει της οστεοκλαστικής (4). Η αύξηση της οστικής μάζας σταματάει όταν έχει επιτευχθεί η μέγιστη οστική πυκνότητα (4, 10).

3.2 ΜΕΓΙΣΤΗ ΟΣΤΙΚΗ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑ

Μέγιστη ή κορυφαία οστική πυκνότητα (peak bone density) είναι η μέγιστη κατά τη διάρκεια της ζωής επιτυγχάνομενη οστική πυκνότητα. Η χρονική διάρκεια που επιτυγχάνεται η μέγιστη οστική πυκνότητα εξαρτάται κυρίως από γενετικούς, φυλετικούς και ορμονικούς παράγοντες. Στην Ελλάδα η μέγιστη οστική πυκνότητα βρέθηκε ότι επιτυγχάνεται στους άντρες στο 30^ο και στις γυναίκες στο 25^ο έτος της ηλικίας τους (4). Οι παράγοντες που επηρεάζουν τη μέγιστη οστική πυκνότητα είναι :

1. *Κληρονομική προδιάθεση*: Το 70-80% της μέγιστης οστικής πυκνότητας καθορίζεται από γενετικούς παράγοντες (10).
2. *Φύλο και φυλή*: Οι άντρες επιτυγχάνουν μεγαλύτερη οστική πυκνότητα από τις γυναίκες (1). Οι μαύροι επιτυγχάνουν μεγαλύτερη οστική πυκνότητα από τους λευκούς και οι λευκοί μεγαλύτερη από τους Ασιάτες (11).

3. *Ορμονικοί παράγοντες*: Σπουδαιότερος ορμονικός παράγοντας για την αύξηση της οστικής πυκνότητας είναι οι γεννητικές ορμόνες. Η ύπαρξη υπογοναδισμού ή καθυστέρηση της γοναδικής λειτουργίας οδηγεί σε πολύ χαμηλή μέγιστη οστική πυκνότητα σε αγόρια και κορίτσια. Άλλοι ορμονικοί παράγοντες που επιδρούν είναι η αυξητική ορμόνη, οι θυρεοειδικές ορμόνες και η ινσουλίνη (4).
4. *Οι κήσεις και η γαλουχία*: Σε γυναίκες <18 ετών η κύηση και η γαλουχία είναι δυσμενείς παράγοντες για τη βελτίωση της μέγιστης οστικής πυκνότητας. Αντιθέτως, για γυναίκες >25 ετών η κύηση και η γαλουχία υποβοηθούν στη διατήρηση της οστικής πυκνότητας (4).
5. *Διατροφή*: Η πρόσληψη ασβεστίου κατά τη παιδική και εφηβική λειτουργία κατέχει κεφαλαιώδη ρόλο στην ανάπτυξη της οστικής πυκνότητας (9). Πολύ σημαντική είναι η πρόσληψη της βιταμίνης D καθώς παίζει σημαντικό ρόλο στην απορρόφηση ασβεστίου και συμβάλλει σε όλη τη διαδικασία ανάπτυξης του σκελετού (10). Η πρόσληψη φωσφόρου και μαγνησίου είναι απαραίτητη καθώς τα στοιχεία αυτά αποτελούν συστατικά των οστικών αλάτων μαζί με το ασβέστιο (9). Το φθόριο, ο σίδηρος, ο ψευδάργυρος, ο χαλκός, το μαγγάνιο, το βόριο και η βιταμίνη K είναι σημαντικά για τη λειτουργία του οστικού μεταβολισμού (12, 13).
6. *Άσκηση*: Η σωματική άσκηση έχει σημαντικές επιδράσεις στην ανάπτυξη των οστών και στη διαμόρφωση της αρχιτεκτονικής τους κατά τη παιδική ηλικία (10). Τα παιδιά και οι έφηβοι που ασκούνται επιτυγχάνουν υψηλότερη μέγιστη οστική πυκνότητα. Η αύξηση της οστικής πυκνότητας είναι εντονότερη όταν γίνεται συνδυασμός άρσης βαρών και αεροβικής γυμναστικής (4, 12).
7. *Νοσήματα κατά τη περίοδο της ανάπτυξης*: Διάφορα νοσήματα κατά τη περίοδο της ανάπτυξης μπορούν να ελαττώσουν την επίτευξη μέγιστης οστικής πυκνότητας. Τέτοια είναι το βρογχικό άσθμα, η ψυχογενής ανορεξία, οι μακροχρόνιοι κλινοστατισμοί, η λήψη κορτιζόνης (4).

3.3 ΑΠΩΛΕΙΑ ΤΗΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΜΑΖΑΣ

Μετά την επίτευξη της μέγιστης τιμής της, η οστική μάζα παραμένει σταθερή για χρόνια και στη συνέχεια αρχίζει να ελαττώνεται (1). Στους άνδρες παρατηρείται μείωση της οστικής πυκνότητας κατά 4% ανά δεκαετία από τη τρίτη δεκαετία της ζωής της ζωής τους. Στις γυναίκες δεν παρατηρείται μείωση της οστικής πυκνότητας μέχρι την εμμηνόπαυση. Με την εγκατάσταση της εμμηνόπαυσης χάνουν οστό με ένα σχετικά γρήγορο ρυθμό που κυμαίνεται από 0,5-1,5% / χρόνο (4). Στη φάση αυτή η απώλεια σπογγώδους οστού είναι πιο γρήγορη από την απώλεια φλοιώδους (αντίστοιχες ταχύτητες απώλειας 2-4% και 1-2% / χρόνο) (1). Η γρήγορη αυτή απώλεια συνεχίζεται για 5-10 χρόνια μετά την εμμηνόπαυση και σταδιακά αυτοπεριορίζεται (9). Μετά το 65^ο έτος της ηλικίας ο ρυθμός οστικής απώλειας δε διαφέρει ιδιαίτερα ανάμεσα στα δύο φύλα (4).

Από τα παραπάνω φαίνεται ότι στην ενήλικη ζωή η οστική μάζα σε κάθε χρονική στιγμή εξαρτάται από τη μέγιστη οστική μάζα που έχει επιτύχει ο οργανισμός και το ρυθμό της απώλειας που ακολουθεί (14).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗ

4.1 ΟΡΙΣΜΟΣ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗΣ

Η οστεοπόρωση είναι μια συστηματική πολυπαραγοντική ασθένεια που χαρακτηρίζεται από μειωμένη οστική πυκνότητα και αλλοίωση της μικροαρχιτεκτονικής δομής των οστών και οδηγεί σε αυξημένη ευθραυστότητα των οστών και σε αυξημένη επιρρέπεια για κατάγματα (15). Είναι η πιο συχνή μεταβολική πάθηση των οστών και χαρακτηρίζεται από παράλληλη ελάττωση των αλάτων και της οργανικής θεμέλιας ουσίας του οστίτη ιστού. Το αποτέλεσμα είναι η ελάττωση της ποσότητας του οστίτη ιστού χωρίς να επηρεάζεται η κανονική του σύσταση (1). Συνδέεται εξ' ορισμού με τη καταγματική νόσο (4).

Η αντοχή των οστών εξαρτάται από 2 παράγοντες: την οστική πυκνότητα (Bone Mineral Density, BMD) και την οστική ποιότητα (Bone Mineral Content, BMC). Η οστική ποιότητα περιλαμβάνει τα δομικά στοιχεία που δομούν την αρχιτεκτονική του οστού, τη γεωμετρία του οστού, τη μικροδομική συνοχή του οστού και την ισχύ του (11, 16). Δεν υπάρχουν μέθοδοι για τη μέτρηση της οστικής ποιότητας. Έτσι, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (World Health Organisation, WHO), το Ευρωπαϊκό Ίδρυμα οστεοπόρωσης και Νοσημάτων των Οστών (European Foundation for Osteoporosis and Bone Disease), το Εθνικό Ίδρυμα Οστεοπόρωσης των Ηνωμένων Πολιτειών (The National Osteoporosis Foundation of the United States) αποφάσισαν να χρησιμοποιούν για τον ορισμό της οστεοπόρωσης την οστική πυκνότητα. Η οστική πυκνότητα κάθε ατόμου συγκρίνεται με το μέσο όρο της κορυφαίας οστικής πυκνότητας του πληθυσμού (δηλ. της οστικής πυκνότητας πληθυσμού νέων ενηλίκων περίπου 30 ετών, οπότε και θεωρείται ότι αποκτάται η μέγιστη οστική πυκνότητα). Η τιμή της διαφοράς ανάμεσα στις δυο αυτές τιμές ονομάζεται T-score. Με βάση το T-score κάθε ατόμου οι παραπάνω Οργανισμοί ορίζουν:

1. Φυσιολογική οστική πυκνότητα: $+2,5 \text{ SD} < \text{T-score} < -1 \text{ SD}$
2. Οστεοπενία: $-1 \text{ SD} < \text{T-score} < -2,5 \text{ SD}$
3. Οστεοπόρωση: $\text{T-score} < -2,5 \text{ SD}$
4. Σοβαρή οστεοπόρωση: $\text{T-score} < -2,5 \text{ SD}$ και ιστορικό ενός κατάγματος

όπου SD είναι οι σταθερές αποκλίσεις από τη μέση τιμή (17).

Οι μετρήσεις της οστικής πυκνότητας στον ορισμό αυτό γίνονται με DEXA σε σκελετικά σημεία όπως είναι η οσφυϊκή μοίρα και το μηριαίο οστό (14).

Ο ορισμός αυτός επιτρέπει τη διάγνωση της νόσου πριν εμφανιστούν κλινικές συνέπειες (12).

4.2 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ ΟΣΤΕΟΠΩΡΩΣΗΣ

Υπολογίζεται ότι 200 εκατομμύρια άτομα πάσχουν από οστεοπόρωση σε όλο τον κόσμο. Στην Ευρώπη 30 εκατομμύρια γυναίκες και 3 εκατομμύρια άντρες πάσχουν με αποτέλεσμα τουλάχιστον 700000 κατάγματα του άνω άκρου του μηριαίου ετησίως. Στις Η.Π.Α 10 εκατομμύρια άτομα πάσχουν από οστεοπόρωση και 34 εκατομμύρια έχουν χαμηλή οστική πυκνότητα (18). Στο Καναδά υπολογίζεται ότι 1 στις 4 γυναίκες και 1 στους 8 άντρες πάσχουν από οστεοπόρωση. Στη Μεγάλη Βρετανία υπολογίζεται ότι το 1/3 των γυναικών και το 1/6 των αντρών θα υποστούν οστεοπορωτικό κάταγμα κατά τη διάρκεια της ζωής τους (11). Περίπου 3 εκατομμύρια άτομα πάσχουν από οστεοπόρωση (19). Στην Ελλάδα υπολογίζεται ότι 400000 Ελληνίδες πάσχουν από κλινικά εμφανή οστεοπόρωση τύπου I. Επιπλέον αντιστοιχούν 314,07 κατάγματα μηριαίου οστού ανά 100000 κατοίκους και για τα δυο φύλα (4).

Οι δημογραφικές αλλαγές που αναμένονται τις επόμενες δεκαετίες –δηλ. η αύξηση του μέσου όρου ζωής- αναμένεται να οδηγήσει σε αύξηση της επίπτωσης της οστεοπόρωσης και του κινδύνου για κατάγματα στον πληθυσμό (20). Εφόσον η οστεοπόρωση είναι νόσος που σχετίζεται με μεγαλύτερες ηλικίες, όταν αυξάνεται ο πληθυσμός αυτός αυξάνεται και η επίπτωση της νόσου (10).

4.3 ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΙΚΟΝΑ ΟΣΤΕΟΠΩΡΩΣΗΣ

Η οστεοπόρωση είναι ασυμπτωματική, μέχρι να προκαλέσει κατάγματα και παραμορφώσεις. Για το λόγο αυτό αποκαλείται σιωπηλή νόσος (3). Το οστεοπορωτικό κάταγμα είναι ένα γεγονός που μπορεί να προκαλείται από τραύμα (π.χ πτώση) ή και αυτόματα, δηλ χωρίς τη παρουσία τραύματος. Οι παράγοντες που σχετίζονται με την εμφάνιση κατάγματος είναι παράγοντες οστικοί (οστική μάζα, μέγεθος, πυκνότητα, αρχιτεκτονική, μικροαρχιτεκτονική, εσωτερικές ιδιότητες των οστών), ή ανεξάρτητοι των οστών (πτώσεις, μαλακοί

ιστοί κ. α) (14). Τα οστεοπορωτικά κατάγματα παρατηρούνται στη σπονδυλική στήλη, στα ισχία, και στους αγκώνες (3). Οι συνέπειες των καταγμάτων είναι ιατρικές, κοινωνικές και οικονομικές. Αυξάνουν σημαντικά τη νοσηρότητα και θνησιμότητα των ασθενών, την κινητική τους ικανότητα, την ικανότητα να αυτοεξυπηρετούνται. Αυτό έχει ψυχολογικές συνέπειες για κάθε ασθενή και κοινωνικές, αφού η κοινωνική τους ζωή επηρεάζεται σημαντικά (17). Επίσης το κόστος για τη θεραπεία των καταγμάτων και την αντιμετώπιση των συνεπειών τους είναι τεράστιο. Το κόστος αυτό στις ΗΠΑ ήταν 17 δισεκατομμύρια δολάρια για το 2001 (18), 1,7 δισεκατομμύρια λίρες στη Μεγάλη Βρετανία (19), 1,3 δισεκατομμύρια δολάρια Καναδά στον Καναδά (17) και το κόστος αυτό αυξάνεται συνεχώς όσο αυξάνεται και η εμφάνιση της νόσου. Η πιο σοβαρή μορφή κατάγματος είναι το κάταγμα του ισχίου. Συμβαίνει συνήθως σε ηλικιωμένα άτομα. Το ποσοστό θανάτου μετά από κάταγμα ισχίου είναι 20% κυρίως λόγω της ακινητοποίησης των ασθενών και των διαφόρων επιπλοκών (πνευμονική εμβολή, πνευμονία). Από τους ηλικιωμένους ασθενείς που θα υποστούν κάταγμα ισχίου, οι μισοί περίπου δε θα βαδίσουν ξανά ελεύθερα (3).

Η οστεοπόρωση μπορεί να είναι ιδιοπαθής ή δευτεροπαθής. Η ιδιοπαθής οστεοπόρωση εμφανίζεται με δυο κλινικούς τύπους, τον τύπο I και τύπο II. Οι δύο αυτοί κλινικοί τύποι διαφέρουν τόσο στη κλινική τους εικόνα όσο και στη παθογένεια τους (9).

4.3.1 ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗ ΤΥΠΟΥ I

Εμφανίζεται σε σχετικά νέες γυναίκες στα πρώτα 15 χρόνια μετά την εμμηνόπαυση. Προσβάλλει περισσότερο το σπογγώδες οστό και κυρίως τα σπονδυλικά σώματα και το περιφερειακό άκρο της κερκίδας (1). Αποτέλεσμα είναι τα σπονδυλικά κατάγματα και τα κατάγματα της κερκίδας (κατάγματα Colles). Από τα σπονδυλικά κατάγματα προκαλείται έντονη ραχιαλγία και προοδευτική απώλεια αναστήματος που συνοδεύεται από κύφωση. Η κύφωση εκτός από τη δυσμορφία μπορεί να προκαλέσει καρδιακή και αναπνευστική ανεπάρκεια καθώς και επώδυνη τριβή των νόθων πλευρών στα λαγόνια οστά. Τα

κατάγματα του κάτω άκρου της κερκίδας προκαλούν αναπηρικές καταστάσεις και δυσμορφία (4).

4.3.2 ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗ ΤΥΠΟΥ II

Εμφανίζεται σε ηλικιωμένα άτομα (μετά το 70^ο έτος της ηλικίας) και στα δυο φύλα, με υπεροχή όμως των γυναικών 3 προς 1 σε σχέση με τους άντρες. Προσβάλλει περισσότερο το φλοιώδες οστό αν και η απώλεια και των δυο τύπων οστίτη ιστού είναι πιο ισορροπημένη από την τύπου I οστεοπόρωση. Τα πιο συχνά παρατηρούμενα κατάγματα αφορούν το ισχίο, τη πύελο, τα ανώτερα τμήματα του βραχιόνιου οστού και τα σπονδυλικά σώματα (1).

4.3.3 ΔΕΥΤΕΡΟΠΑΘΗΣ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗ

Η δευτεροπαθής οστεοπόρωση εμφανίζεται όταν κάποια συγκεκριμένα φάρμακα ή συγκεκριμένες παθήσεις οδηγούν σε απώλεια οστίτη ιστού (9). Η κλινική εικόνα ποικίλει ανάλογα με το παράγοντα που προκαλεί την οστική απώλεια (4). Στο πίνακα 4.1 αναφέρονται οι σημαντικότεροι από τους παράγοντες που προκαλούν δευτεροπαθή οστεοπόρωση.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.1: Αίτια δευτεροπαθούς οστεοπόρωσης (1, 3)

Ενδοκρινοπάθειες	Γυναικείος υπογοναδισμός	Παθήσεις του συνδετικού ιστού	Ατελής οστεογένεση
	Ανδρικός υπογοναδισμός		Ομοκυστινουρία
	Υπερθυρεοειδισμός		Σύνδρομο Ehlers-Danlos
	Υπερπαραθυρεοειδισμός		Σύνδρομο Marfan
	Υπερκορτιζολισμός	Φάρμακα	Οινόπνευμα
	Έλλειψη αυξητικής ορμόνης		Ηπαρίνη
Παθήσεις του πεπτικού συστήματος	Πρωτοπαθής χολική κίρρωση και άλλες κίρρώσεις		Γλυκοκορτικοειδή
	Χρόνιος αποφρακτικός ίκτερος		Θυροξίνη
	Σύνδρομο δυσαπορρόφησης		Αντιεπιληπτικά
	Γαστρεκτομή		Κυκλοσπορίνη
Διαταραχές του μυελού των οστών	Πολλαπλό μυέλωμα		Χημειοθεραπευτικά
	Λέμφωμα		Τετρακυκλίνη
	Λευχαιμία	Άλλα αίτια	Ημιπληγία
	Αιμολυτικές αναιμίες		Ρευματοειδής αρθρίτιδα
	Συστηματική μαστοκυττάρωση		Διαβήτης
	Διάσπαρτο καρκίνωμα		Κυστική ίνωση

4.4 ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΟΣΤΕΟΠΩΡΩΣΗΣ

Η οστεοπόρωση σχετίζεται με μειωμένη οστική μάζα και μειωμένη οστική πυκνότητα. Μπορεί να είναι συνέπεια ελλιπούς οστικής αύξησης κατά τη εφηβεία, επίτευξης χαμηλής μέγιστης οστικής πυκνότητας, γρήγορης απώλειας οστού ή και συνδυασμός των παραπάνω (1). Η γρήγορη απώλεια οστικής μάζας είναι αποτέλεσμα της διατάραξης της σύζευξης της λειτουργίας των οστεοκλαστών και των οστεοβλαστών που οδηγεί σε αρνητικό ισοζύγιο οστού. Το αρνητικό ισοζύγιο μπορεί να οφείλεται είτε σε αυξημένη οστεοκλαστική δραστηριότητα, είτε σε αυξημένη οστεοβλαστική δραστηριότητα, είτε και στην ύπαρξη και των δυο φαινομένων (4).

Στην οστεοπόρωση τύπου I, η έλλειψη οιστρογόνων αυξάνει τη τοπική παραγωγή κυτοκινών όπως της ιντερλευκίνης 6 και 1 (IL-6, IL-1) και του παράγοντα νέκρωσης όγκων (TNF), οι οποίες διεγείρουν την οστεοκλαστική δραστηριότητα. Η έλλειψη οιστρογόνων μειώνει τη τοπική παραγωγή αυξητικών παραγόντων όπως του ινσουλινοειδή αυξητικού παράγοντα (IGF-I), του μετασχηματιστικού αυξητικού παράγοντα β (TGF-β), της προσταγλανδίνης E₂. Οι παράγοντες αυτοί διεγείρουν την οστεοβλαστική δραστηριότητα και επομένως την οστική παραγωγή. Επίσης, η έλλειψη οιστρογόνων αυξάνει την ευαισθησία του σκελετού στις απορροφητικές επιδράσεις της παραθορμόνης με αποτέλεσμα μικρή αύξηση του ασβεστίου στο αίμα. Αυτό προκαλεί μείωση της έκκρισης παραθορμόνης, μείωση της νεφρικής σύνθεσης 1,25 διυδροξύ βιταμίνης D₃ και τον επακόλουθο περιορισμό της εντερικής απορρόφησης ασβεστίου (1, 4). Η αυξημένη οστεοκλαστική δραστηριότητα που ακολουθεί την έλλειψη οιστρογόνων οφείλεται συμπληρωματικά σε δευτεροπαθή μείωση της ενδογενούς έκκρισης της καλσιτονίνης (4). Επιπλέον, ο εντοπισμός υποδοχέων των οιστρογόνων στους οστεοβλάστες και στους οστεοκλάστες υποδηλώνει την άμεση δράση των οιστρογόνων σε αυτά και συνεπώς την αντίδρασή τους στην έλλειψη αυτών (3, 4).

Στην παθογένεια της οστεοπόρωσης τύπου II σημαντικό ρόλο παίζει η πρωτοπαθής ελάττωση με την ηλικία της ικανότητας των νεφρών να συνθέτουν βιταμίνη D και η ελάττωση της εντερικής ευαισθησίας σε αυτήν με αποτέλεσμα την ελάττωση της απορρόφησης ασβεστίου. Αυτό οδηγεί σε δευτεροπαθή υπερπαραθυροειδισμό (ελαφριάς μορφής) και σε αύξηση της οστικής

απορρόφησης. Επιπλέον τόσο η πρόσληψη μέσω τροφής όσο και η απορρόφηση ασβεστίου από το έντερο μειώνεται με την ηλικία (3). Σημαντικό ρόλο παίζει ακόμα και η ελάττωση του οστεοβλαστικού σχηματισμού οστού με την αύξηση της ηλικίας (1) αλλά και η δράση δυστροφικών κυτταρικών παραγόντων που οδηγούν στη εκφύλιση και νέκρωση των οστεοκυττάρων (4).

Ανεξάρτητα από το μηχανισμό, το αρνητικό ισοζύγιο οστού επιφέρει προοδευτική λέπτυνση των οστεοδοκίδων και τελικά τις απορροφά τόσο στο σπογγώδες όσο και στο φλοιώδες οστό (4). Έτσι τα οστά γίνονται ευάλωτα σε κατάγματα και εγκαθίσταται η οστεοπόρωση.

4.5 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΜΦΑΝΙΣΗ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗΣ

Οι σπουδαιότεροι από τους παράγοντες κινδύνου επιδρούν στην επίτευξη της κορυφαίας οστικής πυκνότητας και έχουν αναφερθεί στο προηγούμενο κεφάλαιο. Κατά την ενήλικη ζωή, οι παράγοντες κινδύνου συμβάλλουν βασικά στην απώλεια της οστικής μάζας. Σε περίπτωση που συνυπάρχουν δυο ή περισσότεροι παράγοντες κινδύνου ο ρυθμός οστικής απώλειας γίνεται ταχύτερος ή η οστική απώλεια αρχίζει σε νεότερη ηλικία. Οι κυριότεροι από τους παράγοντες αυτούς είναι:

1. *Ηλικία*: Ο κίνδυνος για ανάπτυξη οστεοπόρωσης αυξάνεται με την ηλικία. Έχει βρεθεί ότι ο κίνδυνος για οστεοπορωτικό κάταγμα 8πλασιάζεται στις γυναίκες από την ηλικία των 45 έως την ηλικία των 85 ενώ 5πλασιάζεται για τους άντρες (17).
2. *Πρόωρη εμμηνόπαυση*: Πρόωρη θεωρείται η εμμηνόπαυση που εμφανίζεται πριν το 40^ο έτος της ζωής. Πρόωρη εμμηνόπαυση προκαλείται και σε περιπτώσεις χειρουργικής αφαίρεσης των γονάδων. Στις γυναίκες αυτές οι επιδράσεις της έλλειψης οιστρογόνων ξεκινούν νωρίτερα και η συχνότητα οστεοπόρωσης εμφανίζεται αυξημένη. Για το λόγο αυτό οι γυναίκες αυτές υποβάλλονται σε προληπτική αγωγή (4).

3. *Σωματικός τύπος και βάρος σώματος*: Το σωματικό βάρος σχετίζεται θετικά με την οστική πυκνότητα. Τα άτομα με υψηλό σωματικό βάρος έχουν υψηλότερη οστική πυκνότητα. Επιπλέον, η απώλεια βάρους ακολουθείται και από οστική απώλεια. Το φαινόμενο αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι το βαρύτερο σώμα ασκεί μεγαλύτερη πίεση στο σκελετό ο οποίος αυξάνει την πυκνότητά του ώστε να στηρίζει το επιπλέον βάρος. Σκελετικά σημεία τα οποία υφίστανται μικρότερο βάρος, π.χ το χέρι, επηρεάζονται λιγότερο από το σωματικό βάρος (9, 12). Άλλη εξήγηση για το φαινόμενο αυτό είναι ότι τα βαρύτερα άτομα έχουν περισσότερο λιπώδη ιστό στον οποίο μεταβολίζονται μέρος των ενδογενών ανδρογόνων των επινεφριδίων προς οιστρογόνα. Για το λόγο αυτό οι παχύσαρκες μεταεμμηνοπαυσιακές γυναίκες έχουν υψηλότερα επίπεδα οιστρογόνων από τις αδύνατες και συνεπώς λιγότερες αρνητικές επιδράσεις στα οστά από την έλλειψή τους (4).
4. *Κατάχρηση καπνίσματος*: Το κάπνισμα οδηγεί σε πρόωρη εμμηνόπαυση, σημαντική απώλεια οστού και αυξάνει σημαντικά το κίνδυνο για κατάγματα σε μεταεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και άνδρες. Επιπλέον, οι γυναίκες που καπνίζουν επωφελούνται λιγότερο από τη θεραπεία με οιστρογόνα από τις μη καπνίστριες (20).
5. *Αυξημένη κατανάλωση οινοπνευματωδών ποτών*: Το αλκοόλ αποτελεί ένα σημαντικό παράγοντα πρόκλησης οστεοπόρωσης ιδιαίτερα σε άντρες (20). Το αλκοόλ έχει άμεση τοξική επίδραση στους οστεοβλάστες και επιδρά στο μεταβολισμό της βιταμίνης D επηρεάζοντας έτσι τον οστικό μεταβολισμό (4).
6. *Σωματική αδράνεια*: Η οστική απώλεια είναι μεγαλύτερη σε οστικά σημεία που ακινητοποιούνται για διάφορους λόγους όπως ακινητοποίηση για θεραπεία κατάγματος καθώς και σε άτομα με καθιστική ζωή (4, 17, 20).
7. *Γενετικοί παράγοντες*: Ένας μεγάλος αριθμός γονιδίων επηρεάζουν τόσο την επίτευξη της κορυφαίας οστικής πυκνότητας όσο και την οστική απώλεια στην ενήλικη ζωή (11). Τα γονίδια αυτά θα αναφερθούν στο επόμενο κεφάλαιο.

8. Διατροφικοί παράγοντες:

Η φτωχή σε ασβέστιο διαίτα είναι ένας σημαντικός παράγοντας κινδύνου για εμφάνιση οστεοπόρωσης. Η πρόσληψη ασβεστίου έχει σημαντικό ρόλο στην επίτευξη της μέγιστης οστικής πυκνότητας αλλά όχι τόσο σημαντικό στη διατήρηση της οστικής πυκνότητας στην μεταεμμηνοπαυσιακή ηλικία. Υπάρχουν όμως ενδείξεις ότι η υψηλή πρόσληψη ασβεστίου μετά την εγκατάσταση της οστεοπόρωσης είναι σημαντική για τη μείωση του ρυθμού της οστικής απώλειας.

Η έλλειψη βιταμίνης D σχετίζεται με ανάπτυξη δευτεροπαθή υπερπαραθυροειδισμού και αυξημένο οστικό μεταβολισμό.

Η υψηλή πρόσληψη φωσφόρου διαταράσσει το λόγο ασβεστίου / φωσφόρου στο αίμα, ιδιαίτερα αν η πρόσληψη ασβεστίου είναι χαμηλή. Η διαταραχή του λόγου αυτού διεγείρει την έκκριση παραθορμόνης και αν η κατάσταση αυτή είναι χρόνια μπορεί να οδηγήσει σε οστική απώλεια.

Η χαμηλή πρόσληψη βιταμίνης K ιδιαίτερα σε ηλικιωμένους αυξάνει το κίνδυνο για μηριαίο κάταγμα.

Η πρόσληψη βιταμίνης C θεωρείται πιθανός παράγοντας κινδύνου. Υπάρχουν έρευνες που δείχνουν ότι η πρόσληψη βιταμίνης C σχετίζεται με την οστική πυκνότητα ενώ κάποιες άλλες έρευνες δεν εντοπίζουν παρόμοια συσχέτιση.

Η μειωμένη πρόσληψη πρωτεϊνών οδηγεί σε καταβολισμό μυϊκής μάζας, μυϊκή αδυναμία και αυξημένο κίνδυνο για πτώσεις και κατάγματα. Επίσης χαμηλά επίπεδα αλβουμίνης στο αίμα επηρεάζουν αρνητικά τη μεταφορά του ασβεστίου. Υψηλή πρόσληψη πρωτεϊνών οδηγεί σε αυξημένη έκκριση του ασβεστίου στα ούρα. Γενικά, η πρόσληψη πρωτεΐνης θα πρέπει να είναι ισορροπημένη ώστε να αποφεύγονται οι αρνητικές επιδράσεις στην υγεία των οστών.

Η υψηλή πρόσληψη νατρίου αυξάνει την έκκριση του ασβεστίου στα ούρα και σε συνδυασμό με χαμηλή πρόσληψη ασβεστίου συμβάλλει σημαντικά στην ανάπτυξη οστεοπόρωσης.

Η υψηλή πρόσληψη καλίου σχετίζεται με αυξημένη οστική πυκνότητα, μειωμένη οστική απορρόφηση και αυξημένο ρυθμό οστικής σύνθεσης. Αυτό ερμηνεύεται από τη δράση του καλίου ως ρυθμιστής της ενδογενούς οξύτητας που επηρεάζει την ισορροπία του ασβεστίου και την υγεία των οστών.

Η υπερβολική πρόσληψη διαιτητικών ινών εμπλέκεται με την απορρόφηση του ασβεστίου στο έντερο περιορίζοντάς την.

Η πρόσληψη των φυτοοιστρογόνων φαίνεται να προστατεύει τα οστά από την απώλεια μάζας. Τα φυτοοιστρογόνα είναι φυτικά συστατικά με παρόμοια χημική δομή με τα ενδογενή οιστρογόνα και πιθανώς παρόμοια δράση με αυτά στον οστίτη ιστό.

Πολύ υψηλή πρόσληψη καφεΐνης προκαλεί βραχυπρόθεσμη αύξηση της έκκρισης ασβεστίου στα ούρα. Όμως μέτρια πρόσληψη καφεΐνης δε φαίνεται να επιδρά σημαντικά στην υγεία των οστών, εκτός και αν η πρόσληψη ασβεστίου είναι πολύ χαμηλή, όπως συμβαίνει σε ηλικιωμένα άτομα (4, 9, 12, 13, 20).

4.6 ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗΣ

Η οστεοπόρωση αποτελεί ένα σιωπηλό νόσημα, ιδίως στα αρχικά στάδια της οστικής απώλειας. Αυτό έχει σα συνέπεια τη καθυστερημένη διάγνωση του νοσήματος αφού στις περισσότερες περιπτώσεις η διάγνωση γίνεται σε περίοδο που η ανατροπή εμφάνισης νέων καταγμάτων γίνεται προβληματική. Όμως με προληπτικές εξετάσεις σε άτομα που συνδυάζουν κάποιους παράγοντες κινδύνου, σε άμεσα μεταεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και γενικά σε άτομα υψηλού κινδύνου για εμφάνιση οστεοπόρωσης, η διάγνωση μπορεί να γίνει έγκαιρα, στα αρχικά στάδια της νόσου, οπότε και η αντιμετώπιση της είναι ευκολότερη και πιο αποτελεσματική (4).

4.6.1 ΚΛΙΝΙΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ ΤΗΣ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗΣ

Η κλινική εξέταση είναι σημαντική για τη διάγνωση της οστεοπόρωσης. Περιλαμβάνει λήψη ιστορικού του ασθενούς και φυσική εξέταση. Από το

ιστορικό λαμβάνονται πληροφορίες σχετικά με την ηλικία, το φύλο, την κατάσταση εμμénου ρύσεως, την ύπαρξη πόνου ή άλλων σκελετικών ενοχλημάτων, το ιστορικό προηγούμενων νοσημάτων και φαρμακευτικής αγωγής, το ατομικό ιστορικό καταγμάτων και το οικογενειακό ιστορικό καταγμάτων και οστεοπόρωσης, καθώς και πληροφορίες σχετικά με τη διαίτα, το κάπνισμα, την κατανάλωση αλκοόλ, την άσκηση. Από το ιστορικό καθορίζονται οι παράγοντες κινδύνου για εμφάνιση οστεοπόρωσης για κάθε ασθενή.

Κατά τη φυσική εξέταση μετράται το ύψος του ασθενούς σε όρθια και καθιστική στάση. Κατά τις μετρήσεις αυτές διαπιστώνεται η απώλεια αναστήματος και ο αυξημένος λόγος του ύψους όρθιας στάσης και καθιστικής που αποτελούν ενδείξεις εγκατάστασης οστεοπόρωσης. Η κύφωση είναι χαρακτηριστικό εύρημα στην οστεοπόρωση και εκτιμάται με ειδικά όργανα (κυφόμετρα) κατά τη φυσική εξέταση. Σημαντικό κατά την εξέταση αυτή είναι η εκτίμηση της προέλευσης του πόνου αν αυτό αναφέρεται από τον ασθενή. Ο οστεοπορωτικός πόνος εμφανίζεται συνήθως στη σπονδυλική στήλη, είναι σκελετικός πόνος και προκλητός στην απ'ευθείας πίεση των ακανθωδών αποφύσεων των σπονδύλων. Συχνά συγχέεται με το πόνο που προκαλείται από άλλες παθήσεις του μυοσκελετικού συστήματος. Σημαντικό επίσης κατά τη φυσική εξέταση είναι η εκτίμηση της κινητικότητας του ασθενή. Η κινητικότητα σχετίζεται με τη μυϊκή ισχύ η οποία εκτιμάται με απλά δυναμόμετρα χεριού ή με πιο πολύπλοκα μηχανήματα (4).

4.6.2 ΑΚΤΙΝΟΛΟΓΙΚΗ ΕΞΕΤΑΣΗ

Η διάγνωση της οστεοπόρωσης τίθεται μερικές φορές ακτινολογικά, αλλά γενικά οι ακτινογραφίες αποτελούν φτωχό διαγνωστικό εργαλείο. Από ακτινογραφία θώρακα διαφεύγει της διάγνωσης το 30-50% των περιπτώσεων οστεοπόρωσης της σπονδυλικής στήλης. Επιπλέον, για να δειχτεί μεταβολή της ακτινοσκοπρότητας στην ακτινογραφία πρέπει η οστική απώλεια να είναι μεγαλύτερη του 30% (3). Με ακτινογραφία μπορεί να επιβεβαιωθεί η ύπαρξη οστεοπορωτικού κατάγματος (1). Επίσης χρήσιμοι είναι οι ακτινολογικοί δείκτες που βασίζονται στη μεταβολή του σχήματος και γενικότερα της ακτινολογικής απεικόνισης των οστών. Οι κυριότεροι από τους δείκτες αυτούς είναι οι σπονδυλικοί, ο μηριαίος, ο μετακαρπιαίος, ο πτερνικός και ο κνημιαίος, ανάλογα με το οστό το οποίο απεικονίζουν (4).

4.6.3 ΟΣΤΙΚΗ ΠΥΚΝΟΜΕΤΡΙΑ

Με τις μεθόδους οστικής πυκνομετρίας υπολογίζεται η περιεκτικότητα του οστού σε μεταλλικά στοιχεία και επομένως έμμεσα η οστική πυκνότητα. Οι μέθοδοι αυτοί βασίζονται στη απορρόφηση μιας ακτινοβολίας (φωτονίων ή ακτίνων Χ) από τα μεταλλικά μέρη του οστού (4). Διακρίνονται ανάμεσα σε αυτές που μετρούν τον αξονικό σκελετό και σε αυτές που μετρούν το περιφερικό (17). Οι περισσότερες μέθοδοι οστικής πυκνομετρίας δεν μετρούν την οστική ποιότητα. Αυτή μπορεί να μετρηθεί με μεθόδους όπως οι ιστομορφομετρικές αναλύσεις σε δείγματα βιοψίας οστού οι οποίες όμως είναι πιο ακριβές και λιγότερο πρακτικές στην εφαρμογή τους από τις υπόλοιπες μεθόδους (20).

4.6.3.1 ΑΠΛΗ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΦΩΤΟΝΙΩΝ (Single Photon Absorptiometry, SPA)

Η μέθοδος αυτή μετράει την οστική πυκνότητα στο αντιβραχιόνιο. Για τη μέτρηση χρησιμοποιείται μονοενεργειακή πηγή Ιωδίου 125. Είναι λιγότερο ακριβή από τις άλλες μεθόδους αλλά χρησιμοποιείται λιγότερο συχνά (17, 18).

4.6.3.2 ΔΙΠΛΗ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΦΩΤΟΝΙΩΝ (Dual Photon Absorptiometry, DPA)

Η μέθοδος αυτή μετράει την οστική πυκνότητα στον αξονικό σκελετό και κυρίως στη σπονδυλική στήλη και στον αυχένα του μηριαίου οστού. Για τη μέτρηση χρησιμοποιείται το ραδιενεργό ισότοπο Γαδολίνιο 153. Δε χρησιμοποιείται συχνά αν και είναι το ίδιο ακριβές με τη προηγούμενη (17, 18).

4.6.3.3 ΑΠΛΗ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΑΚΤΙΝΩΝ X (Single X-ray Absorptiometry, SXA)

Η μέθοδος αυτή μετράει την οστική πυκνότητα στο αντιβραχιόνιο και τη πτέρνα. Για τη μέτρηση χρησιμοποιείται πηγή ακτίνων X. Έχει μεγαλύτερη ακρίβεια από την SPA (18, 20).

4.6.3.4 ΔΙΠΛΗ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΑΚΤΙΝΩΝ X (Dual X-ray Absorptiometry, DXA)

Η μέθοδος αυτή μετράει την οστική πυκνότητα στον αξονικό σκελετό και συνήθως στους οσφυϊκούς σπονδύλους O_1-O_4 ή O_2-O_4 , στον αυχένα του μηριαίου οστού αλλά και σε ολόκληρο το σκελετό. Για τη μέτρηση χρησιμοποιείται πηγή ακτίνων X. Δυο δέσμες ακτίνων X απομονώνονται με ειδικά φίλτρα που αφαιρούν όλα τα υπόλοιπα τμήματα του συνεχούς φάσματος των ακτίνων X (4). Είναι πιο ακριβής από τις προηγούμενες μεθόδους, ο χρόνος μέτρησης είναι μικρότερος, εκθέτει τον ασθενή σε ελάχιστη δόση ακτινοβολίας και έχει σχετικά χαμηλό κόστος. Για τους λόγους αυτούς αποτελεί τη μέθοδο εκλογής για τη μέτρηση της οστικής πυκνότητας (1, 17, 20)

4.6.3.5 ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΗ ΔΙΠΛΗ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ ΑΚΤΙΝΩΝ X (peripheral Dual X-ray Absorptiometry, pDXA)

Η μέθοδος αυτή μετράει την οστική πυκνότητα στην πτέρνα, στο αντιβραχιόνιο και στα δάχτυλα. Βασίζεται στις ίδιες αρχές με τη μέθοδο DXA (18).

4.6.3.6 ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΙΚΗ ΤΟΜΟΓΡΑΦΙΑ (Quantitative Computed Tomography, QCT)

Η μέθοδος αυτή μετράει την οστική πυκνότητα στον αξονικό σκελετό και κυρίως στη σπονδυλική στήλη. Με τη μέθοδο αυτή συγκρίνεται η πυκνότητα του σπογγώδους ή του φλοιώδους τμήματος των σπονδύλων με διαλύματα σταθερών πυκνοτήτων φωσφορικού ασβεστίου (4). Είναι η πιο ευαίσθητη μέθοδος για τη διάγνωση της οστεοπόρωσης όμως η δόση της ακτινοβολίας είναι μεγάλη και έτσι αποκλείονται οι συχνές επαναλαμβανόμενες μετρήσεις για την ανίχνευση μικρών μεταβολών της οστικής πυκνότητας (1).

4.6.3.7 ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΗ ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΑΞΟΝΙΚΗ ΤΟΜΟΓΡΑΦΙΑ (peripheral Quantitative Computed Tomography, pQCT)

Η μέθοδος αυτή μετράει την οστική πυκνότητα στο αντιβραχιόνιο. Πρόκειται για ειδική κατασκευή ενός μικρού αξονικού τομογράφου. Έχει υψηλή ακρίβεια και η εκπεμπόμενη ακτινοβολία είναι πολύ μικρή. Επιπλέον η μέθοδος αυτή μπορεί να δώσει πληροφορίες σχετικά με την αρχιτεκτονική του οστού (4, 18).

4.6.3.8 ΜΕΤΡΗΣΗ ΤΩΝ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΩΝ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ ΜΕ ΥΠΕΡΗΧΟΥΣ (Ultrasound attenuation or Quantitative Ultrasound, QUS)

Η μέθοδος αυτή μετράει την οστική πυκνότητα στη πτέρνα και στην επιγονατίδα. Χρησιμοποιούνται υπέρηχοι και η μεταβολή ταχύτητας και η εξασθένιση της υπερηχητικής δέσμης από τους ιστούς συσχετίζονται με την οστική ποιότητα αλλά και τη κατασκευή του σπογγώδους οστού. Έτσι, με τη μέθοδο αυτή μπορεί να εκτιμηθεί και η οστική ποιότητα. Όμως είναι λιγότερο πρακτική μέθοδος για κλινική χρήση (4, 17).

4.6.4 ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΕΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΕΞΕΤΑΣΕΙΣ

Οι εργαστηριακές εξετάσεις συνήθως ακολουθούν την οστική πυκνομετρία και τη διάγνωση της οστεοπόρωσης. Σκοπός τους είναι ο αποκλεισμός των δευτεροπαθών αιτιών της οστεοπόρωσης. Προσδιορίζεται η παραθορμόνη ορού ώστε να αποκλεισθεί ο υπερπαραθυροειδισμός, η 25-διυδροξύ-βιταμίνη D προκειμένου να αποκλεισθεί η έλλειψη βιταμίνης D, οι γεννητικές ορμόνες και κυρίως η τεστοστερόνη σε άντρες με ανεξήγητη οστεοπόρωση. Βιοχημικές εξετάσεις γίνονται με σκοπό τον αποκλεισμό νεφρικών και ηπατικών παθήσεων. Η γενική εξέταση αίματος μπορεί να βοηθήσει στην αποκάλυψη κάποιας αιματολογικής ή μυελούπερπλαστικής διαταραχής (1).

Η μέτρηση των βιοχημικών οστικών δεικτών γίνεται με σκοπό το καθορισμό του ρυθμού οστικής απώλειας, το προσδιορισμό του κινδύνου για κάταγμα μηρού (11), τον εντοπισμό ατόμων που βρίσκονται σε υψηλό κίνδυνο και βοηθούν στη επιλογή της φαρμακευτικής αγωγής και στη παρακολούθηση της ανταπόκρισης του ατόμου σε αυτήν (1, 17).

4.6.4.1 ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

Κατά τη διάρκεια της οστικής σύνθεσης οι οστεοβλάστες παράγουν κυτοκίνες, πεπτίδια και αυξητικούς παράγοντες που απελευθερώνονται στη κυκλοφορία. Η συγκέντρωση τους συνεπώς αποτελεί ένδειξη του ρυθμού οστικής σύνθεσης. Οι κυριότεροι από τους δείκτες αυτούς είναι :

- i. *Αλκαλική φωσφατάση*: Η ολική αλκαλική φωσφατάση παράγεται από πολλές πηγές (ήπαρ, οστά, έντερο, πλακούντας). Όμως το ήπαρ και τα οστά είναι η κυριότερη πηγή της. Αυξημένη αλκαλική φωσφατάση μπορεί να υποδηλώνει αυξημένη οστεοβλαστική δραστηριότητα ή ηπατική δυσλειτουργία. Για την επίλυση της σύγχυσης αυτής μετρούνται και τα ισοένζυμα της αλκαλικής φωσφατάσης (4, 21).
- ii. *Οστεοκαλσίνη ορού*: Είναι ένας καλός δείκτης της οστεοβλαστικής λειτουργίας. Σε έντονη οστεοκλαστική δραστηριότητα απελευθερώνεται οστεοκαλσίνη από τη διαλυόμενη θεμέλια ουσία. Συνεπώς, σε περιπτώσεις έντονης οστικής εναλλαγής, η οστεοκαλσίνη αντανακλά και την οστική απορρόφηση (4, 17).
- iii. *Πεπτίδια του προκολλαγόνου I*: Κατά τη διαδικασία σύνθεσης του κολλαγόνου I απελευθερώνονται τα αμινικά και καρβοξυλικά άκρα του προκολλαγόνου I και κυκλοφορούν στο αίμα. Σχετίζονται λίγο με τους υπόλοιπους δείκτες οστικής σύνθεσης αλλά και με τις μεταβολές της οστικής απώλειας (4, 17).

4.6.4.2 ΒΙΟΧΗΜΙΚΟΙ ΔΕΙΚΤΕΣ ΟΣΤΙΚΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ

Κατά τη διάρκεια της οστικής απορρόφησης οι οστεοκλάστες παράγουν προϊόντα τα οποία απελευθερώνονται στη κυκλοφορία του αίματος και αποβάλλονται από τους νεφρούς. Οι συγκεντρώσεις αυτών μπορούν να μετρηθούν στο αίμα ή στα ούρα και αποτελούν τους δείκτες οστικής απορρόφησης. Οι πιο σημαντικοί είναι :

- i. *Υδροξυπρολίνη ούρων*: Το κολλαγόνο περιέχει σε ποσοστό 13% υδροξυπρολίνη, η οποία στη φάση της οστικής απορρόφησης αποβάλλεται κατά 10% σαν ακέραιο μόριο από τα ούρα όπου και συνήθως μετράται. Αποτελεί καλό δείκτη οστικής απορρόφησης αλλά επηρεάζεται σημαντικά και από τη διατροφή (4, 17).
- ii. *Πυριδολίνη ούρων*: Η πυριδολίνη και η δεοξυπυριδολίνη είναι τμήματα του διασπούμενου κολλαγόνου. Αφθονούν στη θεμέλια ουσία του οστού

και του χόνδρου και μετά τη διάλυσή της από τους οστεοκλάστες, αποβάλλονται χωρίς μεταβολή από τα ούρα. Αποτελούν σχεδόν αποκλειστικούς δείκτες οστικής απορρόφησης. Βρέθηκε ότι η πυριδολίνη ούρων αυξάνεται κατά 50-100% μετά την εμμηνόπαυση ενώ επανέρχεται σε φυσιολογικά επίπεδα μετά την έναρξη της θεραπείας με οιστρογόνα (4, 17).

- iii. *Ασβέστιο ούρων*: Το ασβέστιο ούρων είναι σημαντικό για τη μελέτη της διακύμανσης του ασβεστίου στον οργανισμό. Το ασβέστιο πρωινών ούρων νηστείας είναι δείκτης οστικής απορρόφησης (δεν επηρεάζεται από το ασβέστιο των τροφών), αν και απαιτείται σημαντική αύξηση της οστικής απορρόφησης για να δώσει μεταβολές (4).
- iv. *Διασταυρούμενα τελοπεπτίδια ούρων του κολλαγόνου τύπου I*: Τα διασταυρούμενα πεπτίδια της πυριδολίνης στο αμινικό άκρο του κολλαγόνου τύπου I αποτελούν νέο δείκτη οστικής απορρόφησης. Οι τιμές τους στα ούρα αυξάνονται σημαντικά στις γυναίκες μετά την εμμηνόπαυση, ενώ στους άντρες παραμένουν σταθερές (4, 22).

4.7 ΠΡΟΛΗΨΗ ΟΣΤΕΟΠΩΡΩΣΗΣ

Η πρόληψη της οστεοπόρωσης μπορεί και πρέπει να επιδιώκεται όσο το δυνατόν νωρίτερα. Η πρωτογενής πρόληψη στοχεύει στην επίτευξη όσο το δυνατό υψηλότερης κορυφαίας οστικής πυκνότητας, στην αποφυγή σκελετικών παραμορφώσεων κατά την ανάπτυξη και στην αποφυγή των παραγόντων κινδύνου που προκαλούν ή αυξάνουν την οστική απώλεια. Η δευτερογενής πρόληψη στοχεύει στον εντοπισμό των ατόμων που βρίσκονται σε υψηλό κίνδυνο και την έγκαιρη διάγνωση της νόσου. Η τριτογενής πρόληψη απευθύνεται σε άτομα με εγκατεστημένη οστεοπόρωση και στοχεύει στην αποφυγή νέων καταγμάτων και τη βελτίωση της ποιότητας ζωής των ασθενών (4)

4.7.1 ΔΙΑΤΡΟΦΗ

4.7.1.1 ΠΡΟΣΛΗΨΗ ΑΣΒΕΣΤΙΟΥ

Το ασβέστιο, όπως προαναφέρθηκε, είναι θεμελιώδες συστατικό για την επίτευξη υψηλής κορυφαίας οστικής πυκνότητας. Δίαιτα χαμηλή σε ασβέστιο αποτελεί

σημαντικό παράγοντα κινδύνου για ανάπτυξη οστεοπόρωσης κατά την ενήλικη ζωή, καθώς το ασβέστιο επηρεάζει σημαντικά την οστική πυκνότητα αλλά και την οστική απώλεια. Για το λόγο αυτό η επαρκής πρόσληψη ασβεστίου σε όλα τα στάδια της ζωής είναι σημαντική για την καλή υγεία των οστών και τη πρόσληψη της οστεοπόρωσης. Στο πίνακα 4.2 φαίνονται οι συστάσεις για πρόσληψη ασβεστίου στα στάδια της ζωής και στο πίνακα 4.3 φαίνονται η περιεκτικότητα κάποιων τροφίμων σε ασβέστιο (7, 13).

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.2: Συνιστώμενες προσλήψεις ασβεστίου και βιταμίνης D(Dietary Reference Intakes, DRI)

ΗΛΙΚΙΑΚΗ ΟΜΑΔΑ	Ca (mg/day)	Vit D (μg/day) *
0-6 μηνών	210	5
7-12 μηνών	270	5
1-3 ετών	500	5
4-8 ετών	800	5
9-13 ετών	1300	5
14-18 ετών	1000	5
19-30 ετών	1000	5
31-50 ετών	1000	5
51-70 ετών	1200	10
>70 ετών	1200	15
Εγκυμοσύνη		
≤18 ετών	1300	5
19-50 ετών	1000	5
Θηλασμός		
≤18 ετών	1300	5
19-50 ετών	1000	5

*Θεωρώντας ότι δεν υπάρχει καθόλου έκθεση στον ήλιο και συνεπώς ενδογενής παραγωγή βιταμίνης D.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.3: Διαιτητικές πηγές ασβεστίου

ΤΡΟΦΙΜΟ	ΠΟΣΟΤΗΤΑ	Ca (mg)
Πλήρες γάλα	1 ποτήρι	291
Κίτρινο τυρί	100 gr	620
Σκληρό τυρί	100 gr	800
Σκληρή φέτα	100 gr	500
Παρμεζάνα	100gr	1200
Παγωτό	1 κύπελλο	176
Γιαούρτι 3% λιπαρών	230 gr	415
Ψάρι	100 gr	93
Σαρδέλες με κόκαλα	100 gr	550
Σπανάκι βρασμένο	100 gr	160

4.7.1.2 ΠΡΟΣΛΗΨΗ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ D

Η επαρκής πρόσληψη βιταμίνης D αυξάνει την απορρόφηση ασβεστίου και συμβάλει στην επίτευξη υψηλής μέγιστης οστικής πυκνότητας. Η χαμηλή πρόσληψη της βιταμίνης D αποτελεί παράγοντα κινδύνου για ανάπτυξη οστεοπόρωσης. Η βιταμίνη D βιοσυντίθεται στον οργανισμό με την επίδραση της ηλιακής ακτινοβολίας στο δέρμα. Όμως το δέρμα των ηλικιωμένων χάνει σε σημαντικό βαθμό την ικανότητα να συνθέτει βιταμίνη D. Έτσι για τους ηλικιωμένους αλλά και για τα άτομα που δεν εκθέτονται επαρκώς στον ήλιο είναι σημαντική η πρόσληψη βιταμίνης D από τη τροφή. Οι διαιτητικές πηγές της βιταμίνης D είναι περιορισμένες. Κάποιες από αυτές αναφέρονται στο πίνακα 4.4. Σε πολλές χώρες γίνεται εμπλουτισμός τροφίμων με βιταμίνη D. Συστήνεται λήψη συμπληρώματος βιταμίνης D σε άτομα που ανεπαρκούν στην ενδογενή σύνθεση της βιταμίνης (12, 13).

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.4: Διαιτητικές πηγές βιταμίνης D

ΤΡΟΦΙΜΟ	ΠΟΣΟΤΗΤΑ	Vit D (μg)
Πέστροφα, Λούτσος	150 gr	9-12
Σολομός	150 gr	20
Σαρδέλες σε κονσέρβα	70 gr	1,2-2,0
Τόνος σε κονσέρβα	100 gr	13
Άγρια μανιτάρια	100 gr	13
Συκώτι	100 gr	1,8-2,7
Κοτόπουλο	100 gr	1,7
Αυγά	100 gr	1,4

4.7.1.3 ΑΛΛΟΙ ΔΙΑΤΡΟΦΙΚΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ

Σημαντική για την επίτευξη υψηλής μέγιστης οστικής πυκνότητας είναι η επαρκής πρόσληψη βιταμίνης K, φωσφόρου, φθορίου, σιδήρου, ψευδάργυρου, χαλκού, μαγγανίου και βορίου. Η πρόσληψη νατρίου πρέπει να είναι περιορισμένη γιατί όπως προαναφέρθηκε, η υψηλή πρόσληψη νατρίου αποτελεί παράγοντα κινδύνου για ανάπτυξη οστεοπόρωσης. Για τη πρόληψη της οστεοπόρωσης, η διατροφή θα πρέπει να είναι ισορροπημένη όσον αφορά τη πρόσληψη σε πρωτεΐνη (0,8-1 gr/Kg σωματικού βάρους) και τη πρόσληψη διαιτητικών ινών. Συνιστάται επίσης η υψηλή πρόσληψη φυτοοιστρογόνων. Τα φυτοοιστρογόνα βρίσκονται στο λιναρόσπορο, στα μούρα, σε φρούτα, λαχανικά, σπόρους, φασόλια και σε προϊόντα σόγιας (19).Ακόμα συστήνεται η μέτρια κατανάλωση καφέ (1-2 κούπες ημερησίως) και η περιορισμένη κατανάλωση οиноπνευματωδών ποτών (9, 12, 13).

4.7.2 ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑΣ

Για τη πρόληψη της οστεοπόρωσης συστήνεται αποφυγή του καπνίσματος και διακοπή του καπνίσματος σε άτομα υψηλού κινδύνου για ανάπτυξη οστεοπόρωσης και σε γυναίκες που λαμβάνουν θεραπεία με οιστρογόνα (4, 20).

Η άσκηση έχει σημαντικό ρόλο τόσο στην επίτευξη υψηλής μέγιστης οστικής πυκνότητας όσο και στη διατήρηση της οστικής μάζας και στο περιορισμό της οστικής απώλειας σε μεγαλύτερες ηλικίες. Οι ασκήσεις με βάρη είναι πολύ σημαντικές για την αύξηση της οστικής ισχύς και αντοχής. Αυξημένη φυσική

δραστηριότητα και ασκήσεις με βάρη συστήνονται σε όλα τα στάδια της ζωής (17, 20).

4.7.3 ΑΠΟΦΥΓΗ ΠΤΩΣΕΩΝ

Τα περισσότερα κατάγματα προκαλούνται από πτώσεις. Η πρόκληση κατάγματος εξαιτίας μιας πτώσης εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως η κατεύθυνση και ο μηχανισμός της πτώσης, το σκελετικό σημείο που θα σταματήσει τη πτώση, οι ιστοί που περιβάλλουν το σημείο αυτό, η μυϊκή αδυναμία του ατόμου, η μειωμένη όραση, η διαταραχή της ισορροπίας και η κατανάλωση ηρεμιστικών χαπιών (3, 23). Τρόποι αποφυγής των πτώσεων είναι ο επαρκής φωτισμός στα κλιμακοστάσια, η καθήλωση των ολισθηρών ταπήτων, η δημιουργία αντιολισθητικών συνθηκών στο δάπεδο του λουτρού και της μπανιέρας, η χρήση υποδημάτων με καλή επιφάνεια πρόσφυσης, η ρύθμιση νοσολογικών καταστάσεων που προδιαθέτουν σε πτώσεις π.χ υπέρταση και ο περιορισμός της χρήσης ψυχοτρόπων και ηρεμιστικών φαρμάκων (17, 24).

4.8 ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΟΣΤΕΟΠΩΡΩΣΗΣ

Η εγκατεστημένη οστεοπόρωση δεν είναι δυνατόν να αντιστραφεί. Παρόλα αυτά η πρόωμη παρέμβαση μπορεί να αναστείλει την εξέλιξή της . Αν υπάρχει δευτεροπαθές αίτιο οστεοπόρωσης, η θεραπεία πρέπει να αποσκοπεί στη διόρθωση της υποκείμενης διαταραχής. Η θεραπεία διακρίνεται σε φαρμακευτική και μη φαρμακευτική (1).

4.8.1 ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Η φαρμακευτική θεραπεία αποσκοπεί στη πρόληψη της αύξησης της απώλειας οστού, ώστε να μειωθούν οι πιθανότητες μελλοντικών καταγμάτων. Υπάρχουν φάρμακα που δρουν κυρίως στους οστεοκλάστες, φάρμακα που δρουν κυρίως στους οστεοβλάστες, φάρμακα που συμβάλλουν στο θετικό ισοζύγιο ασβεστίου και κυκλικά σχήματα που τροποποιούν την οστική ανακατασκευή (1).

4.8.1.1 ΟΙΣΤΡΟΓΟΝΑ

Η θεραπεία με οιστρογόνα χρησιμοποιείται για τη πρόληψη και τη θεραπεία της οστεοπόρωσης. Με την έναρξη της εμμηνόπαυσης η θεραπεία υποκατάστασης με οιστρογόνα ανακουφίζει από τα συμπτώματα της εμμηνόπαυσης και προλαμβάνει

την απώλεια οστού που ακολουθεί την εμμηνόπαυση (20). Επιπλέον, μακροχρόνια θεραπεία (>3 χρόνια) αυξάνει την οστική πυκνότητα κατά 4% στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης και κατά 2% στα άκρα. Η θεραπεία με οιστρογόνα μειώνει σημαντικά και το κίνδυνο καταγμάτων (25). Αν η θεραπεία ξεκινήσει μετά την εγκατάσταση της οστεοπόρωσης δεν είναι εξίσου αποτελεσματική (4). Η ευεργετική δράση των οιστρογόνων είναι ανάλογη προς τη χορηγούμενη δόση. Οι οδοί χορήγησης των οιστρογόνων είναι από του στόματος ή διαδερμικά. Η δόση ξεκινά από 0,3-0,625 mg ημερησίως και μπορεί να ξεπεράσει τα 1,25 mg σε περιπτώσεις σοβαρής μορφής της νόσου (20). Η διάρκεια της θεραπείας αναπλήρωσης των οιστρογόνων δεν έχει καθοριστεί. Πάντως με τη διακοπή της θεραπείας παύει η προστατευτική δράση στα οστά, χωρίς όμως να επιταχύνεται η απώλεια (1, 4, 25).

Στις παρενέργειες των οιστρογόνων περιλαμβάνονται η μασταλγία, η κολπική αιμορραγία, η υπερπλασία του ενδομητρίου και ο αυξημένος κίνδυνος για εμφάνιση καρκίνου του ενδομητρίου (25). Για το λόγο αυτό, γυναίκες που δεν έχουν υποστεί υστερεκτομή συνήθως λαμβάνουν μαζί με τα οιστρογόνα και προγεστερόνη που προστατεύει από την ανάπτυξη καρκίνου του ενδομητρίου (20). Άλλες παρενέργειες της θεραπείας είναι ο αυξημένος κίνδυνος θρομβοεμβολικής νόσου, η επιδείνωση ινοκυστικής μαστοπάθειας ενώ η σχέση της με την εμφάνιση καρκίνου του μαστού είναι αμφιλεγόμενη (1, 4).

4.8.1.2 ΤΙΒΟΛΟΝΗ

Η τιβολόνη είναι ένα συνθετικό ανάλογο των γεννητικών στεροειδών ορμονών που συνδυάζει ήπια οιστρογονική, προγεσταγονική και ανδρογονική δράση. Χορηγούμενη σε συνεχές σχήμα και σε δόση 2,5 mg ημερησίως καταπολεμά τις εμμηνόπαυσιακές διαταραχές και την μεταεμμηνόπαυσιακή οστική απώλεια. Δεν ενδείκνυται σε ασθενείς με διαβήτη, αυξημένα επίπεδα χοληστερόλης, νεφρική πάθηση, επιληψία και ημικρανία (4, 19).

4.8.1.3 ΕΚΛΕΚΤΙΚΟΙ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΤΕΣ ΤΩΝ ΥΠΟΔΟΧΕΩΝ ΤΩΝ ΟΙΣΤΡΟΓΟΝΩΝ (Selective Estrogen-Receptor Modulators, SERMs)

Οι εκλεκτικοί τροποποιητές των υποδοχέων των οιστρογόνων είναι οιστρογονικά ανάλογα με αντιοστεοκλάστική δράση αλλά χωρίς τις παρενέργειες των οιστρογόνων στην εμφάνιση καρκίνου του μαστού. Χρησιμοποιούνται

εναλλακτικά της θεραπείας με οιστρογόνα για τη πρόληψη και τη θεραπεία της οστεοπόρωσης. Οι γνωστότερες ουσίες είναι η ταμοξιφένη και η ραλοξιφένη (17, 20).

Η ταμοξιφένη χρησιμοποιείται για τη πρόληψη της οστεοπόρωσης σε μεταεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με ιστορικό καρκίνου του μαστού. Φαίνεται να αυξάνει 1-2% την οστική πυκνότητα ανά χρόνο θεραπείας αλλά δεν έχει σημαντική επίδραση στη μείωση της εμφάνισης καταγμάτων (25). Παρενέργειες της ταμοξιφένης είναι αίσθημα καύσους, υπερπλασία ενδομητρίου και αυξημένος κίνδυνος για εμφάνιση καρκίνου του ενδομητρίου. Για το λόγο αυτό η χορήγηση ταμοξιφένης δε πρέπει να ξεπερνά τα 5 χρόνια (4).

Η ραλοξιφένη χρησιμοποιείται για τη πρόληψη της εμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης. Φαίνεται ότι αυξάνει την 2-3% την οστική πυκνότητα στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης και στο ισχίο και ότι μειώνει το κατά 50% το κίνδυνο εμφάνισης σπονδυλικών καταγμάτων. Έχει θετική επίδραση στη μείωση της LDL και στην αύξηση της HDL χοληστερόλης προσφέροντας έτσι πιθανή προστασία από τα καρδιαγγειακά. Επιπλέον, δε διεγείρει το ενδομήτριο και δε προκαλεί καρκίνο ενδομητρίου (20), Παρενέργειες της ραλοξιφένης είναι αύξηση του κινδύνου για ανάπτυξη θρομβοεμβολικής νόσου, αίσθημα καύσους, κράμπες στα πόδια και οιδήματα στα άκρα (17, 19).

4.8.1.4 ΔΙΦΩΣΦΟΝΙΚΑ

Τα διφωσφονικά είναι συνθετικά ανάλογα του πυροφωσφορικού οξέως. Διαφέρουν από αυτό δομικά, καθώς στην αλυσίδα P-O-P του πυροφωσφορικού το άτομο του οξυγόνου αντικαθίσταται από άτομο άνθρακα (P-C-P). Η δομή αυτή επιτρέπει ποικιλία πλευρικών αλυσίδων στο άτομο του άνθρακα με αποτέλεσμα προϊόντα που διαφέρουν ως προς τη φυσικοχημική, βιολογική και θεραπευτική συμπεριφορά. Αποτελούν την πιο ισχυρή θεραπεία για την οστεοπόρωση (20). Αναστέλλουν την οστική απορρόφηση δρώντας απευθείας στους οστεοκλάστες. Έχουν κυτταροτοξική δράση στα κύτταρα αυτά, προκαλούν μεταβολική βλάβη στους ώριμους οστεοκλάστες, αναστολή της προσκόλλησης τους στο οστό, και εμπλέκονται στη διαφοροποίηση, στη στρατολόγηση, στη δράση και στην απόπτωσή τους (4, 17).

Υπάρχουν αρκετές διφωσφονικές ουσίες με διαφορετική ισχύ. Οι πιο γνωστές είναι η ετιφρονάτη, κλοδρονάτη, παμιδράτη, αλενδρονάτη και ριζεδρονάτη με

αντίστοιχη ισχύ 1, 10, 100, 1000, 5000 (14). Η θεραπεία με αλενδρονάτη αυξάνει σημαντικά την οστική πυκνότητα στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης (8,8 % σε 3 χρόνια) και στον αυχένα του μηριαίου οστού (5,9 σε 3 χρόνια) (25) και μειώνει το κίνδυνο σπονδυλικών και μη καταγμάτων κατά 50% (20).

Απορροφούνται δύσκολά από το έντερο και δε πρέπει να λαμβάνονται μαζί με συμπληρώματα ασβεστίου. Χορηγούνται μετά από ολονύκτια νηστεία και 30 λεπτά πριν τη λήψη οποιασδήποτε τροφής (1, 20). Παρενέργειες των διφωσφονικών είναι γαστρεντερικές ενοχλήσεις όπως ναυτία, διάρροια, πόνος στο στομάχι, ερεθισμός οισοφάγου, δυσκολία στη κατάποση, αίσθημα καύσους καθώς και μυοσκελετικοί πόνοι (19).

4.8.1.5 ΚΑΛΣΙΤΟΝΙΝΗ

Η καλσιτονίνη είναι μια πολυπεπτιδική ορμόνη που παράγεται από τα παραθυλακιώδη κύτταρα του θυρεοειδούς αδένος. Χρησιμοποιείται για τη θεραπεία γυναικών με οστεοπόρωση μετά τα 5 πρώτα χρόνια της εμμηνόπαυσης. Χορηγείται συνήθως με μορφή ενδορρινική. Η θεραπεία με καλσιτονίνη προκαλεί μικρή αύξηση της οστικής πυκνότητας στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης και μείωση του κινδύνου για κατάγματα (25). Η θεραπευτικές δράσεις της καλσιτονίνης αναφέρονται αναλυτικά στο κεφάλαιο 6.

4.8.1.6 ΙΠΡΙΦΛΑΒΟΝΗ

Η ιπριφλαβόνη είναι ένα συνθετικό φλαβινοειδές παράγωγο, το οποίο φαίνεται ότι ασκεί επίδραση στον οστικό μεταβολισμό. Δρα κυρίως στον οστεοκλάστη αναστέλλοντας την οστεοκλαστική λειτουργία και έχει διεγερτική δράση και στους οστεοβλάστες. Η συνήθης δόση είναι 200 mg, 3 φορές την ημέρα (σύνολο 600 mg). Στη δοσολογία αυτή η ιπριφλαβόνη είναι αποτελεσματική στη διατήρηση της οστικής πυκνότητας σε μεταεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και σε άτομα με εγκατεστημένη οστεοπόρωση. Δεν είναι αποτελεσματική στη πρόληψη καταγμάτων και δεν έχει δοκιμαστεί σε άντρες και σε προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Η εντερική απορρόφησή της είναι πολύ χαμηλή, για το λόγο αυτό απαιτούνται υψηλές δόσεις του φαρμάκου (4, 17).

4.8.1.7 ΦΘΟΡΙΟΥΧΟ ΝΑΤΡΙΟ

Το φθοριούχο νάτριο είναι ισχυρός διεγέρτης της οστικής σύνθεσης. Δρα απευθείας στους οστεοβλάστες αυξάνοντας τον αριθμό και τη δραστηριότητά τους. Αυξάνει την οστική πυκνότητα στη σπονδυλική στήλη, μειώνει όμως την οστική πυκνότητα στο σκελετό των άκρων. Επιπλέον, το οστεοειδές που παράγεται από τους οστεοβλάστες με την επίδραση του φθοριούχου νατρίου έχει κακή σύνθεση και υποβαθμίζει ποιοτικά το οστό. Δε φαίνεται να έχει καμία επίδραση στη μείωση της εμφάνισης καταγμάτων. Το φθοριούχο νάτριο σε μεγάλες δόσεις έχει τοξική επίδραση στο γαστρεντερικό σύστημα (πόννοι, ναυτία) και στα οστά (πόννοι στα άκρα) (4, 17, 19).

4.8.1.9 ΒΙΤΑΜΙΝΗ D, ΜΕΤΑΒΟΛΙΤΕΣ ΤΗΣ ΚΑΙ ΑΣΒΕΣΤΙΟ

Η βιταμίνη D και το ασβέστιο είναι πολύ σημαντικά για τη πρόληψη της οστεοπόρωσης και τη καλή υγεία των οστών. Όμως δεν είναι αποτελεσματικά σαν αποκλειστική θεραπεία για την οστεοπόρωση. Συνήθως χορηγείται συμπλήρωμα βιταμίνης D και ασβεστίου σε συνδυασμό με κάποια άλλη θεραπεία (17).

Υπάρχουν έρευνες που δείχνουν ότι δόση $>0,5$ μg 1,25-διυδροξυ βιταμίνης D₃ σε μακροχρόνια εφαρμογή σταθεροποιεί την οστική πυκνότητα, πιθανώς την αυξάνει και μειώνει τον αριθμό των καταγμάτων. Οι παρενέργειες χορήγησης μεταβολιτών της βιταμίνης D είναι σπάνια υπερασβεσταιμία και πιο συχνά υπερασβεστουρία που μπορεί να οδηγήσει σε νεφρολιθίαση (4).

Η χορήγηση ασβεστίου σαν αποκλειστική θεραπεία δεν μπορεί να αναστείλει τη μεταεμμηνοπαυσιακή οστική απώλεια και δε φαίνεται να ελαττώνει τον αριθμό των καταγμάτων. Βέβαια υπάρχουν και έρευνες με αντίθετα αποτελέσματα. Έτσι η θεραπευτική αξία του ασβεστίου είναι αμφιλεγόμενη. Η συνηθισμένη θεραπευτική δόση είναι 1000-1200 mg ημερησίως. Τα συμπληρώματα ασβεστίου ανάλογα με το είδος, είτε με τα γεύματα είτε με άδειο στομάχι και ξεχωριστά από τη λήψη συμπληρωμάτων σιδήρου και διφωσφονικών (13). Οι παρενέργειες της φαρμακευτικής χορήγησης του ασβεστίου οφείλονται κυρίως σε δυσανεξία από το γαστρεντερικό σύστημα. Επίσης είναι αμφίβολο αν αυξάνει το κίνδυνο για νεφρολιθίαση (4).

4.8.1.10 ΘΕΡΑΠΕΙΑ ADFR

Στη θεραπεία αυτή επιδιώκεται η παρέμβαση στην οστική ανακατασκευή και η μετατροπή του ισοζυγίου του οστού από αρνητικό σε θετικό. Ουσιαστικά με τη θεραπεία γίνεται προσπάθεια επαναφοράς της σύζευξης οστεοκλαστών-οστεοβλαστών και μετακίνηση της ισορροπίας προς τη κατεύθυνση της οστικής παραγωγής. Η θεραπεία ADFR εξηγείται από τα αρχικά των φάσεων που ακολουθεί. Αυτές είναι:

A: activation, Ενεργοποίηση.

Η ενεργοποίηση των οστεοκλαστών επιτυγχάνεται με ένα ισχυρό ενεργοποιητή όπως παραθορμόνη.

D: Depression of the resorption, Καταστολή της οστικής απορρόφησης.

Η καταστολή της οστεοκλαστικής δράσης γίνεται με χορήγηση ενός αντιοστεοκλαστικού φαρμάκου π.χ καλσιτονίνη, ετιδρονάτη.

F: Free of treatment, Ελεύθερο θεραπείας χρονικό διάστημα.

Στο στάδιο αυτό διακόπτεται κάθε θεραπεία για διάστημα 2 μηνών. Στο χρονικό αυτό διάστημα οι οστεοκλάστες αφήνονται να σχηματίσουν το αρχινά προβλεπόμενο οστό. Οι δυο προηγούμενες φάσεις διαρκούν 1 μήνα. Συνολικά και οι τρεις φάσεις διαρκούν 3 μήνες.

R: Repeat, Επανάληψη του ίδιου σχήματος θεραπείας.

Οι τρίμηνοι κύκλοι επαναλαμβάνονται για 1-2 έτη. Στο τέλος της θεραπείας παρατηρείται σημαντική αύξηση της οστικής πυκνότητας.

Διάφοροι συνδυασμοί ενεργοποιητών-καταστολέων είναι φώσφορος-διφωσφονικά, φώσφορος-καλσιτονίνης, παραθορμόνη-καλσιτονίνη, αυξητική ορμόνη-καλσιτονίνη (4).

4.8.1.11 ΠΑΡΑΘΟΡΜΟΝΗ

Η χορήγηση του κλάσματος 1-34 της παραθορμόνης ih-PTH φαίνεται να είναι αποτελεσματική στη μείωση των σπονδυλικών και μη σπονδυλικών καταγμάτων σε άτομα με σοβαρή οστεοπόρωση και προηγούμενα κατάγματα. Επιπλέον αυξάνει την οστική πυκνότητα σε όλα τα σκελετικά σημεία εκτός από το άκρο της κερκίδας (17). Όμως αν και αυξάνει τον όγκο του σπογγώδους οστού δεν αυξάνει αντίστοιχα και τη συνεκτικότητα των οστεοδοκίδων και συνεπώς δε βελτιώνει την αρχιτεκτονική του οστού (4).

4.8.2 ΜΗ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ

Πολλοί ασθενείς με κατάγματα ή οστεοπορωτικές παραμορφώσεις επωφελούνται από την εφαρμογή καλά σχεδιασμένου προγράμματος φυσικοθεραπείας. Επιπλέον η άσκηση σε μεταεμμηνοπαυσιακές γυναίκες μειώνει το ρυθμό οστικής απώλειας και μπορεί να και σε αύξηση της οστικής μάζας με καλύτερα αποτελέσματα όταν η άσκηση συνδυάζεται με κάποια φαρμακευτική θεραπεία π.χ οιστρογόνα. Προγράμματα που περιλαμβάνουν ασκήσεις ενίσχυσης του μυοσκελετικού συστήματος (ασκήσεις ενάντια στη βαρύτητα), ασκήσεις ισορροπίας και περπάτημα μειώνουν σημαντικά τις πτώσεις και τα κατάγματα σε ηλικιωμένους ασθενείς. Τα προγράμματα που εφαρμόζονται σε οστεοπορωτικούς ασθενείς πρέπει να είναι προσεκτικά σχεδιασμένα και να ανταποκρίνονται στα χαρακτηριστικά του ασθενή και στη μορφή της νόσου (4, 17).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΤΗΣ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗΣ

5.1 ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟΤΗΤΑ ΣΤΗΝ ΟΣΤΕΟΠΟΡΩΣΗ

Η οστεοπόρωση είναι μια διαταραχή με σύνθετο γενετικό υπόβαθρο. Όπως με όλες τις πολυπαραγοντικές νόσους, η έναρξη, η εξέλιξη και η σοβαρότητα της νόσου επηρεάζονται από πολλαπλούς περιβαλλοντολογικούς και γονιδιακούς παράγοντες σε κάθε άνθρωπο (15). Η κληρονομικότητα στην οστεοπόρωση έχει μελετηθεί βάση ερευνών που γίνονται σε διδύμους (23), και σε οικογένειες με οστεοπορωτικούς ασθενείς (14).

Οι παράγοντες που σχετίζονται με την εμφάνιση και την εξέλιξη της οστεοπόρωσης έχουν κάποιο κληρονομικό υπόβαθρο. Όσον αφορά την κληρονομικότητα που σχετίζεται με την οστική μάζα, έρευνες έχουν δείξει ότι κόρες οστεοπορωτικών γυναικών έχουν χαμηλή οστική πυκνότητα και ότι νεαρές κόρες γυναικών με χαμηλή οστική πυκνότητα έχουν χαμηλή μέγιστη οστική πυκνότητα (14). Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η οστική μάζα και κυρίως η μέγιστη οστική πυκνότητα καθορίζονται κατά 70-80% από γενετικούς παράγοντες (26, 27). Φαίνεται επίσης ότι ο τρόπος κληρονομής χαρακτηριστικών της οστικής μάζας από αρσενικό σε αρσενικό και από αρσενικό σε θηλυκό διαφέρει σημαντικά. Αυτό συμβαίνει γιατί η οστεοπόρωση στους άντρες διαφέρει αιτιολογικά από την οστεοπόρωση στις γυναίκες και είναι πιθανό να ελέγχεται από διαφορετικά γονίδια (27). Επίσης το μέγεθος και η δομή των οστών φαίνεται πως έχουν εξίσου μεγάλο γενετικό υπόβαθρο όσο και η οστική μάζα. Αντιθέτως, για το ρυθμό οστικής απώλειας δεν υπάρχουν ενδείξεις ότι επηρεάζεται από κάποιους κληρονομικούς παράγοντες. Από την άλλη μεριά, υπάρχουν ενδείξεις ότι οι βιοχημικοί δείκτες οστικού μεταβολισμού (οστικής σύνθεσης και απορρόφησης) εμφανίζουν μια μικρού βαθμού κληρονομικότητα. Η κληρονομικότητα των καταγμάτων είναι πολύ μικρή. Υπολογίζεται ότι λιγότερο από 1/3 της προδιάθεσης για κατάγματα είναι γενετικά ελεγχόμενη. Όσον αφορά τις πτώσεις, αυτές αποτελούν ένα εξαιρετικά πολύπλοκο φαινόμενο και παρόλο που έχουν κάποιο κληρονομικό υπόβαθρο, αυτό είναι εξαιρετικά δύσκολο να μελετηθεί (11). Η ηλικία εμμηνόπαυσης, που αποτελεί καθοριστικό παράγοντα

για την εκτίμηση του κινδύνου για ανάπτυξη οστεοπόρωσης, είναι κατά 63% κληρονομήσιμη (14).

5.2: ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΚΑΙ ΟΣΤΕΟΠΩΡΩΣΗ

Η γνώση της γενετικής της οστεοπόρωσης θεωρείται πως θα βοηθήσει στη πρόληψη, στη διάγνωση, στη πρόγνωση και στη θεραπεία της νόσου (16). Θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί στην ανίχνευση των ατόμων που έχουν υψηλό κίνδυνο για ανάπτυξη οστεοπόρωσης καθώς και για τη χορήγηση της πιο αποτελεσματικής και κατάλληλης θεραπείας σε κάθε ασθενή, ανάλογα με το γονιδιακό του προφίλ. Απαραίτητη προϋπόθεση είναι η ταυτοποίηση γενετικών δεικτών (π.χ πολυμορφισμοί) με ικανοποιητική ισχύ πρόβλεψης (26).

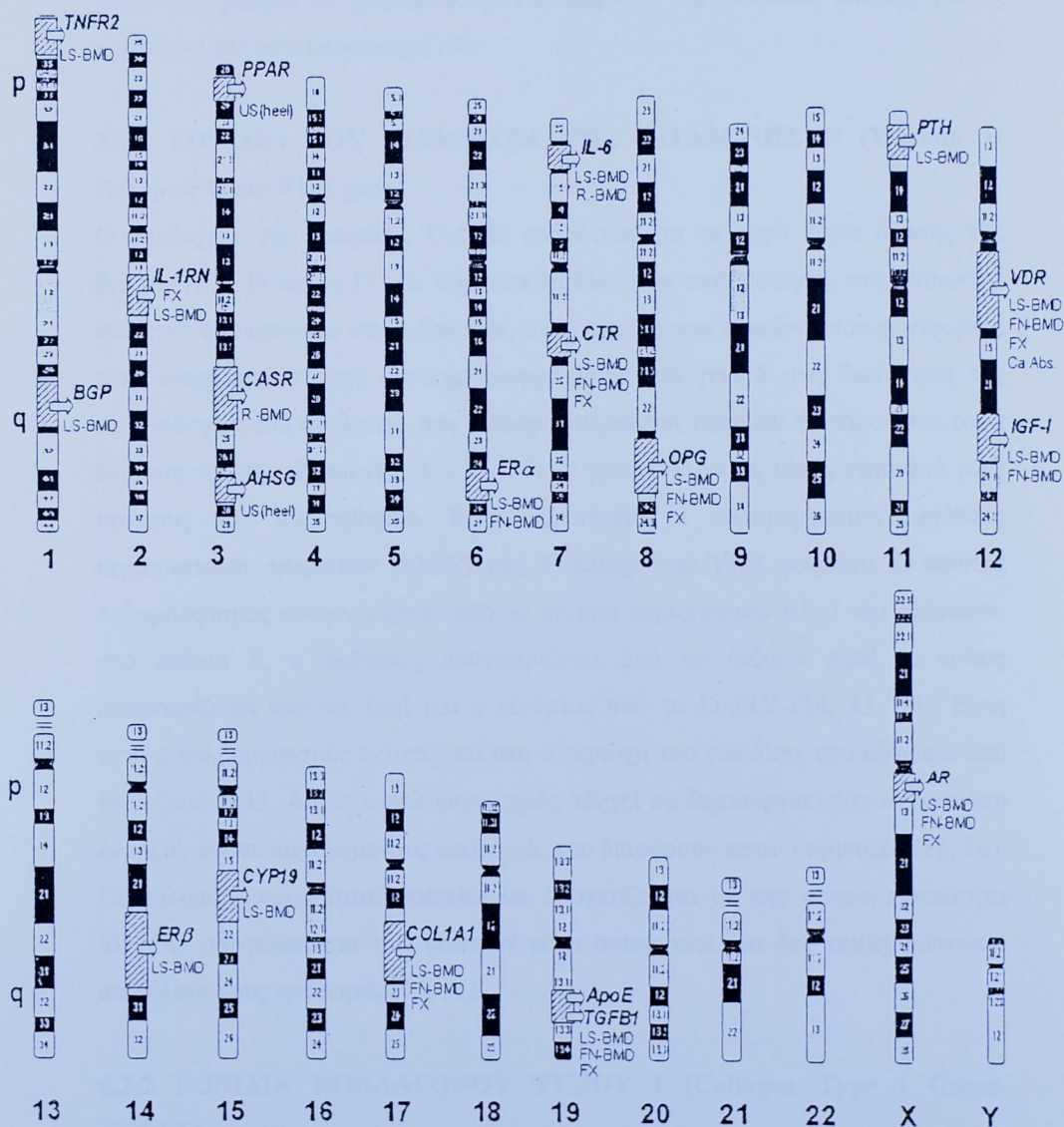
Ως πολυμορφισμός ορίζεται η εμφάνιση δυο ή περισσότερων γενετικά καθορισμένων εναλλακτικών φαινοτύπων σε ένα πληθυσμό, σε τέτοια συχνότητα, ώστε ο σπανιότερος δε θα μπορούσε να διατηρηθεί μόνο με αλληπάλληλες μεταλλαγές. Πρακτικά, ένας γενετικός τύπος θεωρείται πολυμορφικός, αν το σπάνιο αλληλόμορφο έχει μια συχνότητα τουλάχιστον 0,01. Ως γενετικός τύπος ορίζεται μια ειδική θέση ή εντόπιση πάνω σε ένα χρωμόσωμα (28).

Από έρευνες έχει διαπιστωθεί ότι σε αρκετούς γενετικούς τύπους εντοπίζονται γονίδια που σχετίζονται με την οστική πυκνότητα. Τέτοιοι τύποι βρίσκονται στα χρωμοσώματα 1p, 2p, 4q, 11q, 13q και 11q12-13. Αρκετοί από τους πολυμορφισμούς που βρίσκονται στις περιοχές αυτές δεν έχουν ταυτοποιηθεί (16). Ο χάρτης των γενετικών τύπων που σχετίζονται με την οστεοπόρωση βρίσκεται στο σχήμα 5.1 (15). Τα γονίδια που πρώτα έγιναν αντικείμενα ερευνών είναι αυτά που κωδικοποιούν τους υποδοχείς των ασβεστιοτρόπων ορμονών, τις πρωτεΐνες της θεμέλιας ουσίας και τοπικούς ρυθμιστές του οστικού μεταβολισμού (29). Στα γονίδια αυτά εντοπίστηκαν αρκετοί πολυμορφισμοί που αναφέρονται παρακάτω.

Αξίζει να σημειωθεί ότι μια θετική συσχέτιση ανάμεσα σε ένα πολυμορφισμό και ένα φαινότυπο (π.χ οστική πυκνότητα) δε σημαίνει ότι ο πολυμορφισμός προκαλεί νόσο (π.χ οστεοπόρωση). Μπορεί να αποτελεί δείκτη ενός μη εντοπισμένου πολυμορφισμού που προκαλεί νόσο στο ίδιο ή σε κοντινό γονίδιο (16). Τέλος έχουν διαπιστωθεί πολλές αλληλεπιδράσεις μεταξύ γονιδίων και μεταξύ γονιδίων και περιβαλλοντολογικών παραγόντων οι οποίες επηρεάζουν σε σημαντικό βαθμό το σκελετικό φαινότυπο και το κίνδυνο εμφάνισης οστεοπόρωσης. Οι

περισσότερες από αυτές είναι πολύ πολύπλοκες και για το λόγο αυτό δεν έχουν αναγνωριστεί και ερμηνευθεί.

ΕΙΚΟΝΑ 5.1: Χάρτης υποψήφιων για την οστεοπόρωση γονιδίων (15)



5.3 ΓΟΝΙΔΙΑ ΠΟΥ ΣΧΕΤΙΖΟΝΤΑΙ ΜΕ ΤΗΝ ΟΣΤΕΟΠΩΡΩΣΗ

Στη συνέχεια θα αναφερθούν τα γονίδια που σχετίζονται με τον οστικό φαινότυπο και οι πολυμορφισμοί αυτών που σχετίζονται με την οστεοπόρωση. Αξίζει να σημειωθεί ότι κάθε ένας από τους πολυμορφισμούς αυτούς ερμηνεύει ένα πολύ μικρό μέρος της κληρονομικής επίδρασης στην οστεοπόρωση και κανένας από αυτούς δε μπορεί να χρησιμοποιηθεί ανεξάρτητα ως γενετικός δείκτης για τη πρόβλεψη της οστεοπόρωσης (14).

5.3.1 ΓΟΝΙΔΙΟ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΤΗΣ ΒΙΤΑΜΙΝΗΣ D (Vitamin D Receptor Gene-VDR gene)

Ο υποδοχέας της βιταμίνης D είναι υπεύθυνος για το ευρύ πεδίο δράσης της βιταμίνης. Η βιταμίνη D έχει σημαντικό ρόλο στην απορρόφηση, στη μεταφορά και στην ομοιοστασία του ασβεστίου, στη ρύθμιση των επιπέδων του φωσφόρου, στην ενεργοποίηση της οστικής απορρόφησης και γενικά στη διατήρηση της ακεραιότητας του σκελετού, στη διαφοροποίηση των οστικών κυττάρων και στην έκκριση της παραθορμόνης (11, 14, 26). Ο γενετικός αυτός τύπος είναι από τους πρώτους που μελετήθηκαν. Έχουν εντοπιστεί 4 πολυμορφισμοί μεγέθους περιοριστικών τμημάτων (RLFP) στη 3΄περιοχή του VDR γονιδίου. Ο πρώτος πολυμορφισμός αναγνωρίζεται από το ένζυμο περιορισμού BsmI και βρίσκεται στο εσόνιο 8, ο δεύτερος αναγνωρίζεται από το ένζυμο ApaI, ο τρίτος αναγνωρίζεται από το TaqI και ο τέταρτος από το EcoRV (14, 15, 30). Ένας ακόμα πολυμορφισμός εντοπίζεται στη 5΄περιοχή του γονιδίου, στο εξόνιο 2 από το ένζυμο FokI. Αυτός ο πολυμορφισμός οδηγεί σε δημιουργία νέου κωδικονίου έναρξης και σε παραγόμενους υποδοχείς που διαφέρουν κατά 3 αμινοξέα (15, 16). Οι πολυμορφισμοί αυτοί φαίνεται να συσχετίζονται με την οστική πυκνότητα αλλά τα αποτελέσματα των ερευνών είναι αντιφατικά και δεν επιβεβαιώνονται από όλους τους ερευνητές (11, 31).

5.3.2 ΓΟΝΙΔΙΑ ΚΟΛΛΑΓΟΝΟΥ ΤΥΠΟΥ I (Collagen Type I Genes-COLLA genes)

Το κολλαγόνο τύπου I αποτελεί το κυριότερο συστατικό των πρωτεϊνών της θεμέλιας ουσίας του οστού (15). Τα γονίδια που κωδικοποιούν τη πρωτεΐνη αυτή είναι δυο, το COLLA 1 και το COLLA 2. Μεταλλάξεις στα γονίδια αυτά προκαλούν τη νόσο της ατελούς οστεογένεσης. Έχει εντοπιστεί ένας

πολυμορφισμός γουανίνης / θυμίνης (G/T) στη δεσμευτική για το μεταγραφικό παράγοντα SP1 περιοχή, στο πρώτο εσόνιο του COLLIA 1 γονιδίου. Ο πολυμορφισμός αυτός συσχετίζεται με την οστική μάζα, τα κατάγματα και τη πρόβλεψη των καταγμάτων ανεξάρτητα από την οστική μάζα (16). Θεωρείται πως ο πολυμορφισμός αυτός αποτελεί δείκτη αυξημένης οστικής απώλειας και λιγότερο δείκτη χαμηλής μέγιστης οστικής πυκνότητας (26). Ο μηχανισμός σύμφωνα με τον οποίο ο πολυμορφισμός αυτός εμπλέκεται με την οστική μάζα είναι ασαφής. Πιστεύεται όμως ότι επηρεάζει τη παραγωγή του κολλαγόνου τύπου I, την οστική ισχύ και τη συγγένεια σύνδεσης του SP1 με το DNA (15). Ο πολυμορφισμός αυτός φαίνεται πως έχει τη μεγαλύτερη ισχύ για κλινική χρήση στη πρόβλεψη των καταγμάτων σε σχέση με όλους τους υπόλοιπους πολυμορφισμούς (26). Άλλοι πολυμορφισμοί στο γονίδιο είναι δυο πολυμορφισμοί ενός νουκλεοτιδίου (SNP). Ο πρώτος εντοπίζεται στο νουκλεοτίδιο 1663 όπου υπάρχει η προσθήκη μιας θυμίνης (T) και ο δεύτερος στο νουκλεοτίδιο 1997 είναι πολυμορφισμός γουανίνης / θυμίνης (G/T) στη περιοχή του υποκινητή του γονιδίου. Ο πρώτος πολυμορφισμός δε φαίνεται να σχετίζεται άμεσα με την οστική πυκνότητα ενώ ο δεύτερος σχετίζεται με την οστική πυκνότητα στο άνω μέρος του μηριαίου οστού και στη οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης. Και οι δυο πάντως φαίνεται να αλληλεπιδρούν με το πολυμορφισμό SP1 (30). Στο γονίδιο COLLIA 2 δεν έχουν εντοπιστεί πολυμορφισμοί που να σχετίζονται με την οστεοπόρωση (11).

5.3.3 ΓΟΝΙΔΙΑ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΤΩΝ ΟΙΣΤΡΟΓΟΝΩΝ (Estrogen receptor Genes-ER genes)

Οι γεννητικές ορμόνες είναι σημαντικές για την επίτευξη της μέγιστης οστικής πυκνότητας και ελέγχουν την οστική ανακατασκευή. Η ανεπάρκεια των οιστρογόνων αυξάνει έμμεσα την οστική απορρόφηση και οδηγεί σε αυξημένο κίνδυνο καταγμάτων και οστεοπόρωσης τόσο στις γυναίκες όσο και στους άνδρες (27). Υπάρχουν δύο γονίδια του υποδοχέα των οιστρογόνων, το ER α και το ER β (11). Το ER α βρίσκεται στο χρωμόσωμα 6q25-27 (30). Στο γονίδιο αυτό έχουν εντοπιστεί τρεις πολυμορφισμοί που σχετίζονται με την οστεοπόρωση. Δυο πολυμορφισμοί στο πρώτο εσόνιο, ο πρώτος είναι μια αλλαγή θυμίνης σε κυτοσίνη (T→C) και αναγνωρίζεται από το ένζυμο PvuII και ο δεύτερος είναι μια αλλαγή αδενίνης σε κυτοσίνη (A→C) και αναγνωρίζεται από το ένζυμο XbaI. Ο

τρίτος πολυμορφισμός είναι μια δινουκλεοτιδική επανάληψη θυμίνης-αδενίνης [(TA)_n repeat] στον υποκινητή. Έρευνες έχουν αποδείξει ότι υπάρχουν αλληλεπιδράσεις των πολυμορφισμών αυτών μεταξύ τους που οδηγούν σε διαφορές στην οστική πυκνότητα. Οι μηχανισμοί σύμφωνα με τους οποίους οι πολυμορφισμοί αυτοί επηρεάζουν την οστική μάζα είναι ασαφείς. Πιστεύεται όμως ότι η θέση των TA επαναλήψεων (στον υποκινητή και κοντά στη ρυθμιστική περιοχή του γονιδίου) επηρεάζει τη λειτουργία του υποκινητή και/ή την μεταγραφή του mRNA (15, 16). Πρόσφατες έρευνες εντόπισαν μια CA επανάληψη (κυτοσίνη-αδενίνη) στο γονίδιο ER β που σχετίζεται με την οστική πυκνότητα. Πιο συγκεκριμένα παρατηρήθηκε ότι μεγαλύτερος αριθμός επαναλήψεων οδηγεί σε υψηλότερη οστική πυκνότητα (30). Στους άντρες μεταλλάξεις στα γονίδια ER οδηγούν σε παρατεταμένη οστική ανάπτυξη και οστεοπόρωση (11).

5.3.4 ΓΟΝΙΔΙΟ ΤΟΥ ΙΝΣΟΥΛΙΝΟΕΙΔΗ ΑΥΞΗΤΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ Ι (Insulin-like Growth Factor-I, IGF-I gene)

Ο ινσουλινοειδής αυξητικός παράγοντας Ι είναι ένας σημαντικός παράγοντας για την ανάπτυξη των οστών καθώς διεγείρει τη διαφοροποίηση των χονδροκυττάρων στις επιφύσεις των οστών, διεγείρει τους οστεοβλάστες, αυξάνει τη σύνθεση κολλαγόνου, τη δραστηριότητα της αλκαλικής φωσφατάσης και τη παραγωγή οστεοκαλσίνης. Ενισχύει τον οστικό αναβολισμό (τη σύνθεση σπογγώδους και φλοιώδους ιστού) τόσο στη διάρκεια της ανάπτυξης όσο και στη διάρκεια της ενήλικης ζωής. Δρα επίσης άμεσα στα νεφρικά κύτταρα προκαλώντας επαναρρόφηση των φωσφορικών και αυξημένη σύνθεση καλσιτριόλης. Ένας πολυμορφισμός έχει εντοπιστεί στο γονίδιο IGF-I. Πρόκειται για μια δινουκλεοτιδική επαναληπτική ακολουθία κυτοσίνης-αδενίνης [(CA)_n repeat] κοντά στον υποκινητή, 1 kb από το σημείο έναρξης της μεταγραφής. Ο αριθμός των επαναλήψεων σχετίζεται χαμηλά επίπεδα IGF ορού. Τα χαμηλά επίπεδα IGF-I σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο οστεοπορωτικών καταγμάτων ανεξάρτητα από την οστική μάζα. Όμως η συσχέτιση του πολυμορφισμού αυτού με την μέγιστη οστική πυκνότητα και με τον αυξημένο κίνδυνο καταγμάτων δεν είναι επιβεβαιωμένη (14, 16).

5.3.5 ΓΟΝΙΔΙΟ ΤΟΥ ΜΕΤΑΤΡΕΠΤΙΚΟΥ ΑΥΞΗΤΙΚΟΥ ΠΑΡΑΓΟΝΤΑ β (Transforming Growth Factor beta-TGF β gene)

Ο μετατρεπτικός αυξητικός παράγοντας ρυθμίζει τη δραστηριότητα των οστεοβλαστών και των οστεοκλαστών. Απελευθερώνεται από τη θεμέλια ουσία κατά τη διάρκεια της οστικής ανακατασκευής και επιδρά σαν τοπικός ρυθμιστής της σύζευξης οστεοβλαστών και οστεοκλαστών. Η αντικατάσταση θυμίνης από κυτοσίνη (T→C) στο εξόνιο 1 του γονιδίου σχετίζεται με το ρυθμό οστικής απώλειας, με την ανταπόκριση στη βιταμίνη D και αποτελεί ανεξάρτητο παράγοντα κινδύνου για ανάπτυξη οστεοπόρωσης. Η απώλεια μιας κυτοσίνης (C) στο εσόνιο 4 οδηγεί σε πολυμορφισμό που σχετίζεται με σοβαρής μορφής οστεοπόρωση και αυξημένο οστικό μεταβολισμό (14, 16, 26). Επιπλέον η αλλαγή κυτοσίνης σε θυμίνη (C→T) στο εσόνιο 5 σχετίζεται με την οστική πυκνότητα στο άνω άκρο του μηριαίου οστού (30).

5.3.6 ΓΟΝΙΔΙΟ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΤΗΣ ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗΣ 1 (IL-1ra gene)

Η ιντερλευκίνη 1 είναι ένας ισχυρός διεγέρτης της οστικής απορρόφησης που δρα άμεσα στους οστεοκλάστες και στα πρόδρομα των οστεοκλαστών κύτταρα. Στο γονίδιο του υποδοχέα της ιντερλευκίνης 1 (IL-1ra) έχει εντοπιστεί ένας πολυμορφισμός μεγέθους (VNTR) στο εσόνιο 2 που σχετίζεται με την οστική απώλεια και με αυξημένο κίνδυνο οστεοπορωτικών καταγμάτων (16).

5.3.7 ΓΟΝΙΔΙΟ ΙΝΤΕΡΛΕΥΚΙΝΗΣ 6 (IL-6 gene)

Η ιντερλευκίνη 6 είναι μια κυτοκίνη που επιδρά σημαντικά στη διαφοροποίηση των οστεοκλαστών, στη λειτουργία τους και θεωρείται ως μεσολαβητής ορισμένων επιδράσεων των οιστρογόνων στα οστά. Οι πολυμορφισμοί που έχουν εντοπιστεί στο IL-6 γονίδιο περιλαμβάνουν ένα πολυμορφισμό μεγέθους στη 3' περιοχή του γονιδίου, μια δινουκλεοτιδική επαναληπτική ακολουθία κυτοσίνης-αδενίνης [(CA)_n repeat], ένα πολυμορφισμό κυτοσίνης/γουανίνης (C/G) στη περιοχή του υποκινητή που αναγνωρίζεται από το ένζυμο BsrBI και μια αντικατάσταση γουανίνης/κυτοσίνης (G→C) στο αμινοξύ 174.Ο τελευταίος σχετίζεται με την οστική απορρόφηση (30).

5.3.8 ΓΟΝΙΔΙΟ ΤΗΣ ΠΑΡΑΘΟΡΜΟΝΗΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΤΗΣ (PTH gene και PTHrP gene)

Η παραθορμόνη είναι η κύρια ορμόνη ρύθμισης της ομοιοστασίας του ασβεστίου. Ο αναγνωρίσιμος από το ένζυμο BstBI πολυμορφισμός εσονίου του γονιδίου της παραθορμόνης φαίνεται να σχετίζεται με την οστική πυκνότητα, τον οστικό μεταβολισμό, την οστική γεωμετρία στη μετακάρπια διάμετρο και με τη σχετιζόμενη με την ηλικία απώλεια φλοιώδους οστού (30).

Σχετικά με το γονίδιο του υποδοχέα της παραθορμόνης, παρόλο που έχουν εντοπιστεί πολυμορφικοί μικροδορυφορικοί δείκτες σε γειτονική του PTHrP γονιδίου που ταυτοποιούν το τόπο αυτό σαν πιθανό ρυθμιστή της οστικής μάζας, μέχρι σήμερα κανένας από αυτούς τους πολυμορφισμούς δεν έχει συσχετιστεί άμεσα με αυτήν (11, 14)

5.3.9 ΓΟΝΙΔΙΟ ΟΣΤΕΟΚΑΛΣΙΝΗΣ

Η οστεοκαλσίνη είναι μια πρωτεΐνη της θεμέλιας ουσίας του οστού. Ένας πολυμορφισμός που αναγνωρίζεται από το ένζυμο HindIII σχετίζεται με τη βραχύνια οστική πυκνότητα σε ενήλικες γυναίκες. Επίσης ένας πολυμορφικός μικροδορυφορικός δείκτης του γονιδίου σχετίζεται αρνητικά με την οστική πυκνότητα (30).

5.3.10 ΓΟΝΙΔΙΟ ΚΑΛΣΙΤΟΝΙΝΗΣ ΚΑΙ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΤΗΣ ΚΑΛΣΙΤΟΝΙΝΗΣ (CT gene και CTR gene)

Η καλσιτονίνη είναι μια πολυπεπτιδική ορμόνη. Ανήκει στις ασβεστιοτρόπους ορμόνες. Αναστέλλει την οστεοκλαστική οστική απορρόφηση και διεγείρει την έκκριση του ασβεστίου στους νεφρούς. Έχει εντοπιστεί ένας πολυμορφισμός στο γονίδιο της καλσιτονίνης που φαίνεται σε μια έρευνα να συσχετίζεται με την οσφυϊκή οστική πυκνότητα. Στο γονίδιο του υποδοχέα της καλσιτονίνης έχουν εντοπιστεί δυο πολυμορφισμοί που σχετίζονται με την οστική πυκνότητα και το κίνδυνο καταγμάτων. Ο πρώτος είναι μια αντικατάσταση θυμίνης από κυτοσίνη (T→C) αναγνωρίζεται από το ένζυμο AluI και ένας ακόμα που αναγνωρίζεται από το ένζυμο TaqI (30). Τα δυο γονίδια και οι πολυμορφισμοί αυτών περιγράφονται αναλυτικά στα ακόλουθα κεφάλαια.

5.3.11 ΑΛΛΑ ΓΟΝΙΔΙΑ

Πολυμορφισμοί στο γονίδιο της α₂-HS-γλυκοπρωτεΐνης (πρωτεΐνη της θεμέλιας ουσίας του οστού) φαίνεται να σχετίζονται με την οστική πυκνότητα και με τη παρουσία διαφόρων οστικών φαινοτύπων (11, 30). Πολυμορφισμοί μεγέθους [(AGC)_n] στο γονίδιο του υποδοχέα των ανδρογόνων με την οστική πυκνότητα (14). Πολυμορφισμός στο γονίδιο της απολιποπρωτεΐνης E₄ (Apo E₄) σχετίζονται με μειωμένη οστική πυκνότητα οσφυϊκής μοίρας της σπονδυλικής στήλης, με υψηλό οστικό μεταβολισμό και αυξημένη οστική απώλεια (30).

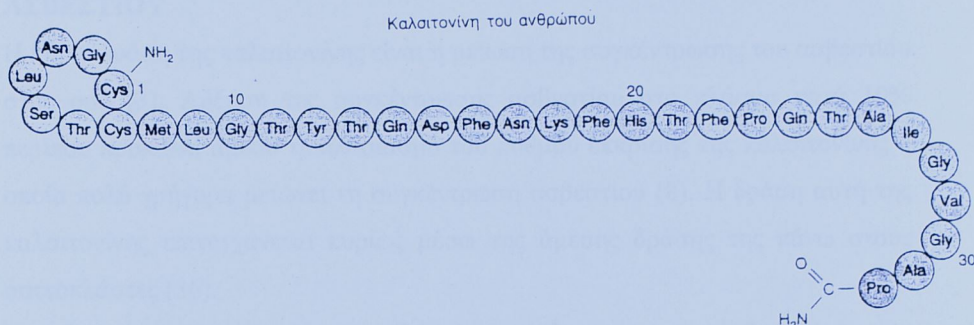
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6: ΚΑΛΣΙΤΟΝΙΝΗ

6.1 ΔΟΜΗ ΚΑΛΣΙΤΟΝΙΝΗΣ

Η καλσιτονίνη ανακαλύφθηκε το 1961 από τους Harold Copp et al. Είναι μια πεπτιδική ορμόνη, μεγάλου μοριακού βάρους, περίπου 3,4 Kda που αποτελείται από 32 αμινοξέα (32). Παράγεται από τα παραθυλακιώδη κύτταρα ή κύτταρα C του διάμεσου ιστού του θυρεοειδούς αδένος (33). Τα κύτταρα C είναι μικρά, ατρακτόμορφα ή πολυγωνικά κύτταρα. Περιέχουν άφθονα κοκκία, μιτοχόνδρια και καλά αναπτυγμένη συσκευή Golgi. Είναι νευροενδοκρινικά κύτταρα, συνιστούν λιγότερο από 0,1% της μάζας του θυρεοειδούς αδένος και κατανέμονται στη κεντρική μοίρα των λοβών του θυρεοειδούς και κυρίως στο άνω και μέσο τριτημόριο του λοβού (3).

Το μόριο της καλσιτονίνης στο αμινοτελικό άκρο του φέρει μια δισουλφιδική γέφυρα και στο καρβοξυτελικό άκρο ένα μόριο αμινοπρολίνης (εικόνα 6.1). Και στα δύο άκρα του μορίου περιέχονται υπολείμματα που είναι απαραίτητα για την υψηλής τάσης σύνδεσης του με τον υποδοχέα της καλσιτονίνης. Η ελαστικότητα της διαμόρφωσης κάθε μορίου καλσιτονίνης είναι ένας από τους πρωταρχικούς παράγοντες καθορισμού της βιολογικής ισχύς του μορίου. Η ελαστικότητα εξαρτάται κυρίως από τον όγκο των πλαϊνών αλυσίδων των αμινοξέων. Έτσι η καλσιτονίνη ψαριών όπως του σολομού, που περιέχουν σε μεγάλο ποσοστό γλυκίνη και γενικά αμινοξέα με λιγότερο ογκώδη άκρα, είναι βιολογικά ισχυρότερες (~ 40 φορές) από τις καλσιτονίνες των θηλαστικών. Γι' αυτό στα φαρμακευτικά σκευάσματα καλσιτονίνης χρησιμοποιούνται ανάλογα της καλσιτονίνης σολομού (34). Η βιολογική ισχύς του μορίου επηρεάζεται σημαντικά και από άλλες αλλαγές της πρωτοταγούς δομής. Έτσι η αφαίρεση του καρβοξυτελικού μορίου αμινοπρολίνης, η αποκοπή της δισουλφιδικής γέφυρας και η περικοπή του καρβοξυτελικού άκρου μειώνουν τη βιολογική δραστηριότητα του μορίου. Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι σημαντικό ρόλο στην ικανότητα δέσμευσης του μορίου της καλσιτονίνης στον υποδοχέα της έχουν η δευτεροταγής και τριτοταγής δομή του μορίου (35).

ΕΙΚΟΝΑ 6,1: Αλληλουχία αμινοξέων στο μόριο της καλσιτονίνης του ανθρώπου. Διακρίνεται η δισουλφιδική γέφυρα στο αμινοτελικό άκρο και το μόριο αμινοπρολίνης στο καρβοξυτελικό άκρο (3).



6.2 ΓΟΝΙΔΙΟ ΚΑΛΣΙΤΟΝΙΝΗΣ

Το γονίδιο της καλσιτονίνης είναι ένα σύμπλοκο που αποτελείται από δύο γονίδια, το α και το β γονίδιο. Και τα δύο γονίδια βρίσκονται στο χρωμόσωμα 11 ανάμεσα στα γονίδια της καταλάσης και της παραθορμόνης στον άνθρωπο. Το γονίδιο α έχει 6 εξόνια. Με μάτισμα στο εξόνιο 4 παράγεται η καλσιτονίνη ενώ με μάτισμα στο εξόνιο 6 παράγεται το σχετιζόμενο με το γονίδιο της καλσιτονίνης πεπτίδιο (Calcitonin Gene-Related Peptide, CGRP) (35). Στα κύτταρα C παράγεται αποκλειστικά σχεδόν καλσιτονίνη ενώ στο κεντρικό και περιφερικό νευρικό σύστημα παράγεται CGRP (32). Ο φυσιολογικός ρόλος του CGRP δεν έχει ξεκαθαριστεί. Θεωρείται όμως ότι έχει επίδραση στο κυκλοφορικό σύστημα ως αγγειοδιασταλτικό και στο νευρικό σύστημα ως νευροπεπτίδιο (3, 35). Υπάρχουν αποσπασματικές ενδείξεις ότι το CGRP δρα και στα οστά και συγκεκριμένα αναστέλλει την οστική απορρόφηση και διεγείρει την οστική σύνθεση σε ποσότητες πολύ μεγαλύτερες από τις φυσιολογικές (32). Το β γονίδιο είναι παρόμοιο οργανωμένο με το γονίδιο α αλλά διαφέρει σημαντικά στις 3', 5' μη κωδικοποιούμενες περιοχές και παράγει μόνο το β-CGRP (35).

Έχει εντοπιστεί ένας πολυμορφισμός στο γονίδιο της καλσιτονίνης. Μια επαναλαμβανόμενη αλληλουχία κυτοσίνης-αδενίνης (CA repeat) αποτελεί το πολυμορφισμό αυτό. Ο πολυμορφισμός φαίνεται να συσχετίζεται με την οσφυϊκή οστική πυκνότητα σε μεταεμμηνοπαυσιακές γυναίκες στην Ιαπωνία (30).

6.3 ΔΡΑΣΕΙΣ ΚΑΛΣΙΤΟΝΙΝΗΣ

6.3.1 ΔΡΑΣΗ ΚΑΛΣΙΤΟΝΙΝΗΣ ΣΤΗΝ ΟΜΟΙΟΣΤΑΣΙΑ ΤΟΥ ΑΣΒΕΣΤΙΟΥ

Η κύρια δράση της καλσιτονίνης είναι η μείωση της συγκέντρωσης του ασβεστίου στον ορό (3). Αύξηση της συγκέντρωσης ασβεστίου στο πλάσμα κατά 10% περίπου προκαλεί άμεσο τριπλασιασμό του ρυθμού έκκρισης της καλσιτονίνης η οποία πολύ γρήγορα μειώνει τη συγκέντρωση ασβεστίου (8). Η δράση αυτή της καλσιτονίνης επιτυγχάνεται κυρίως μέσω της άμεσης δράσης της πάνω στους οστεοκλάστες (36).

Η καλσιτονίνη δεσμεύεται με υψηλή τάση σύνδεσης στους υποδοχείς της στη κυτταρική μεμβράνη των οστεοκλαστών. Η σύνδεση αυτή ενεργοποιεί κυτταρικούς μηχανισμούς (που αναφέρονται στο επόμενο κεφάλαιο) και προκαλεί την αντίδραση των οστεοκλαστών. Η αντίδραση αυτή σε πρώτη φάση περιλαμβάνει την πολύ γρήγορη και μεγάλη μείωση της κινητικότητας των κυττάρων. Στη συνέχεια με πιο αργό ρυθμό μειώνονται οι κροσσοί στη κροσσωτή επιφάνεια των κυττάρων και κατά συνέπεια μειώνεται σημαντικά η επιφάνεια επαφής τους με το οστό. Επιπλέον αναστέλλεται η εκκριτική τους δραστηριότητα και σταματά η έκκριση των οστεολυτικών ενζύμων που είναι απαραίτητα για την οστική απορρόφηση (35). Η καλσιτονίνη εμποδίζει και το σχηματισμό νέων οστεοκλαστών δρώντας απευθείας στα πρόδρομα των οστεοκλαστών κύτταρα (8, 21). Με αυτούς τους μηχανισμούς η καλσιτονίνη αναστέλλει την οστική απορρόφηση από τους οστεοκλάστες και κατά συνέπεια την απελευθέρωση ιόντων ασβεστίου (35).

Εκτός από την άμεση δράση της πάνω στους οστεοκλάστες, είναι γνωστό ότι προκαλεί άμεση καταστολή της απελευθέρωσης ασβεστίου και φωσφόρου από τα οστά. Επίσης δρα και στους νεφρούς όπου υπάρχουν υποδοχείς της. Η δράση της στους νεφρούς είναι μάλλον περιορισμένη και αφορά την πρόκληση μικρού βαθμού έκκρισης ασβεστίου και φωσφόρου στα ούρα (3, 29).

Συνεπώς μέσω αυτών των δράσεών της η καλσιτονίνη προκαλεί μείωση της συγκέντρωσης του ασβεστίου στο πλάσμα. Ο μηχανισμός της καλσιτονίνης λειτουργεί με μεγάλη ταχύτητα και δρα κυρίως ως βραχυπρόθεσμος ρυθμιστής

της ομοιοστασίας του ασβεστίου. Η μακροπρόθεσμη δράση της είναι πολύ μικρή και έτσι ο κύριος μηχανισμός ρύθμισης του ασβεστίου είναι η παραθορμόνη (3).

6.3.2 ΑΛΛΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΤΗΣ ΚΑΛΣΙΤΟΝΙΝΗΣ ΣΤΑ ΟΣΤΑ

Εκτός από την αναστολή της οστικής απορρόφησης έχει παρατηρηθεί και αύξηση της οστικής πυκνότητας μετά από χορήγηση καλσιτονίνης. Ο λόγος για τον οποίο συμβαίνει αυτό είναι δυσεξήγητος (4). Υπάρχουν ενδείξεις ότι η καλσιτονίνη αλληλεπιδρά και με τους οστεοβλάστες όμως δεν υπάρχουν αποδείξεις και η αλληλεπίδραση αυτή παραμένει ασαφής (35). Επιπλέον η επίδραση της καλσιτονίνης στην οστική πυκνότητα συνοδεύεται από ανάλογη αύξηση της μηχανικής αντοχής των οστών και μείωση του αριθμού των καταγμάτων του αξονικού σκελετού (4). Είναι γνωστό επίσης ότι η καλσιτονίνη αυξάνει την έκφραση του γονιδίου του ενζύμου 1-α υδροξυλάση της 25-διυδροξύ-βιταμίνης D₃. Το ένζυμο αυτό, στους νεφρούς, καταλύει τη μετατροπή της 25-διυδροξύ-βιταμίνης D₃ σε 1,25-διυδροξύ-βιταμίνη D₃, που είναι η δραστική μορφή της βιταμίνης D. Αυξάνοντας έτσι την παραγωγή βιταμίνης D, η καλσιτονίνη επηρεάζει έμμεσα την διαδικασία της οστικής ανακατασκευής (29, 35).

Η καλσιτονίνη αν και αναστέλλει την οστεοκλαστική δραστηριότητα φαίνεται πως ευνοεί την επιβίωση των κυττάρων αυτών (4). Υπάρχουν έρευνες που αποδεικνύουν ότι η καλσιτονίνη αφενός ευνοεί την επιβίωση των οστεοκλαστών (36) και αφετέρου εμποδίζει την οστεοκλαστική απόπτωση και συνεπώς το θάνατο των οστεοκλαστών (37).

Επιπλέον έχει παρατηρηθεί ότι κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης, του θηλασμού και της ανάπτυξης αυξάνονται τα επίπεδα καλσιτονίνης ορού. Η αύξηση αυτή σε περιόδους υψηλών απαιτήσεων σε ασβέστιο εξυπηρετεί τη διατήρηση του σκελετού περιορίζοντας τη σκελετική απώλεια (34).

Είναι ενδιαφέρον να αναφερθεί ότι η έλλειψη καλσιτονίνης δεν οδηγεί σε κάποια αναγνωρίσιμη διαταραχή. Άτομα που έπειτα από ολική θυρεοειδεκτομή χάνουν όλα τα λειτουργικά κύτταρα C, δεν έχουν ανάγκη από αναπλήρωση της καλσιτονίνης, δεν παρουσιάζουν διαταραχές στην ομοιοστασία του ασβεστίου και δεν παρουσιάζουν συχνότερα οστεοπόρωση (1, 3). Επίσης σε περιπτώσεις υπερκαλσιτονιναιμίας (π.χ σε κακοήγη νεοπλασία των κυττάρων C) δεν εμφανίζεται μεταβολική διαταραχή του ασβεστίου ούτε οστική νόσος (13). Από τα παραπάνω φαίνεται ότι ο σαφείς ρόλος της καλσιτονίνης στην ομοιοστασία του

ασβεστίου και στον οστικό μεταβολισμό δεν είναι γνωστός και υπάρχουν αρκετοί τομείς που παραμένουν αδιευκρίνιστοι (4).

6.3.3 ΑΝΑΛΓΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΚΑΛΣΙΤΟΝΙΝΗΣ

Η καλσιτονίνη έχει σημαντική αναλγητική δράση η οποία εξαρτάται από τη χορηγούμενη μορφή και τη δόση. Η αναλγητική της δράση είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική στην ανακούφιση του οστικού πόνου. Χρησιμοποιείται για αναλγησία σε οστικές παθήσεις όπως είναι η νόσος Paget, η οστεοπόρωση και οι μεταστατικές νόσοι στα οστά. Η αναλγητική της δράση στα οστά είναι ανεξάρτητη της δράσης της στους οστεοκλάστες και στην οστική απορρόφηση (38). Ειδικά στην περίπτωση οστεοπορωτικών καταγμάτων πολλές έρευνες δείχνουν ότι η ισχυρή αναλγητική της καλσιτονίνης οδηγεί σε καλύτερη έκβαση. Οι ασθενείς αντιμετωπίζουν το πόνο πιο αποτελεσματικά, επανακτούν πιο γρήγορα την κινητικότητά τους, περιορίζονται οι συνέπειες των καταγμάτων (ακινησία, νοσηρότητα, θνησιμότητα) και βελτιώνεται η ποιότητα ζωής τους (39, 40). Η καλσιτονίνη είναι αποτελεσματική και σε άλλα είδη πόνου. Σε περιπτώσεις ημικρανίας συμβάλλει στη μείωση της συχνότητας των επεισοδίων πόνου (38). Χρησιμοποιείται επίσης για την αντιμετώπιση του πόνου από ακρωτηριασμό κάτω άκρου, αλγοδυστροφίας και άλλων επώδυνων μετατραυματικών καταστάσεων (39).

Ο μηχανισμός με τον οποίο η καλσιτονίνη προκαλεί αναλγησία δεν είναι εξακριβωμένος. Έχουν διατυπωθεί μόνο κάποιες υποθέσεις. Υπάρχει η άποψη ότι η καλσιτονίνη δρα απευθείας σε κέντρο αντίληψης του πόνου στο κεντρικό νευρικό σύστημα, καθώς έχουν εντοπιστεί στο κέντρο αυτό υποδοχείς της καλσιτονίνης. Άλλη ερμηνεία είναι ότι η καλσιτονίνη διεγείρει την έκκριση β-ενδορφινών και προκαλεί ενεργοποίηση των υποδοχέων των οπιούχων. Η άποψη αυτή υποστηρίζεται από το γεγονός ότι η καλσιτονίνη αποδεδειγμένα αυξάνει τα επίπεδα β-ενδορφινών καθώς επίσης και από το γεγονός ότι υπάρχουν πολλές ομοιότητες στην αναλγησία που προκαλείται από μορφίνη και σε εκείνη που προκαλείται από καλσιτονίνη. Άλλες υποθέσεις υποστηρίζουν ότι η αναλγητική δράση της καλσιτονίνης οφείλεται στην αναστολή της σύνθεσης προσταγλανδινών και θρομβοξανών, σε εμπλοκή του χολινεργικού ή του σεροτονινεργικού συστήματος ή στην προκαλούμενη υπασβεσταιμία (38, 39).

6.3.4 ΑΛΛΕΣ ΔΡΑΣΕΙΣ ΤΗΣ ΚΑΛΣΙΤΟΝΙΝΗΣ

Υποδοχείς της καλσιτονίνης έχουν εντοπιστεί σε αρκετά σημεία του κεντρικού νευρικού συστήματος που σχετίζονται με την όρεξη, την κατανάλωση νερού και φαγητού και την γαστρική εκκριτική λειτουργία. Πιο συγκεκριμένα, η καλσιτονίνη προκαλεί καταστολή της όρεξης, των γαστρικών εκκρίσεων και της πρόσληψης τροφής (41, 38). Τέλος, έχει αναφερθεί ότι η καλσιτονίνη μέσω της επίδρασής της στο κεντρικό νευρικό σύστημα επιφέρει μείωση των επιπέδων πολλών αυξητικών παραγόντων και στη δραστηριότητα της αυξητικής ορμόνης και φαίνεται να έχει περιοριστική επίδραση στην αύξηση των καρκινικών κυττάρων του στήθους και πιθανόν και άλλων ιστών (4, 35).

6.4 ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΕΣ ΧΡΗΣΕΙΣ ΚΑΛΣΙΤΟΝΙΝΗΣ

Η καλσιτονίνη χρησιμοποιείται εδώ και πολλά χρόνια ως θεραπεία για διαταραχές των οστών και του οστικού μεταβολισμού, κυρίως λόγω της ισχυρής ανασταλτικής δράσης της στην οστεοκλαστική οστική απορρόφηση (35). Χρησιμοποιείται αποτελεσματικά σε διαταραχές όπως είναι η νόσος Paget, η υπερασβαστιαμία λόγω κακοήθειας, η οστεοπόρωση (42) και η ατελής οστεογένεση (34). Ενδιαφέρουσες είναι οι εφαρμογές της καλσιτονίνης σε διάφορες ορθοπεδικές παθήσεις. Επειδή η καλσιτονίνη προάγει τη δευτερογενή πόρωση των καταγμάτων, χρησιμοποιείται σε ασθενείς με κατάγματα κυρίως του άνω άκρου του μηριαίου οστού, με σκοπό τη ταχύτερη πόρωσή τους και την αναστολή της οστικής απώλειας που ακολουθεί (4). Η καλσιτονίνη χρησιμοποιείται θεραπευτικά και ως αναλγητικό όπως αναφέρθηκε παραπάνω.

Τα φαρμακευτικά σκευάσματα καλσιτονίνης περιέχουν ανάλογα της καλσιτονίνης σολομού (sCT). Αυτό συμβαίνει γιατί όπως προαναφέρθηκε η sCT είναι βιολογικά ισχυρότερη και έχει μεγαλύτερη τάση δέσμευσης με τους υποδοχείς από την ανθρώπινη. Οι θεραπευτικές δόσεις sCT που χρησιμοποιούνται ξεπερνούν σαφώς τα επίπεδα της ενδογενούς καλσιτονίνης (43).

Οι οδοί και τα σχήματα χορήγησης της καλσιτονίνης ποικίλουν. Λόγω της πολυπεπτιδικής της φύσης η καλσιτονίνη δεν μπορεί να χορηγηθεί από του στόματος γιατί οι αμινιπεπτιδάσες και οι πρεωτεάσες του γαστρεντερικού σωλήνα την διασπούν. Οι συνηθισμένες οδοί χορήγησης είναι η παρεντερική (υποδόρια ή ενδομυϊκή) και η ενδορρινική (20, 40). Τα θεραπευτικά σχήματα που χρησιμοποιούνται είναι η συνεχής (καθημερινή) χορήγηση, η διαλείπουσα (ανά 2

ημέρες, 3 ή 5 φορές την εβδομάδα) και η κυκλική (ένας μήνας θεραπείας και ένας μήνας κενός επαναλαμβανόμενα) (43).

Η υποδόρια και η ενδομυϊκή χορήγηση έχουν αρκετές καλοήθειες αλλά ενοχλητικές ανεπιθύμητες ενέργειες λόγω της γρήγορης αύξησης στα επίπεδα καλσιτονίνης του πλάσματος που επιφέρουν (43). Οι πιο συχνές είναι γαστρεντερικές διαταραχές όπως ναυτία, εμετός, διάρροια, πόνος στο επιγάστριο αλλά και αγγειοκινητικές διαταραχές, έξαψη, ελαφρά υπέρταση, αίσθημα δυσάρεστης γεύσης, μούδιασμα των χεριών (19) και αύξηση της διούρησης στους άντρες (44). Η ενδορρινική χρήση εμφανίζει λιγότερες ανεπιθύμητες ενέργειες. Αυτό συμβαίνει γιατί η επιτυγχανόμενη στάθμη καλσιτονίνης στο αίμα που προκαλεί είναι χαμηλότερη και πιο σταθερή (4). Οι πιο συχνές είναι ρινίτιδα, ερεθισμός του ρινικού βλεννογόνου, ξηρότητα ή απόφραξη της μύτης, εξάψεις, πονοκέφαλος, ναυτία, διάρροια (17, 19, 45). Έχουν αναφερθεί σπάνιες περιπτώσεις αλλεργίας και αναφυλακτικού shock και από τις τρεις οδούς χορήγησης. Γενικά όμως οι ανεπιθύμητες ενέργειες της χορήγησης καλσιτονίνης είναι μικρής ως μέτριας σοβαρότητας (45).

Ανοχή στη δράση της καλσιτονίνης εμφανίζεται σε ποσοστό 20% των ασθενών και μπορεί να αναπτυχθεί σε όλες τις μορφές καλσιτονίνης. Η ανοχή μπορεί να οφείλεται σε παραγωγή αντισωμάτων ή σε άλλους λόγους. Η sCT προκαλεί τη παραγωγή αντισωμάτων σε ποσοστό 70% των ασθενών. Όμως η κλινική σημασία του φαινομένου αυτού φαίνεται πως είναι μικρή και δεν επηρεάζει την απόκριση των ασθενών στη καλσιτονίνη (43, 44). Επιπλέον, όταν έχουν παραχθεί αντισώματα για ένα είδος καλσιτονίνης ο ασθενής ανταποκρίνεται σε καλσιτονίνες άλλων ειδών. Ένας ακόμα λόγος για την εμφάνιση ανοχής στη δράση της καλσιτονίνης είναι η ανάπτυξη του φαινομένου της «διαφυγής», δηλ. η παρατηρούμενη αύξηση της οστικής απορρόφησης παρά τη διαρκή παρουσία συγκεντρώσεων καλσιτονίνης. Η παρατεταμένη χορήγηση καλσιτονίνης οδηγεί σε μείωση της ανταπόκρισης των οστεοκλαστών σε αυτή (44). Αυτό συμβαίνει λόγω φαινομένων ελάττωσης της ευαισθησίας ή του αριθμού των υποδοχέων της καλσιτονίνης στους οστεοκλάστες (33, 46). Πιθανός μηχανισμός για τη δράση αυτή είναι η αύξηση της αποσύνθεσης του mRNA των υποδοχέων στους οστεοκλάστες παρουσία φαρμακευτικών δόσεων καλσιτονίνης. Το φαινόμενο αυτό σταματάει όταν διακόπτεται η χορήγηση καλσιτονίνης και η λειτουργικότητα και ο αριθμός των υποδοχέων επανέρχεται στο φυσιολογικό

(44). Για την αποφυγή του φαινομένου αυτού προτιμάται η διαλείπουσα και η κυκλική χορήγηση. Σε αυτά τα σχήματα η επίδραση της καλσιτονίνης στους υποδοχείς της δεν είναι συνεχής και έτσι περιορίζεται σημαντικά η συχνότητα εμφάνισης του φαινομένου διαφυγής, χωρίς να επηρεάζεται η απόδοση της θεραπείας, όπως υποδεικνύεται από πολλές έρευνες (43, 46, 47, 48).

6.4.1 ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΟΣΤΕΟΠΩΡΩΣΗΣ ΜΕ ΚΑΛΣΙΤΟΝΙΝΗ

Η καλσιτονίνη χρησιμοποιείται ως θεραπεία για την οστεοπόρωση από το 1976. Ένας από τους βασικούς λόγους της ευρείας χρησιμοποίησης της καλσιτονίνης είναι η εμφάνιση λιγότερων ανεπιθύμητων ενεργειών σε σχέση με τις άλλες θεραπείες που χρησιμοποιούνται για την οστεοπόρωση (40).

Αρχικά η καλσιτονίνη κυκλοφόρησε σε ενέσιμη μορφή για παρεντερική χορήγηση. Στις αρχές της δεκαετίας του '90 κυκλοφόρησε και σε μορφή σπρέι για ενδορρινική χορήγηση. Λόγω του υψηλού κόστους και των πρακτικών δυσκολιών χορήγησης του ενέσιμου σκευάσματος, η μορφή σπρέι έχει καθιερωθεί στις περισσότερες χώρες. Η ενέσιμη μορφή χρησιμοποιείται σπάνια και μόνο για νοσοκομειακή χρήση (7).

Το ενδορρινικό σκεύασμα ενδείκνυται για θεραπεία σε γυναίκες με εγκατεστημένη οστεοπόρωση-συνήθως η θεραπεία ξεκινά 5 χρόνια μετά την εμμηνόπαυση. Αποτελεί τη θεραπευτική επιλογή για άτομα που δεν επιθυμούν, δεν ανέχονται ή στα οποία αντενδείκνυται η θεραπεία με οιστρογόνα (π.χ σε άτομα με ιστορικό καρκίνου του στήθους) (43). Συνστήνεται η πρόσληψη συμπληρώματος ασβεστίου (500-1500 mg) και βιταμίνης D (400-800 U) ημερησίως συμπληρωματικά της θεραπείας με καλσιτονίνη. Η συνήθης δόση είναι 200 IU καλσιτονίνης ανά ημέρα (7, 19), όμως η ιδανική θεραπευτική δοσολογία και σχήμα δεν έχουν καθοριστεί (43).

Όσον αφορά την αποτελεσματικότητα της καλσιτονίνης ως θεραπευτικό μέτρο για την οστεοπόρωση υπάρχουν πολλά αντικρουόμενα στοιχεία. Γενικά οι θεραπείες που χρησιμοποιούνται για την οστεοπόρωση αξιολογούνται βάση της επίδρασής τους στην οστική μάζα και στην εμφάνιση νέων καταγμάτων. Η ενδορρινική καλσιτονίνη με μια μόνο εφαρμογή 200 IU προκαλεί άμεση αναστολή παραμέτρων της οστικής απορρόφησης αλλά όχι της οστικής σύνθεσης. Παρατεταμένη χορήγηση της ίδιας δόσης φαίνεται να αυξάνει την οστική πυκνότητα της οσφυϊκής μοίρας της σπονδυλικής στήλης σε

μεταεμμηνοπαυσιακές γυναίκες σε ποσοστό που ποικίλει μεταξύ των ερευνών (1,7%-3,3%) (43, 46, 59). Επιπλέον, μια έρευνα σε ίδιο πληθυσμό και με ίδια δόση έδειξε αύξηση της οστικής πυκνότητας αλλά κυρίως μείωση του βάθους της απορρόφησης οστού από οστεοκλάστες μέσω ιστολογικών εξετάσεων (48). Όμως έρευνες σε γυναίκες σε περιεμμηνοπαυσιακή περίοδο έδειξαν ότι χορήγηση 100 IU καλσιτονίνης ημερησίως δεν είχε καμία επίδραση στη οστική μάζα (47). Αυτό το αποτέλεσμα δείχνει ότι η καλσιτονίνη είναι πιο αποτελεσματική σε άτομα με αυξημένη οστεοκλαστική δραστηριότητα και οστική απώλεια (όπως συμβαίνει στη περίοδο μετά την εμμηνόπαυση). Στις έρευνες που χρησιμοποιήθηκε σχήμα διαλείπουσας ή κυκλικής χορήγησης καλσιτονίνης, η αποτελεσματικότητα της παρατεταμένης θεραπείας δεν επηρεάστηκε από φαινόμενα ανοχής ή διαφυγής. Το κέρδος σε οστική μάζα που παρατηρείται κατά τη θεραπεία δεν διατηρείται μετά τη διακοπή του φαρμάκου όμως δεν αυξάνεται η οστική απώλεια. Η καλσιτονίνη, στις περισσότερες έρευνες, δε φαίνεται να επηρεάζει την οστική πυκνότητα σε φλοιώδη οστά π.χ στο άνω μέρος του μηριαίου οστού (43).

Η επίδραση της καλσιτονίνης στο κίνδυνο νέων καταγμάτων έχει μελετηθεί από μια τυχαιοποιημένη έρευνα που διήρκησε 5 χρόνια (Prevent Recurrence Of Osteoporotic Fractures study, PROOF study). Στη μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκαν δόσεις 100, 200 και 400 IU. Η μεγαλύτερη αύξηση στην οσφυϊκή οστική πυκνότητα παρατηρήθηκε με τη δόση 400IU. Όμως στη δόση αυτή δεν παρατηρήθηκε η μεγαλύτερη μείωση του κινδύνου για νέα σπονδυλικά κατάγματα. Η μεγαλύτερη μείωση στη συχνότητα καταγμάτων ήταν 33-36% και σημειώθηκε στα άτομα που λάμβαναν 200IU. Στη δοσολογία αυτή παρατηρήθηκε μείωση αλλά όχι στατιστικά σημαντική και στην εμφάνιση νέων καταγμάτων στο μηριαίο οστό. Ο λόγος για τον οποίο η δράση της καλσιτονίνης στη μείωση της εμφάνισης νέων καταγμάτων δεν είναι δοσοεξαρτώμενη απαιτεί διερεύνηση (50). Η επίδραση της καλσιτονίνης στα κατάγματα πρέπει να εξεταστεί από περισσότερες έρευνες.

Δεν υπάρχει καμία αμφιβολία ότι η καλσιτονίνη είναι αποτελεσματική μέθοδος θεραπείας για την εγκατεστημένη οστεοπόρωση σε μεταεμμηνοπαυσιακές γυναίκες και γενικά σε άτομα με αυξημένη οστική απώλεια (35). Πιθανώς να είναι λιγότερη ισχυρή από τις άλλες θεραπείες στη μείωση της εμφάνισης νέων καταγμάτων και στην αύξηση της οστικής μάζας κυρίως στα φλοιώδη οστά (20). Όμως είναι πιο εύκολη η χορήγησή της και με λιγότερες ανεπιθύμητες ενέργειες

από τις άλλες θεραπείες. Για το λόγο αυτό η καλσιτονίνη αποτελεί την επιλογή εκατομμυρίων γιατρών και ασθενών σε όλο τον κόσμο (7).

7.1 ΔΡΑΣΗ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΑ

Ο υπολογιστής της καλσιτονίνης είναι μια πρωτεΐνη που σχηματίζεται κυρίως από τον 7 θυμαλικόκυτταρο, επεκρίνεται στα 2 φύλλα διαμεμβρανίου θυροειδούς (31). Το μόριο που αποβάλλεται από 4 κύτταρα θυροειδούς είναι 7 θυμαλικόκυτταροί και 4 ρυθμιζομενός διαμεμβρανίου ορμόνη επεκρίνεται κυρίως 7 φορές (πλάσμα 7,31 μmole/l, ούρα 49% πρωτεΐνη και διαμεμβρανίου βόρος 37307 Kda) (32). Υποδοχείς της καλσιτονίνης υποδοχέας είναι κυρίως στην πρωτεΐνη των υποδοχέων (33). Υποδοχέας κυρίως 1 υποδοχέας καλσιτονίνης σε κύτταρα υποδοχέων. Εγκρίνεται κυρίως σε διάφορα κύτταρα που κυρίως κυρίως υποδοχέας, όπως υποδοχέας με, στη 1 υποδοχέας, στο 1 υποδοχέας, στην 1 υποδοχέας (34), στη 1 υποδοχέας με, στην 1 υποδοχέας, στην 1 υποδοχέας, στην 1 υποδοχέας (35), στην 1 υποδοχέας με, στην 1 υποδοχέας, στην 1 υποδοχέας, στην 1 υποδοχέας (36), στην 1 υποδοχέας με, στην 1 υποδοχέας, στην 1 υποδοχέας, στην 1 υποδοχέας (37).

ΕΙΚΟΝΑ 7.1 Δράση του υπολογιστή της καλσιτονίνης



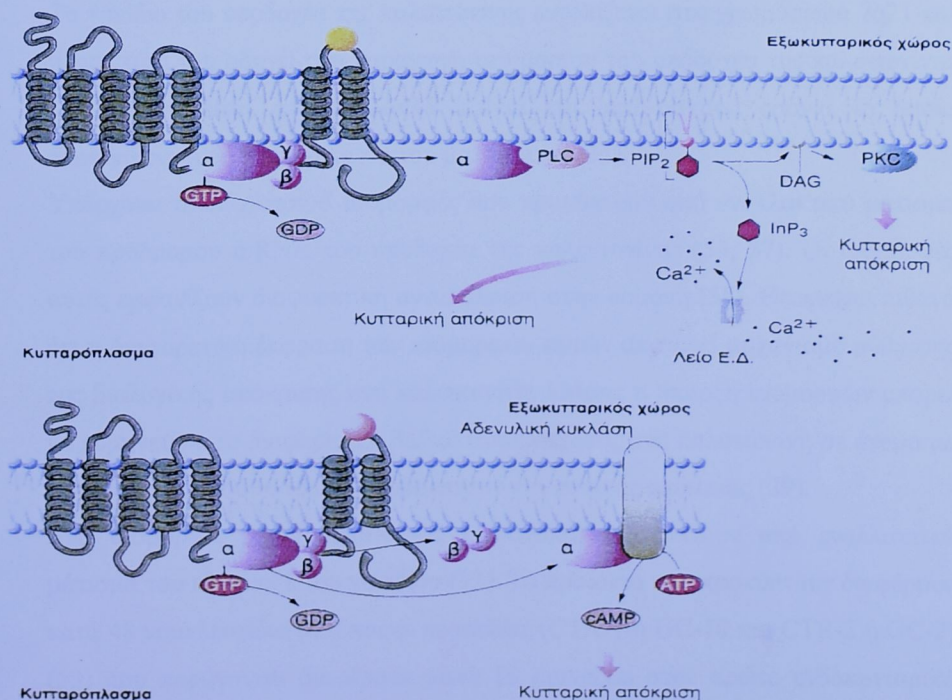
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7: ΥΠΟΔΟΧΕΑΣ ΚΑΛΣΙΤΟΝΙΝΗ (CALCITONIN RECEPTOR, CTR)

7.1 ΔΟΜΗ ΥΠΟΔΟΧΕΑ

Ο υποδοχέας της καλσιτονίνης είναι μια πρωτεΐνη που ανήκει στην οικογένεια των 7 διαμεμβρανικών υποδοχέων στους οποίους δεσμεύονται G-πρωτεΐνες. (51) Το μόριό του αποτελείται από 4 εξωκυτταρικούς τομείς, 7 διαμεμβρανικούς και 4 ενδοκυτταρικούς. Διαπερνά δηλαδή τη κυτταρική μεμβράνη 7 φορές (εικόνα 7.1). Αποτελείται από 490 αμινοξέα και έχει μοριακό βάρος 57303 Kda.(52)

Υποδοχείς της καλσιτονίνης εντοπίζονται κυρίως στην επιφάνεια των οστεοκλαστών (53). Υπάρχουν περίπου 1 εκατομμύριο υποδοχείς σε κάθε οστεοκλάστη. Εντοπίζονται επίσης σε διάφορα σημεία του κεντρικού νευρικού συστήματος, στους σκελετικούς μύες, στα λεμφοκύτταρα, στο πλακούντα, στους όρχεις (42), στις ωοθήκες (54), στη φλοιώδη μοίρα του ανιόντος σκέλους της αγκύλης του Henle στους νεφρούς (3) καθώς και σε άλλους φυσιολογικούς και κακοήθεις ιστούς και κυτταρικές σειρές (21).

ΕΙΚΟΝΑ 7.1: Δομή και λειτουργία του υποδοχέα της καλσιτονίνης



7.2 ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΥΠΟΔΟΧΕΑ

Οι υποδοχείς της καλσιτονίνης ανήκουν στη τάξη II της οικογένειας των υποδοχέων στους οποίους δεσμεύονται G-πρωτεΐνες (6). Οι G-πρωτεΐνες είναι μια υπεροικογένεια πρωτεϊνών που χαρακτηρίζεται από την ικανότητα των μελών της να δεσμεύουν GTP. Δεσμεύονται αντιστρεπτά στην κυτταροπλασματική περιοχή των υποδοχέων τους.

Οι υποδοχείς της καλσιτονίνης δεσμεύουν με υψηλή τάση σύνδεσης την καλσιτονίνη. Η δέσμευση αυτή ενεργοποιεί τις G-πρωτεΐνες οι οποίες με τη σειρά τους δεσμεύονται με την αδενυλική κυκλάση παράγοντας cAMP και/ή με τη φωσφολιπάση C παράγοντας τριφωσφορική ινοσιτόλη (InsP₃) και διακυλογλυκερόλη (DAG). Οι ουσίες αυτές ενεργοποιούν άλλες και μέσω σειράς αντιδράσεων το κύτταρο αντιδρά στην επίδραση της καλσιτονίνης (55).

Η απόκριση του κυττάρου στην επίδραση της καλσιτονίνης διαμέσου των υποδοχέων της μπορεί να επηρεαστεί από πολλούς παράγοντες. Αυτοί μπορεί να είναι συνεργές πρωτεΐνες (Receptor Activity Modifying Proteins RAMPs)(51, 56), ισομορφές του υποδοχέα, γενετικοί πολυμορφισμοί, μεταγραφικές ρυθμίσεις, παλίνδρομη αναστολή και το αντίστοιχο κυτταρικό ή ιστικό προφίλ (42).

7.3 ΓΟΝΙΔΙΟ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΤΗΣ ΚΑΛΣΙΤΟΝΙΝΗΣ (CTR-GENE)

Το γονίδιο του υποδοχέα της καλσιτονίνης εντοπίζεται στο χρωμόσωμα 7q21 και η έκφρασή του οδηγεί στη παραγωγή του μορίου του υποδοχέα της καλσιτονίνης (30). Αποτελείται από πολλαπλά εξόνια και από μακρύνια εσόνια τα οποία αποκόπτονται με τη διαδικασία του ματίσματος (35).

Υπάρχουν τουλάχιστον 5 ισομορφές που προκύπτουν από εναλλακτικό μάτισμα του πρόδρομου mRNA του υποδοχέα της καλσιτονίνης (53, 57). Οι ισομορφές αυτές εμφανίζουν διαφορετική ανταπόκριση στην ορμόνη (58). Θεωρείται πιθανό ότι η διαφορετική έκφραση των ισομορφών αυτών αποτελεί μηχανισμό ρύθμισης της βιολογικής απόκρισης στη καλσιτονίνη. Επίσης η ύπαρξη ισομορφών μπορεί να ερμηνεύσει το διαφορετικό βαθμό ανταπόκρισης στη καλσιτονίνη σε άτομα με ασθένειες υψηλού οστικού μεταβολισμού και οστικής απώλειας (29).

Δύο ισομορφές έχουν περιγραφεί αναλυτικά. Προκύπτουν από εναλλακτικό μάτισμα του εξονίου 8 του γονιδίου (53). Τα προϊόντα που προκύπτουν διαφέρουν κατά 48 νουκλεοτίδια (29) και οι πρωτεΐνες (CTR-1 ή GC-10 και CTR-2 ή GC-2) (59) που παράγονται διαφέρουν κατά 16 αμινοξέα στον πρώτο ενδοκυτταρικό

τομέα. Η ισομορφή CTR-1 έχει 16 αμινοξέα περισσότερα από τη CTR-2. Επιπλέον οι δύο ισομορφές διαφέρουν ως προς τις ιδιότητες τους ως σήματα μέσα στο κύτταρο. Και οι δύο ισομορφές διεγείρουν την οδό της αδενυλικής κυκλάσης ενώ μόνο η ισομορφή CTR-2 διεγείρει και την οδό της φωσφολιπάσης C (57, 60). Η ισομορφή CTR-1 έχει μεγαλύτερη τάση δέσμευσης με την καλσιτονίνη σολομού (sCT) σε σχέση με τη CTR-2. Όμως η CTR-2 προκαλεί πιο ισχυρή κυτταρική αντίδραση στην ανθρώπινη καλσιτονίνη (hCT) και στη καλσιτονίνη σολομού (sCT) (39).

Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε Γαλλικό πληθυσμό η ισομορφή CTR-2 εμφανιζόταν σε μεγαλύτερη συχνότητα και αφθονία. Οι γυναίκες που είχαν την CTR-2 ισομορφή είχαν χαμηλότερο οστικό μεταβολισμό σε σχέση με εκείνες που είχαν την ισομορφή CTR-1. Λαμβάνοντας υπόψη τα παραπάνω αποτελέσματα και το γεγονός ότι η ισομορφή CTR-2 ενεργοποιεί την οδό της αδενυλικής κυκλάσης αλλά και την οδό της φωσφολιπάσης C, φαίνεται ότι η ισομορφή αυτή είναι βιολογικά πιο ισχυρή από την ισομορφή CTR-1 και κατά συνέπεια πιο αποτελεσματική στην αναστολή της οστικής απορρόφησης από τους οστεοκλάστες όταν αλληλεπιδρά με τη καλσιτονίνη (21).

Υπάρχει ακόμα μια ισομορφή που προκύπτει από εναλλακτικό μάτισμα στην ίδια περιοχή. Η παρουσία κωδικονίου λήξης οδηγεί σε πρόωρη λήξη του υποδοχέα στο καρβοξυτελικό άκρο του πρώτου διαμεμβρανικού τομέα (57).

Εκτός όμως από τις διάφορες ισομορφές του υποδοχέα έχουν εντοπιστεί αρκετοί πολυμορφισμοί στο γονίδιο CTR. Σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε σε πληθυσμό Καυκάσιων και Αφρο-Αμερικάνων εντοπίστηκαν 11 πολυμορφισμοί. Οι πολυμορφικές θέσεις ήταν ίδιες και στους δύο πληθυσμούς, εμφανίζονταν όμως με διαφορετική συχνότητα (πίνακας 7.1). Από τους 11 πολυμορφισμούς, 10 οφείλονται σε αλλαγή ενός μόνο νουκλεοτιδίου (Single Nucleotide Polymorphism, SNP). Δύο από αυτούς εντοπίζονται σε κωδικοποιούμενη περιοχή του γονιδίου και μόνο ένας από αυτούς οδηγεί σε αλλαγή αμινοξέος. Για το λόγο αυτό θα περιγραφεί ξεχωριστά ο πολυμορφισμός αυτός παρακάτω. Οι υπόλοιποι πολυμορφισμοί δεν έχουν μελετηθεί ιδιαίτερα αν και υπάρχουν ενδείξεις ότι πολυμορφισμοί σε μη κωδικοποιούμενη περιοχή γονιδίου μπορεί να σχετίζονται με ασθένειες ή η αλληλεπίδραση πολλών SNPs μπορεί να οδηγεί σε νόσο (53). Ένας ακόμα πολυμορφισμός που αναγνωρίζεται από το ένζυμο TaqI έχει εντοπιστεί στο γονίδιο αυτό. Οι τρεις γονότυποι που προκύπτουν από την

παρουσία ή απουσία του πολυμορφισμού συσχετίζονται με την οσφυϊκή οστική πυκνότητα αλλά όχι με την οστική πυκνότητα στο άνω μέρος του μηριαίου οστού (29).

Λίγα στοιχεία είναι γνωστά για τη ρύθμιση της έκφρασης του γονιδίου. Αναφέρεται ότι η καλσιτονίνη μπορεί να αναστείλει την έκφραση του υποδοχέα, τα γλυκοκορτικοειδή διεγείρουν την έκφραση του, ο παράγοντας διέγερσης των αποικιών τον μακροφάγων (M-CSF) και ο πυρηνικός παράγοντας κB (NFκB) ρυθμίζουν την έκφραση και τη λειτουργία των υποδοχέων και τέλος η έκφραση των υποδοχέων στους οστεοκλάστες ρυθμίζεται κατά τη διάρκεια της οστεοκλαστογένεσης (35).

ΠΙΝΑΚΑΣ 7.1: Πολυμορφισμοί στο γονίδιο CTR (53)

SNP's	Διαφορά αλληλομόρφων	Εντοπισμός	Συχνότητα σε Καυκάσιους (%)	Συχνότητα σε Αфро- Αμερικάνους (%)
CTR-A(-108)G	A>G	5'UT	25,0	6,25
CTR-A6(-98)A7	A6>A7	5'UT	29,1	5,0%
CTR-T(-6)C	T>C	5'UT	41,7	60,4
CTR-A162nt G	A>G	Lys 54 Lys	0	3,3
CTR-A IVS3 G	A>G	Εσόνιο 3	46,7	73,3
CTR-T IVS4 G	T>G	Εσόνιο 4	0	13,6
CTR-(GTTT) ₃ IVS4 (GTTT) _n	(CTTT) ₃ > (CTTT) _n	Εσόνιο 4	4	12,7
CTR-G IVS7 C	G>C	Εσόνιο 7	43,35	60,0
CTR-T2 IVS11T1	T2>T1	Εσόνιο 11	50,0	16,7
CTR-C IVS12 A	C>A	Εσόνιο 12	23,3	23,3
CTR-T1340nt	T>C	Leu 447 Pro	26,7	63,3

7.4 ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΤΗΣ ΚΑΛΣΙΤΟΝΙΝΗΣ

Το 1996 οι Taboulet et al εντόπισαν ένα πολυμορφισμό ενός μόνο νουκλεοτιδίου στο γονίδιο CTR. Στο νουκλεοτίδιο 1340 η θυμίνη (T) αντικαθίσταται από κυτοσίνη (C). Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την αλλαγή της τρίτης βάσης στη τριπλέτα 447 και κατά συνέπεια την αλλαγή του αμινοξέως στη θέση 447 της πρωτεΐνης από λευκίνη (CTG) σε προλίνη (CCG). Ο πολυμορφισμός αυτός εντοπίζεται 28 αμινοξέα από το καρβοξυτελικό άκρο της πρωτεΐνης, στη 3^η περιοχή, στο 4^ο ενδοκυτταρικό τομέα (εικόνα 7.2). Οι παραπάνω τιμές αναφέρονται στην ισομορφή CTR-2 γιατί είναι η πιο συχνά εμφανιζόμενη. Στην ισομορφή CTR-1 ο πολυμορφισμός εμφανίζεται στο νουκλεοτίδιο 1377, στο 463^ο αμινοξύ, στο 3^ο ενδοκυτταρικό τομέα της πρωτεΐνης (53, 60). Δεν υπάρχει ξεκάθαρη σχέση ανάμεσα στην εμφάνιση των δύο ισομορφών και του πολυμορφισμού αυτού (60).

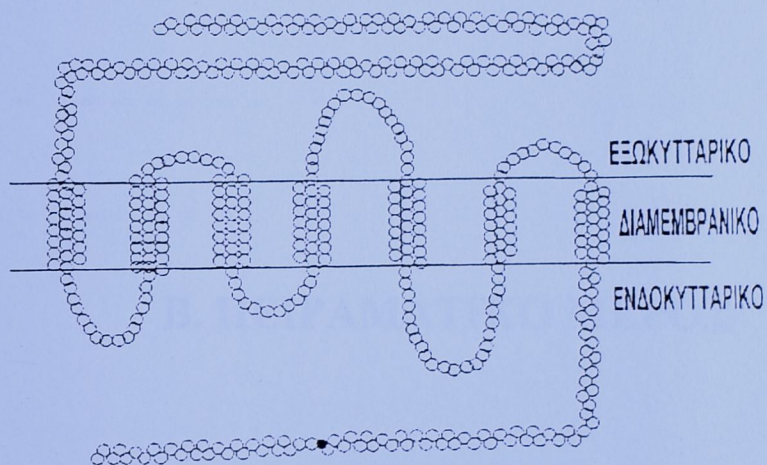
Ο πολυμορφισμός αναγνωρίζεται από το ένζυμο περιορισμού AluI (58). Το ένζυμο αναγνωρίζει την αλληλουχία AGCT (28). Η ύπαρξη του πολυμορφισμού μετατρέπει την παραπάνω αλληλουχία του γονιδίου σε AGCC και συνεπώς χάνεται η θέση αναγνώρισης του ενζύμου (58).

Σε πολλές περιπτώσεις γονιδίων μια μόνο μετάλλαξη σε γονίδιο υποδοχέα που λειτουργεί με μεσολάβηση G-πρωτεϊνών, οδηγεί σε νόσο. Έτσι θεωρείται πιθανό οι διαφορετικοί γονότυποι για το πολυμορφισμό αυτό (TT, TC, CC), να οδηγούν σε υποδοχείς που διαφέρουν ως προς την ενδοκυτταρική οδό απόκρισης που διεγείρουν ενδοκυτταρικά και ως προς τη βιολογική τους ενεργότητα (54, 60). Σε πρόσφατη μελέτη φαίνεται πως η ύπαρξη λευκίνης ή προλίνης στη συγκεκριμένη θέση δεν επηρεάζει το σημείο δέσμευσης ούτε τη τάση δέσμευσης του υποδοχέα με τη καλσιτονίνη. Επίσης, δε βρέθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές ως προς τη λειτουργικότητα και τη βιολογική ενεργότητα των υποδοχέων στις δύο περιπτώσεις (53). Παρόλα αυτά από πολλές μελέτες φαίνεται πως οι 3 γονότυποι που σχετίζονται με το πολυμορφισμό αυτό, συσχετίζονται με διαφορές στο σωματικό βάρος (41), στην οστική μάζα (41, 58), στην οστική πυκνότητα (29, 41, 61), και στο κίνδυνο καταγμάτων (60).

Τέλος είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι κάποιοι ερευνητές θεωρούν πως είναι πιθανό οι διαφορετικοί γονότυποι του γονιδίου CTR να ερμηνεύουν τις μεγάλες διαφορές στο βαθμό ανταπόκρισης στη θεραπεία με καλσιτονίνη σε ασθενείς (29, 58). Δεν υπάρχει όμως βιβλιογραφία που να αποδεικνύει τον ισχυρισμό αυτό. Για

το λόγο αυτό θα πρέπει να πραγματοποιηθούν έρευνες προς τη κατεύθυνση αυτή (53).

ΕΙΚΟΝΑ 7.2: Σχηματική αναπαράσταση του υποδοχέα της καλσιτονίνης. Ο μαύρος κύκλος υποδεικνύει τη θέση του πολυμορφισμού (54)



1. ΣΥΝΟΠΤΗ

Το παρόν έργο αποτελεί μια προσπάθεια να παρουσιαστεί η εξέλιξη της φυσικής από την κλασική μηχανική μέχρι την κβαντική μηχανική. Η κλασική μηχανική, που βασίζεται στα έργα του Νεύτωνα, περιγράφει την κίνηση των σωμάτων με μεγάλη ακρίβεια, αλλά δεν μπορεί να εξηγήσει φαινόμενα που συμβαίνουν στο μικρόκοσμο. Η κβαντική μηχανική, που αναπτύχθηκε τον 20ο αιώνα, προσφέρει μια νέα οπτική της φύσης, όπου τα σωματίδια συμπεριφέρονται ως κύματα και η ενέργεια είναι κβαντισμένη. Η κβαντική μηχανική έχει οδηγήσει σε σημαντικές ανακαλύψεις, όπως η κβαντική πληροφορική και η κβαντική οπτική.

Β. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1 ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η διερεύνηση του πολυμορφισμού του γονιδίου του υποδοχέα της καλσιτονίνης σε μεταεμμηνοπαυσιακές οστεοπορωτικές γυναίκες που θεραπεύονται με καλσιτονίνη και η συσχέτιση της ανταπόκρισης τους στη θεραπεία με το γονότυπο τους για το πολυμορφισμό που μελετάμε.

2. ΑΣΘΕΝΕΙΣ

Στην έρευνα αυτή συμμετείχαν μεταεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με διαγνωσμένη οστεοπόρωση (σύμφωνα με τον ορισμό του WHO που προαναφέρθηκε στη § 6.1) που προσήλθαν στο Ερευνητικό Κέντρο Μυοσκελετικών Παθήσεων στο νοσοκομείο ΚΑΤ για να λάβουν θεραπεία για την οστεοπόρωση. Οι γυναίκες αυτές είχαν ηλικία 45-86 ετών.

Το θεραπευτικό σχήμα που τους χορηγήθηκε περιελάμβανε κυκλική χορήγηση 200 UI ενδορρινικής καλσιτονίνης σολομού. Κατά το κυκλικό σχήμα ακολουθείται ένας μήνας θεραπεία και ένας μήνας διακοπή της θεραπείας. Η διάρκεια της χορήγησης της θεραπείας ήταν ένα έτος. Κατά τη διάρκεια της θεραπείας χορηγήθηκε καθημερινά σε όλους τους ασθενείς συμπλήρωμα 500 mg ασβεστίου και 0,25μg alfacalcidol.

Στους ασθενείς αυτούς μετρήθηκε η οστική πυκνότητα στη σπονδυλική στήλη και στον αυχένα του μηριαίου οστού πριν την έναρξη της θεραπείας και στο τέλος του δωδέκατου μήνα. Κατά τη διάρκεια της θεραπείας, πραγματοποιήθηκε αναγνώριση του γονότυπου των ασθενών αυτών ως προς τον πολυμορφισμό του γονιδίου του υποδοχέα της καλσιτονίνης που μελετάμε.

3 ΥΛΙΚΑ-ΜΕΘΟΔΟΙ:

3.1 ΠΛΑΣΤΙΚΑ-ΓΥΑΛΙΚΑ

Τα πλαστικά που χρησιμοποιήθηκαν είναι: πλαστικά σωληνάκια Falcon των 15ml, πλαστικές πιπέτες μιας χρήσης των 5 ml, ακροφύσια (Greiner) των 2 μl, 100μl, 1000μl, σωληνάκια Eppendorf των 1,5 ml, 0,5 ml και 0,2 ml.

Τα γυαλικά που χρησιμοποιήθηκαν είναι: ποτήρια ζέσεως, κωνική φιάλη των 200 ml ογκομετρικοί κύλινδροι 25ml, 50ml, 100ml, 500ml, μπουκάλια Boro των 50ml, 100ml, 500ml, 1000ml.

3.2 ΜΗΧΑΝΗΜΑΤΑ

Τα μηχανήματα που χρησιμοποιήθηκαν είναι: φυγόκεντρος Eppendorf centrifuge 5810R, υδατόλουτρο Memert, roller (Stuart Scientific Rollers SRTI), μηχανήμα

PCR Primus 96 plus-NWGAGBIOTECH, αναδευτήρας Nuova-stir plate, vortex IKA minishaker MSI, pHμετρο microprocessor pHmeter, WTW pH 537, ζυγαριά ακριβείας Gibertini , συσκευή ηλεκτροφόρησης, αυτόματες πιπέτες Gilson 2μl, 20μl, 100μl, 200μl, 1000μl, τροφοδοτικό ηλεκτροφόρησης, θάλαμος UV.

3.3 ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ

- Tris Borate Acid (TBE 5x)
 - 54 gr Tris Base
 - 27,5 gr Boric Acid
 - 20 ml EDTA 0,5 M
 - Προσθήκη 800 ml απεσταγμένο νερό
 - Ανάδευση
 - Έλεγχος και ρύθμιση του pH στο 8,3
 - Προσθήκη απεσταγμένου νερού μέχρι $V_{\text{τελ}}=1$ lt.
- Tris Borate Acid (TBE 1x)
 - 200 ml 5x
 - Προσθήκη απεσταγμένου νερού μέχρι $V_{\text{τελ}}=1$ lt
 - Ανάδευση
- Αιθανόλη 100%
- Αιθανόλη 70%
 - 70 ml αιθανόλη 100% και 30 ml απεσταγμένο νερό
- Βρωμιούχο αιθίδιο (10 mg/ml)
 - 10 mg EtBr
 - 1 ml αποστειρωμένο νερό
 - Ανάδευση σε Vortex
 - Φύλαξη σε ψυγείο

3.4 ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ DNA

Η απομόνωση του DNA έγινε από τα λευκά αιμοσφαίρια ολικού αίματος με το PUREGENE DNA isolation kit βάση του πρωτοκόλλου που προτείνει ο παρασκευαστής:

1. Προσθήκη 2 ml ολικού αίματος σε σωλήνα Falcon 15 ml που περιέχει 6ml διαλύματος RBC Lysis Solution. Το διάλυμα αυτό προκαλεί τη λύση των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Ανακινείται για να αναμιχθεί και αφήνεται για 10min σε θερμοκρασία δωματίου. Ενδιάμεσα ανακινείται ξανά.
2. Φυγοκέντριση στις 3000 στροφές για 10 λεπτά, Τα λευκά αιμοσφαίρια μετά τη φυγοκέντριση έχουν σχηματίσει ίζημα στο κάτω μέρος του σωλήνα, ενώ τα ερυθρά βρίσκονται στο υπερκείμενο. Αδειάζεται το υπερκείμενο αφήνοντας 100-200 μl.
3. Ο σωλήνας αναδεύεται ισχυρά στο Vortex ώστε να ξεκολλήσει το ίζημα των λευκών και να διαλυτοποιηθούν στα 200 μl του διαλύματος.
4. Προστίθεται στο σωλήνα 2 ml Cell Lysis Solution με πλαστική πιπέτα μίας χρήσης. Το διάλυμα αυτό προκαλεί τη λύση των λευκών αιμοσφαιρίων.
5. Προστίθεται στο σωλήνα 667 μl Protein Precipitation Solution. Το διάλυμα αυτό προκαλεί τη μετουσίωση των πρωτεϊνών του αίματος.
6. Ο σωλήνας αναδεύεται ισχυρά σε Vortex για 20 sec ώστε να αναμιχθούν τα διαλύματα.
7. Φυγοκέντριση στις 3000 στροφές για 10 min. Μετά τη φυγοκέντριση οι πρωτεΐνες έχουν σχηματίσει ίζημα στο κάτω μέρος του σωλήνα. (Αν στο υπερκείμενο υπάρχουν κομμάτια ιζήματος πρωτεϊνών επαναλαμβάνεται το βήμα 6, τοποθέτηση σε πάγο για 15 min και ακολουθεί το βήμα 7)
8. Το υπερκείμενο που περιέχει το DNA αδειάζεται σε σωλήνα Falcon 15 ml που περιέχει 2 ml ισοπροπανόλης 100%.
9. Ο σωλήνας ανακινείται 50 φορές. Στη φάση αυτή γίνεται ορατό το DNA.
10. Φυγοκέντριση στις 3000 στροφές για 3 min. Μετά τη φυγοκέντριση το DNA έχει σχηματίσει λευκό ίζημα στο κάτω μέρος του σωλήνα. Αδειάζεται το υπερκείμενο και ο σωλήνας αφήνεται να στεγνώσει πάνω σε απορροφητικό χαρτί. Στη συνέχεια προστίθενται 2 ml αιθανόλης 70% και ο σωλήνας ανακινείται ώστε να ξεπλυθεί το DNA.
11. Φυγοκέντριση στις 3000 στροφές για 1 min. Μετά τη φυγοκέντριση το DNA βρίσκεται με τη μορφή ιζήματος. Αδειάζεται η αιθανόλη και ο σωλήνας αφήνεται να στεγνώσει σε απορροφητικό χαρτί και στον αέρα για 15 min.
12. Προστίθενται 200 μl DNA Hydration Solution

13. Αφήνεται το διάλυμα σε θερμοκρασία δωματίου ώστε να διαλυτοποιηθεί το DNA. Εναλλακτικά μπορεί να αφεθεί σε υδατόλουτρο για μια ώρα στους 65°C.
14. Το διάλυμα μεταφέρεται σε σωλήνα 1,5 ml και αποθηκεύεται σε θερμοκρασία 2-8°C.

3.5 ΑΛΥΣΙΔΩΤΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗΣ (Polymerase Chain Reaction-PCR)

Μετά την απομόνωση ακολούθησε εφαρμογή της μεθόδου PCR (Saiki et al, 1988), η οποία αποσκοπεί στην εκλεκτική αντιγραφή κατά εκατομμύρια φορές ειδικών τμημάτων DNA. Η μέθοδος είναι εξαιρετικά ευαίσθητη και επιτρέπει τη γρήγορη ανάλυση περιοχών που περιέχονται σε ένα πολύ μικρό δείγμα. Πρόκειται για μια αντίδραση πολυμερισμού, η οποία μιμείται *in vitro* τον τρόπο με τον οποίο τα ένζυμα του πυρήνα (DNA πολυμεράσες) αντιγράφουν το DNA του κυττάρου. Η εφαρμογή της μεθόδου προϋποθέτει η νουκλεοτιδική ακολουθία που πρόκειται να πολλαπλασιαστεί. Η αλληλουχία αυτή χρησιμοποιείται για το σχεδιασμό δυο συνθετικών ολιγονουκλεοτιδίων, ενός συμπληρωματικού προς το 3' άκρο της μιας αλυσίδας του DNA και ενός συμπληρωματικού προς το 3' άκρο της άλλης αλυσίδας. Τα ολιγονουκλεοτίδια αυτά μήκους 20-30 βάσεων χρησιμοποιούνται ως πρωταρχικά τμήματα (εκκινήτες, primers) για *in vitro* σύνθεση DNA και οριοθετούν τα άκρα του τελικού προϊόντος. Παρουσία περισσειας των τεσσάρων τριφωσφορικών δεοξυριβονουκλεοτιδίων (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), ιόντων μαγνησίου και της κατάλληλης DNA πολυμεράσης επιτυγχάνεται η αντίδραση πολυμερισμού. Το ένζυμο που χρησιμοποιείται για τον πολυμερισμό είναι η Taq πολυμεράση, η οποία απομονώνεται από το θερμόφιλο βακτήριο *Thermus aquaticus* και είναι ανθεκτική στις υψηλές θερμοκρασίες. Η πολυμεράση αυτή εμφανίζει τη μεγαλύτερη ενεργότητα πολυμερισμού στους 72 °C, ενώ παραμένει ενεργή σε θερμοκρασία μέχρι 95°C. Η τεχνική της PCR περιλαμβάνει τη κυκλική επανάληψη τριών αντιδράσεων:

1. Αποδιάταξη (template denaturation). Το δίκλωνο DNA αποδιατάσσεται σε μονόκλωνες αλυσίδες σε υψηλή θερμοκρασία (94-96° C).
2. Σύνδεση εκκινήτων (primer annealing). Οι δυο εκκινήτες συνδέονται με τις συμπληρωματικές προς αυτούς αλληλουχίες που βρίσκονται στις δυο

αλυσίδες του DNA. Η σύνδεση αυτή πραγματοποιείται σε θερμοκρασία που εξαρτάται αποκλειστικά από την αλληλουχία των εκκινητών.

3. Επιμήκυνση (primer extension). Στο στάδιο αυτό γίνεται σύνθεση DNA με επιμήκυνση των εκκινητών κατά την 5'-3' κατεύθυνση, χρησιμοποιώντας τα νουκλεοτίδια που βρίσκονται στο διάλυμα και έχοντας ως καλούπι τις μονόκλωνες αλυσίδες του DNA. Η αντίδραση πολυμερισμού καταλύεται από την Taq DNA πολυμεράση και πραγματοποιείται σε θερμοκρασία 72°C.
4. Οι νεοσυντιθέμενες αλυσίδες αποδιατάσσονται ξανά και οι μονόκλωνες αλυσίδες επαναυβριδίζονται με τους εκκινητές και ο κύκλος αυτός επαναλαμβάνεται 25-35 φορές.

Το κύριο προϊόν της εκθετικής αυτής αντίδρασης είναι ένα δίκλωνο τμήμα DNA του οποίου τα άκρα ορίζονται από τα 5' άκρα των εκκινητών και έχει μήκος ίσο με την απόσταση των εκκινητών. Για παράδειγμα 30 κύκλοι PCR δίνουν πολλαπλασιασμό της τάξης του εκατομμυρίου. Το προϊόν της PCR χρησιμοποιείται στη συνέχεια για τη μελέτη του τμήματος που πολλαπλασιάστηκε (62).

Τα αντιδραστήρια για τη PCR διατηρούνται σε θερμοκρασία -20°C και είναι τα ακόλουθα:

- 1,25 μl PCR buffer
- 0,5 μl MgCl₂
- 0,2 μl Taq DNA πολυμεράση
- 0,1 μl dNTP's
- 0,3 μl primer L (left primer-αριστερός εκκινητής)
- 0,3 μl primer R (right primer-δεξιός εκκινητής)
- 8,85 μl H₂O

Τα 4 νουκλεοτίδια (100 mM) αναμίχθηκαν και μεταφέρθηκαν σε eppendorf.

Οι εκκινητές που χρησιμοποιήθηκαν ήταν οι:

-5'-CTCAAGTGATCACGATACTGTG-3' και

5'-ATTCAAGTGAACCAAGCGTTGG-3'.

Οι εκκινητές αρχικά ήταν σε ξηρή μορφή και διαλυτοποιήθηκαν με προσθήκη αποστειρωμένου νερού σε συγκέντρωση 100 pmoles/μl (stock solution). Από το διάλυμα που σχηματίστηκε παρασκευάστηκε νέο διάλυμα με αραιώση 1:8

(working solution, 25μl stock + 175μl αποστειρωμένο νερό) το οποίο είναι και το διάλυμα που χρησιμοποιήθηκε αρχικά στη PCR. Η διαδικασία της PCR γίνεται σε eppendorf των 0,2 ml στα οποία προστίθενται 11,5μl από το μίγμα των παραπάνω και 1μl δείγματος DNA. Συγκεκριμένα η διαδικασία γίνεται ως εξής:

1. Αρχικά παρασκευάζεται μίγμα που αποτελείται από τα παραπάνω αντιδραστήρια στις αντίστοιχες ποσότητες, τα οποία καθ'όλη τη διάρκεια της διαδικασίας διατηρούνται σε πάγο. Η ποσότητα από το κάθε αντιδραστήριο πολλαπλασιάζεται με τον αριθμό των δειγμάτων στα οποία θα γίνει PCR, συν ένα επιπλέον, σε περίπτωση απώλειας. Το μίγμα αναδεύεται σε Vortex και διατηρείται σε πάγο.
2. Σε κάθε eppendorf τοποθετούνται 11,5 μl από το μίγμα που παρασκευάστηκε.
3. Τοποθετούνται 1μl από κάθε δείγμα DNA στα eppendorfs και γίνεται φυγοκέντριση.
4. Σε κάθε eppendorf προστίθεται μια σταγόνα mineral oil, για να αποφευχθεί εξάτμιση του μίγματος κατά τη διαδικασία της PCR που πραγματοποιείται σε υψηλές θερμοκρασίες.
5. Τοποθετούνται τα eppendorfs στο μηχάνημα της PCR και πραγματοποιούνται τα ακόλουθα στάδια:

Βήμα 1^ο: 110°C

Βήμα 2^ο: 95°C για 5 min

Βήμα 3^ο: 40 φορές τα βήματα 4, 5, 6

Βήμα 4^ο: 95°C για 30 sec

Βήμα 5^ο: 57°C για 30 sec

Βήμα 6^ο: 72°C για 30 sec

Βήμα 7^ο: 72°C για 10 min

Βήμα 8^ο: Αποθήκευση στους 8°C

3.6 ΕΛΕΓΧΟΣ PCR

Ο έλεγχος της επιτυχίας γίνεται με ηλεκτροφόρηση του προϊόντος σε πήκτωμα αγαρόζης 2%. Το πήκτωμα αυτό περιέχει βρωμιούχο αιθίδιο (EtBr) 10mg/ml, το οποίο έχει την ιδιότητα να φωσφορίζει στο υπεριώδες φως. Η ηλεκτροφορητική ικανότητα του DNA κατά μήκος των πηκτωμάτων εξαρτάται κυρίως από το μοριακό μέγεθος του DNA και τη συγκέντρωση της αγαρόζης. Η ταχύτητα μετακίνησης είναι αντιστρόφως ανάλογη του μεγέθους των κλασμάτων DNA

ηλεκτροφορούνται, και αντιστρόφως ανάλογη της συγκέντρωσης αгарόζης. Χρησιμοποιώντας πηκτώματα διαφορετικών συγκεντρώσεων μπορούμε να διαχωρίσουμε ένα μεγάλο εύρος μεγεθών DNA. Με συγκέντρωση 2% γίνεται διαχωρισμός γραμμικών τμημάτων DNA μήκους 3-3,1 Kb.

Η διαδικασία της ηλεκτροφόρησης έχει ως εξής:

1. Παρασκευάζεται πήκτωμα αгарόζης με ανάμιξη σε κωνική φιάλη 50 ml διαλύματος TBE αραιωμένου και 1 gr αгарόζης. Η κωνική μεταφέρεται σε φούρνο μικροκυμάτων και θερμαίνεται ώστε να διαλυθεί η αгарόζη και να προκύψει διαυγές διάλυμα.
2. Αφού κρυώσει το διάλυμα προστίθενται 3 μl βρωμιούχο αιθίδιο 10 mg/ml.
3. Το διάλυμα χύνεται στο εκμαγείο της ηλεκτροφόρησης, αφού πρώτα έχουν τοποθετηθεί σε αυτό χτένες, ώστε να δημιουργηθούν «πηγαδάκια» καθώς πήξει το gel της αгарόζης. Στη συσκευή της ηλεκτροφόρησης και πάνω από το gel προστίθενται 250 ml ρυθμιστικού διαλύματος TBE αραιωμένου.
4. Μέχρι να πήξει το gel (20 min) προετοιμάζονται τα δείγματα για την ηλεκτροφόρηση: Σε eppendorf τοποθετούνται 2μl από το προϊόν της PCR και 2 μl χρωστικής.
5. Αφού πήξει το gel μεταφέρονται σε κάθε πηγάδι αυτού ένα από τα παραπάνω δείγματα που αναμίχθηκαν με τη χρωστική. Σε ένα από τα πηγάδια του gel τοποθετείται ένας μάρτυρας (DNA ladder 100 bp).
6. Η ηλεκτροφόρηση γίνεται στα 150 Volts για 20 min περίπου.
7. Μετά το τέλος της ηλεκτροφόρησης το gel παρατηρείται στο υπεριώδες. Η ύπαρξη ζωνών συγκεκριμένου μήκους υποδηλώνει ότι η διαδικασία της PCR έγινε με επιτυχία. Το μήκος κάθε ζώνης υπολογίζεται με σύγκριση της με το μάρτυρα, ο οποίος αποτελείται από κομμάτια DNA συγκεκριμένου μήκους (DNA ladder).

3.7 ΠΕΨΗ ΜΕ ΕΝΔΟΝΟΥΚΛΕΑΣΕΣ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΥ

Η πέψη γίνεται στο προϊόν της PCR με σκοπό την ανίχνευση πολυμορφισμών. Η διαδικασία περιλαμβάνει τη πέψη του DNA με ένζυμα περιορισμού, τα οποία αναγνωρίζουν ειδικές αλληλουχίες του δίκλωνου DNA μήκους 4-8 νουκλεοτιδίων και τέμνουν το μόριο στα σημεία αυτά. Τα ένζυμο που χρησιμοποιήθηκε είναι το AluI το οποίο αναγνωρίζει την αλληλουχία 5'GA↑CT 3' (28).

Η διαδικασία της πέψης είναι η εξής:

Ημέρα 1^η:

1. Φτιάχνεται μίγμα που περιέχει 2μl ρυθμιστικό διάλυμα (buffer), 7,6μl H₂O και 0,4μl AluI (10U/μl) πολλαπλασιασμένα με τον αριθμό των δειγμάτων συν ένα για να καλυφθούν τυχόν απώλειες. Γίνεται ανάδευση σε vortex.
2. Σε eppendorf 0,5 ml τοποθετούνται 10 μl προϊόντος της PCR και 10μl από το μίγμα που προετοιμάστηκε. Γίνεται φυγοκέντρωση για καλύτερη ανάδευση.
3. Επώαση στους 37°C για 12 ώρες.

Ημέρα 2^η:

1. Φτιάχνεται gel αгарόζης 3% με ανάμιξη 4,5 gr αгарόζης και 150 ml TBE αραιωμένου σε κωνική φιάλη. Το μίγμα θερμαίνεται σε φούρνο μικροκυμάτων μέχρι να διαλυθεί η αгарόζη και να προκύψει διαυγές διάλυμα.
2. Προστίθενται 9 μl βρωμιούχο αιθίδιο και ακολουθείται η διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω (§ 2.6 έλεγχος PCR).
3. Σε eppendorf αναμιγνύονται 20 μl από το προϊόν πέψης και 5 μl χρωστικής και γίνεται φυγοκέντρωση για καλύτερη ανάμιξη.
4. «Φορτώνονται» τα δείγματα στα πηγαδάκια του gel και ακολουθεί ηλεκτροφόρηση στα 150 Volts για μια ώρα περίπου.
5. Το gel παρατηρείται στο υπεριώδες.

3.8 ΜΕΤΡΗΣΗ ΟΣΤΙΚΗΣ ΠΥΚΝΟΤΗΤΑΣ

Πραγματοποιήθηκε μέτρηση οστικής πυκνότητας με τη τεχνική της διπλής απορρόφησης ακτίνων X (Dual-X-ray Absorptiometry, DXA). Οι μετρήσεις οστικής πυκνότητας έγιναν στη σπονδυλική στήλη και στον αυχένα του μηριαίου οστού. Η οστική πυκνότητα μετράται σε g/cm². Τα τεχνικά χαρακτηριστικά του οργάνου είναι: Lunar DRX (Lunar Radiation, Madison, Wisconsin). Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στο Ερευνητικό Κέντρο Μυοσκελετικών Παθήσεων στο νοσοκομείο ΚΑΤ.

3.9 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΤΗΣ ΔΙΑΙΤΗΤΙΚΗΣ ΠΡΟΣΛΗΨΗΣ ΑΣΒΕΣΤΙΟΥ

Οι ασθενείς απάντησαν σε ερωτήσεις σχετικά με τη καθημερινή συνήθη κατανάλωση γαλακτοκομικών προϊόντων και οι απαντήσεις τους αξιολογήθηκαν από την ιατρική ομάδα και μεταφράστηκαν σε ημερήσια πρόσληψη mg ασβεστίου.

3.10 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

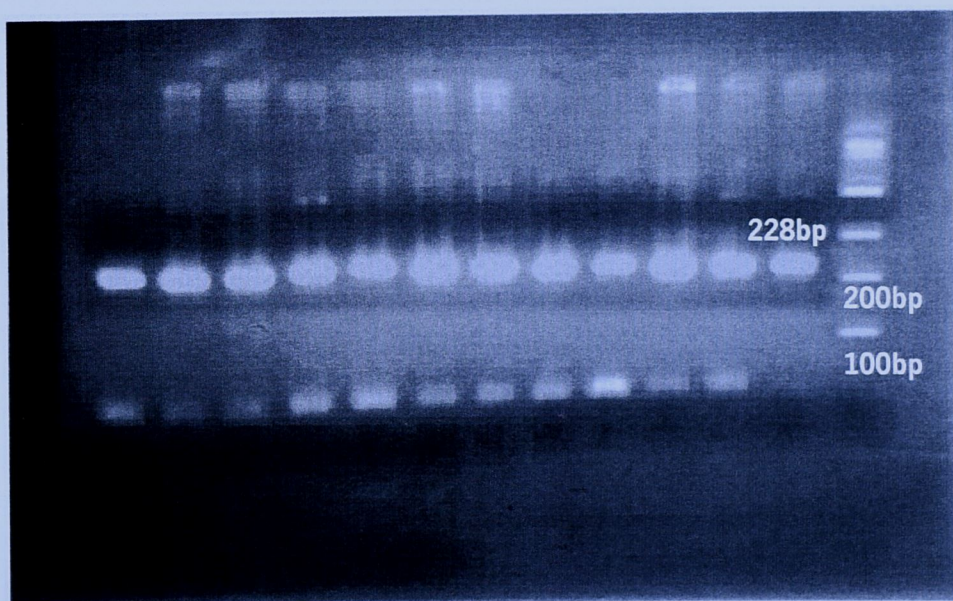
Για τη στατιστική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πακέτο SPSS vr 800. Στους στατιστικούς πίνακες που ακολουθούν N είναι ο αριθμός του δείγματος, mean είναι οι μέσες τιμές, std deviation είναι η τυπική απόκλιση από τις μέσες τιμές. Όλα τα test που χρησιμοποιούνται για τις συσχετίσεις είναι διπλής κατεύθυνσης με επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$ (συνεπώς για να έχει μια συσχέτιση στατιστική σημαντικότητα πρέπει $P\text{-value}<0,005$).

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1 ΑΛΥΣΙΔΩΤΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΠΟΛΥΜΕΡΑΣΗΣ

Πραγματοποιήθηκε PCR στα δείγματα DNA όλων των ασθενών και υπήρξε επιτυχής σε όλα τα δείγματα. Το μήκος του τμήματος του DNA που πολλαπλασιάζεται μέσω της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης με τις συνθήκες που περιγράφηκαν (§3.5) είναι 228 bp. Συνεπώς ο έλεγχος για την επιτυχία της αντίδρασης γίνεται μέσω της σύγκρισης του μήκους του προϊόντος κάθε δείγματος με το μάρτυρα (δεξί μέρος της φωτογραφίας). Αν το μήκος του προϊόντος της αντίδρασης είναι 228 bp η αντίδραση είναι επιτυχής.

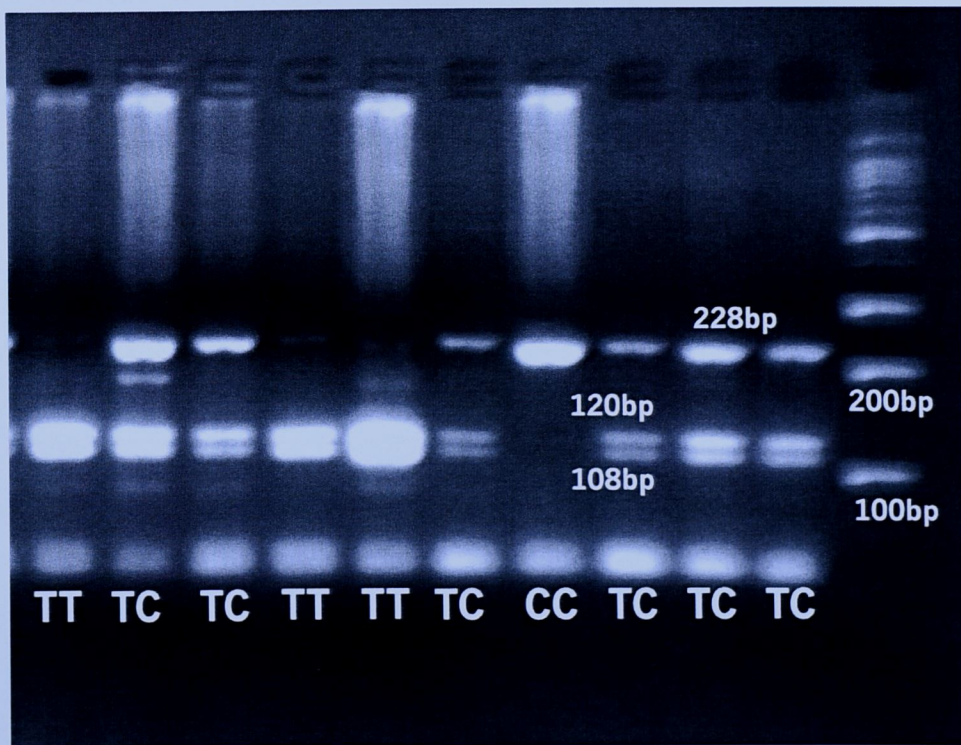
ΕΙΚΟΝΑ 4.1: Έλεγχος επιτυχίας PCR σε πήκτωμα αγαρόζης



4.2 ΠΕΨΗ ΜΕ ΕΝΔΟΝΟΥΚΛΕΑΣΗ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΥ AluI

Με τη πέψη στις συνθήκες που προαναφέρθηκαν (§ 3.7 πέψη με ενδονουκλεάσες περιορισμού) και την ακόλουθη ηλεκτροφόρηση, ανιχνεύεται ο πολυμορφισμός στο νουκλεοτίδιο 1340 του γονιδίου του υποδοχέα της καλσιτονίνης. Πρόκειται για μια αλλαγή θυμίνης σε κυτοσίνη (T→C), με αποτέλεσμα αλλαγή της τριπλέτας CTG σε CCG και τη μετατροπή του αμινοξέως στη θέση 447 από λευκίνη σε προλίνη. Όταν στην αλυσίδα του DNA υπάρχει η θυμίνη το ένζυμο AluI κόβει στη θέση 5'GA↑CT3' και δημιουργεί τμήματα μεγέθους 120 και 180 bp. Αν στην αλυσίδα του DNA υπάρχει κυτοσίνη η θέση αναγνώρισης του ενζύμου καταστρέφεται και το μήκος του τμήματος παραμένει 228 bp. Έτσι ένα άτομο ομόζυγο για το πολυμορφισμό (CC) θα δώσει μετά από πέψη τμήματα μεγέθους 228 bp, ένα άτομο ετερόζυγο (TC) θα δώσει τμήματα 120, 108 και 228 bp και ένα άτομο ομόζυγο για το φυσιολογικό νουκλεοτίδιο (TT) θα δώσει τμήματα 120 και 108 bp. Η αναγνώριση του μεγέθους κάθε τμήματος DNA γίνεται με σύγκριση με τις αντίστοιχες ζώνες του μάρτυρα DNA.

EIKONA 4.2: Έλεγχος επιτυχίας πέψης σε πήκτωμα αγαρόζης



4.3 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΑΡΧΙΚΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Το συνολικό δείγμα αποτελείται από 230 γυναίκες (N=230). Από αυτές 96 είχαν γονότυπο TT (41,73%), 115 είχαν γονότυπο TC (50%) και 19 είχαν γονότυπο CC (8,26%). Η κατανομή των γονοτύπων στο αρχικό δείγμα φαίνονται στο πίνακα 4.1. Τα αποτελέσματα αυτά είναι σε αρμονία με αυτά που αναμένονται από το τύπο των Hardy-Weinberg για τις συχνότητες αλληλομόρφων σε τυχαίο δείγμα. Συνεπώς τα αποτελέσματα βρίσκονται σε ισορροπία Hardy-Weinberg. Αποτελέσματα για την οστική πυκνότητα υπήρχαν για 92 από τις 230 γυναίκες και έτσι η στατιστική επεξεργασία έγινε με αυτό τον αριθμό τελικού δείγματος.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.1: Κατανομή των γονοτύπων στο αρχικό δείγμα

ΓΟΝΟΤΥΠΟΣ	TT	TC	CC
ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ (%)	96 (41,73%)	115 (50%)	19 (8,26%)

4.4 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΟΥ ΤΕΛΙΚΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ

Το τελικό δείγμα αποτελείται από 92 γυναίκες (N=92). Οι γυναίκες αυτές έχουν διαγνωστεί βάση του ορισμό του WHO ως οστεοπορωτικές. Από αυτές 41 είχαν γονότυπο TT (44,5%), 46 είχαν γονότυπο TC (50%) και 5 είχαν γονότυπο CC, (5,43%).(Πίνακας 4.2)

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.2: Κατανομή των γονοτύπων στο δείγμα

ΓΟΝΟΤΥΠΟΣ	TT	TC	CC
ΣΥΧΝΟΤΗΤΑ (%)	41 (44,5%)	46 (50%)	5 (5,43%)

Επειδή τα άτομα με γονότυπο CC είναι μόνο 5, δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη στατιστική επεξεργασία και θα συγχωνευτούν με τα άτομα με γονότυπο TC. Από τη στατιστική επεξεργασία προκύπτει ότι οι δυο ομάδες γονοτύπων TT και TC+CC δεν παρουσιάζουν στατιστικά σημαντική διαφορά ως προς την ηλικία (p=0,994), την ηλικία εμφάνισης της εμμηνόπαυσης (p=0,899), το βάρος (p=0,290), το ύψος (p=0,747), το δείκτη μάζας σώματος (BMI, p=0,364), τις συνήθειες καπνίσματος (p=0,860) και τη πρόσληψη ασβεστίου (p=0,278). [Πίνακες 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, τα P-value φαίνονται με έντονο χαρακτήρα]

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.3: Σύγκριση των δύο γονοτυπικών ομάδων ως προς την ηλικία

	GROUP	N	Mean	Std. Deviation
ΗΛΙΚΙΑ	TC+CC	51	66,7451	8,4258
	TT	41	66,7317	9,3676

Independent Samples Test				
		t-test for Equality of Means		
		t	df	P-value
ΗΛΙΚΙΑ	Equal variances assumed	,007	90	,994

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.4: Σύγκριση των ομάδων ως προς την ηλικία εμμηνόπαυσης

	GROUP	N	Mean	Std. Deviation
ΗΛΙΚΙΑ ΕΜΜΗΝΟΠΑΥΣΗΣ	TC+CC	51	47,3137	5,2971
	TT	41	47,1707	5,3708

Independent Samples Test				
		t-test for Equality of Means		
		t	df	P-value
ΗΛΙΚΙΑ ΕΜΜΗΝΟΠΑΥΣΗΣ	Equal variances assumed	,128	90	,899

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.5: Σύγκριση των γονοτυπικών ομάδων ως προς το βάρος

	GROUP	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
ΒΑΡΟΣ	TC+CC	51	61,2157	7,5215	1,0532
	TT	41	62,9024	7,6118	1,1888

Independent Samples Test				
		t-test for Equality of Means		
		t	df	P-value
ΒΑΡΟΣ	Equal variances assumed	-1,063	90	,290

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.6: Σύγκριση των ομάδων ως προς το ύψος

	GROUP	N	Mean	Std. Deviation
ΥΨΟΣ	TC+CC	51	155,6667	7,2046
	TT	41	156,0976	5,0882

Independent Samples Test				
		t-test for Equality of Means		
		t	df	P-value
ΥΨΟΣ	Equal variances assumed	-,323	90	,747

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.7: Σύγκριση των γονοτυπικών ομάδων ως προς το BMI

	GROUP	N	Mean	Std. Deviation
BMI	TC+CC	51	25,2664	2,7928
	TT	41	25,8159	2,9717

Independent Samples Test				
		t-test for Equality of Means		
		T	df	P-value
BMI	Equal variances assumed	-,912	90	,364

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.8: Σύγκριση των ομάδων ως προς τις συνήθειες καπνίσματος

	GROUP	N	Mean	Std. Deviation
ΑΡΙΘΜΟΣ ΤΣΙΓΑΡΩΝ	TC+CC	51	5,1961	7,4807
	TT	41	5,4878	8,2768

Independent Samples Test				
		t-test for Equality of Means		
		t	df	P-value
ΑΡΙΘΜΟΣ ΤΣΙΓΑΡΩΝ	Equal variances assumed	-,177	90	,860

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.9: Σύγκριση ως προς τη διαιτητική πρόσληψη ασβεστίου

	GROUP	N	Mean	Std. Deviation
ΠΡΟΣΛΗΨΗ ΑΣΒΕΣΤΙΟΥ	TC+CC	51	545,0980	189,0119
	TT	41	492,6829	270,5460

Independent Samples Test				
		t-test for Equality of Means		
		t	df	P-value
ΠΡΟΣΛΗΨΗ ΑΣΒΕΣΤΙΟΥ	Equal variances assumed	1,092	90	,278

Συγκρίνονται οι τιμές της οστικής πυκνότητας στη σπονδυλική στήλη και στον αυχένα του μηριαίου οστού που είχαν οι ασθενείς στη πρώτη μέτρηση που έκαναν κάποια στιγμή στη ζωή τους. Η οστική πυκνότητα στη σπονδυλική στήλη είναι μεγαλύτερη στα άτομα με γονότυπο TC+CC, όμως η διαφορά δεν είναι στατιστικά σημαντική ($p=0,167$). Παρόλα αυτά, η χαμηλή τιμή του P-value υποδηλώνει ότι αν το δείγμα ήταν μεγαλύτερο πιθανώς η διαφορά να γινόταν στατιστικά σημαντική. Η οστική πυκνότητα στον αυχένα του μηριαίου δεν διαφέρει ανάμεσα στις δυο ομάδες γονότυπων ($p=0,949$). [ΠΙΝΑΚΕΣ 4.10, 4.11]

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.10: Σύγκριση της οστικής πυκνότητας σπονδυλικής στήλης(1^η μέτρηση)

GROUP	N	Mean	Std. Deviation
TC+CC	42	,83690	9,0960E-02
TT	31	,80413	,10938

Independent Samples Test				
		t-test for Equality of Means		
		t	df	P-value
	Equal variances assumed	1,396	71	,167

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.11: Σύγκριση της οστικής πυκνότητας αυχένα μηριαίο (1^η μέτρηση)

GROUP	N	Mean	Std. Deviation
TC+CC	24	,68971	9,3576E-02
TT	16	,69150	7,3679E-02

Independent Samples Test				
		t-test for Equality of Means		
		t	df	P-value
	Equal variances assumed	-,064	38	,949

Οι δυο ομάδες γονοτύπων δε διαφέρουν μεταξύ τους ως προς την εμφάνιση καταγμάτων στο περιφερικό και στον αξονικό σκελετό (p=0,283 και p=1,000 αντίστοιχα) [ΠΙΝΑΚΕΣ 4.112, 4.13]

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.12: Σύγκριση ως προς τα κατάγματα περιφερικού σκελετού

			ΚΑΤΑΓΜΑ ΠΕΡΙΦΕΡΙΚΟ		Total
			NO	YES	
ΓΟΝΟΤΥΠΟΣ (GROUP)	TC+CC	Count	34	17	51
		% within GROUP	66,7%	33,3%	100,0%
	TT	Count	22	19	41
		% within GROUP	53,7%	46,3%	100,0%
ΣΥΝΟΛΟ		Count	56	36	92
		% within GROUP	60,9%	39,1%	100,0%

Chi-Square Tests	
	P-value
Fisher's Exact Test	,283

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.13: Σύγκριση ως προς τα κατάγματα αξονικού σκελετού

			ΚΑΤΑΓΜΑ ΑΞΟΝΙΚΟ		Total
			NO	YES	
ΓΟΝΟΤΥΠΟΣ (GROUP)	TC+CC	Count	38	13	51
		% within GROUP	74,5%	25,5%	100,0%
	TT	Count	31	10	41
		% within GROUP	75,6%	24,4%	100,0%
ΣΥΝΟΛΟ		Count	69	23	92
		% within GROUP	75,0%	25,0%	100,0%

Chi-Square Tests	
Fisher's Exact Test	1,000

Οι δυο ομάδες γονοτύπων δε διαφέρουν μεταξύ τους ως προς την οστική πυκνότητα στην αρχή της έρευνας και πριν την εφαρμογή της θεραπείας στη σπονδυλική στήλη (Σ.Σ 0, $p=0,746$) και στον αυχένα του μηριαίου (ΜΗΡΙΑΙΟ 0, $p=0,767$) [ΠΙΝΑΚΑΣ 4.14]

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.14: Οστική πυκνότητα σε σπονδυλική στήλη και μηριαίο πριν την έναρξη της θεραπείας.

Group Statistics					
	GROUP	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Σ.Σ 0	TC+CC	50	,82312	,11037	1,5608E-02
	TT	41	,81588	,10016	1,5642E-02
ΜΗΡΙΑΙΟ 0	TC+CC	50	,69660	9,5130E-02	1,3453E-02
	TT	41	,70222	8,2224E-02	1,2841E-02

Independent Samples Test				
		t-test for Equality of Means		
		t	df	P-value
Σ.Σ 0	Equal variances assumed	,325	89	,746
ΜΗΡΙΑΙΟ 0	Equal variances assumed	-,298	89	,767

4.5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΜΕΤΑ ΤΗΝ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΗΣ ΘΕΡΑΠΕΙΑΣ

Στους πίνακες 4.15 και 4.16 παρουσιάζονται οι μέσες τιμές, οι διάμεσοι, οι τυπικές αποκλίσεις, οι ελάχιστες και μέγιστες τιμές για τις οστικές πυκνότητες στη σπονδυλική στήλη και στο μηριαίο, πριν την εφαρμογή της θεραπείας (χρονική στιγμή 0) και στο 12⁰ μήνα από την έναρξη της θεραπείας (χρονική στιγμή 1) για κάθε γονοτυπική ομάδα ξεχωριστά.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.15: Περιγραφικά στοιχεία για το γονότυπο TC+CC

	Mean	Median	Std Deviation	Standard Error of Mean	Minimum	Maximum
Σ.Σ 0	,82	,82	,11	,02	,60	1,08
Σ.Σ 1	,84	,82	,11	,02	,61	1,07
ΜΗΡΙΑΙΟ0	,70	,69	,10	,01	,49	,95
ΜΗΡΙΑΙΟ1	,69	,69	,09	,01	,48	,94

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.16: Περιγραφικά στοιχεία για το γονότυπο TT

	Mean	Median	Std Deviation	Standard Error of Mean	Minimum	Maximum
Σ.Σ 0	,82	,81	,10	,02	,60	1,05
Σ.Σ 1	,83	,83	,10	,02	,62	1,04
ΜΗΡΙΑΙΟ 0	,70	,71	,08	,01	,53	,88
ΜΗΡΙΑΙΟ 1	,70	,71	,08	,01	,48	,88

Μετά τους 12 μήνες θεραπείας οι δύο γονοτυπικές ομάδες δεν διαφέρουν ως προς την οστική πυκνότητα στη σπονδυλική στήλη ($p=0,768$) και στο μηριαίο οστό ($p=0,574$). [ΠΙΝΑΚΑΣ 4.17]

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.17: Σύγκριση οστικών πυκνοτήτων στους 12 μήνες

Group Statistics					
	GROUP	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Σ.Σ 1	TC+CC	50	,83874	,11099	1,5696E-02
	TT	41	,83263	,10003	1,5621E-02
ΜΗΡΙΑΙΟ 1	TC+CC	50	,69284	9,3798E-02	1,3265E-02
	TT	41	,70354	8,4857E-02	1,3252E-02

Independent Samples Test				
		t-test for Equality of Means		
		t	df	P-value
Σ.Σ 1	Equal variances assumed	,273	89	,786
ΜΗΡΙΑΙΟ 1	Equal variances assumed	-,565	89	,574

Στην ομάδα TC+CC η οστική πυκνότητα αυξήθηκε μετά τους 12 μήνες θεραπείας στη σπονδυλική στήλη από 0,82312 g/cm² σε 0,83874g/cm² (μέσες τιμές) και η αύξηση αυτή είναι στατιστικά σημαντική (p=0,004). Στο μηριαίο οστό παρατηρήθηκε πολύ μικρή μείωση στην οστική πυκνότητα από 0,69660g/cm² σε 0,69284g/cm², η οποία δεν είναι στατιστικά σημαντική (p=0,192) [ΠΙΝΑΚΑΣ 4.18].

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.18: Μεταβολή της οστικής πυκνότητας μετά τη θεραπεία στο

γονότυπο TC+CC

Paired Samples Statistics(a)					
		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Σ.Σ 0	,82312	50	,11037	1,5608E-02
	Σ.Σ 1	,83874	50	,11099	1,5696E-02
Pair 2	ΜΗΡΙΑΙΟ 0	,69660	50	9,5130E-02	1,3453E-02
	ΜΗΡΙΑΙΟ 1	,69284	50	9,3798E-02	1,3265E-02

Paired Samples Test(a)				
		t	df	P-value
Pair 1	Σ.Σ 0 – Σ.Σ 1	-3,058	49	<u>,004</u>
Pair 2	ΜΗΡΙΑΙΟ 0 – ΜΗΡΙΑΙΟ 1	1,321	49	,192

Στην ομάδα TT η οστική πυκνότητα μετά από 12 μήνες θεραπεία αυξήθηκε στη σπονδυλική στήλη από 0,81588 g/cm² σε 0,83263 g/cm² και η αύξηση αυτή είναι στατιστικά σημαντική (p=0,000). Στο μηριαίο οστό η οστική πυκνότητα αυξήθηκε από 0,70222 g/cm² σε 0,70354 g/cm² και η αύξηση αυτή δεν είναι στατιστικά σημαντική (p=0,751) [ΠΙΝΑΚΑΣ 4.19]

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.19: Μεταβολή της οστικής πυκνότητας μετά τη θεραπεία στο γονότυπο TT

Paired Samples Statistics(a)					
		Mean	N	Std. Deviation	Std. Error Mean
Pair 1	Σ.Σ 0	,81588	41	,10016	1,5642E-02
	Σ.Σ 1	,83263	41	,10003	1,5621E-02
Pair 2	MΗΡΙΑΙΟ 0	,70222	41	8,2224E-02	1,2841E-02
	MΗΡΙΑΙΟ 1	,70354	41	8,4857E-02	1,3252E-02

Paired Samples Test(a)				
		t	df	P-value
Pair 1	Σ.Σ 0 – Σ.Σ 1	-4,276	40	<u>,000</u>
Pair 2	MΗΡΙΑΙΟ 0 – MΗΡΙΑΙΟ 1	-,320	40	,751

Στους πίνακες 4.20 και 4.21 φαίνονται οι ποσοστιαίες μεταβολές στην οστική πυκνότητα στη σπονδυλική στήλη και στο μηριαίο οστό με την ολοκλήρωση της θεραπείας στις δυο ομάδες γονότυπων.

Παρατηρούμε ότι στο γονότυπο TC+CC η οστική πυκνότητα αυξήθηκε κατά 2% και όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η αύξηση είναι στατιστικά σημαντική. Η οστική πυκνότητα στο μηριαίο οστό μειώθηκε κατά 0,46% (μη στατιστικά σημαντική μείωση).

Στο γονότυπο TT η οστική πυκνότητα στην σπονδυλική στήλη αυξήθηκε κατά 2,13% (στατιστικά σημαντική αύξηση) και στο μηριαίο οστό κατά 0,20% (μη στατιστικά σημαντική αύξηση).

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.29: Ποσοστιαία μεταβολή της οστικής πυκνότητας στο γονότυπο TC+CC

	Mean %	Median	Std Deviation	Standard Error of Mean	Minimum	Maximum
Σ.Σ 01	2,00	2,10	4,21	,60	-6,12	17,05
ΜΗΡΙΑΙΟ 01	-,46	-,72	3,39	,48	-8,35	14,34

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.21: Ποσοστιαία μεταβολή της οστικής πυκνότητας στο γονότυπο TT

	Mean	Median	Std Deviation	Standard Error of Mean	Minimum	Maximum
Σ.Σ 01	2,13	2,63	3,03	,47	-8,39	8,04
ΜΗΡΙΑΙΟ 01	,20	,50	3,87	,60	-13,87	9,83

Στο πίνακα 4.22 συγκρίνεται η ποσοστιαία μεταβολή της οστικής πυκνότητας στη σπονδυλική στήλη και στο μηριαίο οστό ανάμεσα στις δυο γονοτυπικές ομάδες.

Παρατηρούμε ότι η δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά στη ποσοστιαία μεταβολή της οστικής πυκνότητας στη σπονδυλική στήλη ανάμεσα στις δυο ομάδες ($p=0,873$) αλλά ούτε και στο μηριαίο οστό ($p=0,390$).

Το αποτέλεσμα αυτό δείχνει πως δεν υπάρχει στην έρευνα αυτή επίδραση του γονότυπου του πολυμορφισμού του υποδοχέα της καλσιτονίνης στην μεταβολή της οστικής πυκνότητας που προκαλείται από θεραπεία με καλσιτονίνη για 1 έτος. Συνεπώς δε συσχετίζεται ο γονότυπος με την ανταπόκριση στη θεραπεία με καλσιτονίνη.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.22: Σύγκριση των ποσοστιαίων μεταβολών της οστικής πυκνότητας ανάμεσα στις δυο γονοτυπικές ομάδες

Group Statistics					
	GROUP	N	Mean (%)	Std. Deviation	Std. Error Mean
Σ.Σ 01	TC+CC	50	2,0008	4,2078	,5951
	TT	41	2,1261	3,0283	,4729
ΜΗΡΙΑΙΟ 01	TC+CC	50	-,4631	3,3949	,4801
	TT	41	,1951	3,8655	,6037

Independent Samples Test				
		t-test for Equality of Means		
		t	df	P-value
Σ.Σ 01	Equal variances assumed	-,160	89	,873
ΜΗΡΙΑΙΟ 01	Equal variances assumed	-,864	89	,390

Γ. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η οστεοπόρωση είναι μια πολυπαραγοντική νόσος με σύνθετο γενετικό υπόβαθρο. Στη μελέτη αυτή συμμετείχαν 230 μεταεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με διαγνωσμένη οστεοπόρωση. Μελετήσαμε τη συχνότητα του πολυμορφισμού του γονιδίου του υποδοχέα της καλσιτονίνης, την ανταπόκριση των ασθενών στη θεραπεία με καλσιτονίνη και διερευνήσαμε τη συσχέτιση της ανταπόκρισης στη θεραπεία με το γονότυπο για το πολυμορφισμό αυτό. Οι γονότυποι για το πολυμορφισμό ταυτοποιήθηκαν στο σύνολο του δείγματος όμως πλήρη κλινικά στοιχεία υπήρχαν για 92 από τις 230 γυναίκες και αυτές μόνο περιλήφθηκαν στη στατιστική επεξεργασία.

Τα αποτελέσματα έδειξαν την ύπαρξη δυο αλληλικών μορφών του γονιδίου του υποδοχέα της καλσιτονίνης, το αλληλίο T και το αλληλίο C καθώς και τη δημιουργία τριών γονοτύπων για το γονίδιο αυτό TT, TC, CC. Στην έρευνα αυτή η συχνότητα των γονοτύπων για το πολυμορφισμό του υποδοχέα της καλσιτονίνης στο συνολικό δείγμα των 230 γυναικών είναι 41,73% για το γονότυπο TT, 50% για το γονότυπο TC και 8,26% για το γονότυπο CC. Τα αποτελέσματα αυτά βρίσκονται σε ισορροπία Hardy-Weinberg και έρχονται σε συμφωνία με τα αντίστοιχα άλλων ερευνών σε Ευρωπαϊκούς πληθυσμούς (Taboulet et al,1998; Braga et al,2000; Masi et al, 1998). Συγκεκριμένα οι Taboulet et al (60) παρατήρησαν σε γαλλικό πληθυσμό 215 μεταεμμηνοπαυσιακών γυναικών με και χωρίς οστεοπορωτικά κατάγματα ότι η συχνότητα για τους γονότυπους του γονιδίου του υποδοχέα της καλσιτονίνης είναι: 48,8% TT, 44,65% TC και 6,51% CC. Οι Braga et al (61) παρατήρησαν σε ιταλικό πληθυσμό 715 περί και μεταεμμηνοπαυσιακών γυναικών συχνότητα για τους γονότυπους αυτούς 47,8% TT, 41,3% TC, 10,7% CC. Οι Masi et al (58) σε ιταλικό πληθυσμό 307 μεταεμμηνοπαυσιακών γυναικών παρατήρησαν συχνότητες 36,4% για το γονότυπο TT, 44,3% για το TC και 19,2% για το CC.

Αντίθετα με τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας είναι τα αποτελέσματα των Nakamura et al (41) και των Zhao et al (63). Οι Nakamura et al παρατήρησαν σε ιαπωνικό πληθυσμό 152 υγιών γυναικών ηλικίας 16-43 ετών τις ακόλουθες συχνότητες: 2,6% TT, 20,4% TC, 77% CC. Παρόμοια αποτελέσματα έδωσε και η έρευνα των Zhao et al, οι οποίοι παρατήρησαν σε κινέζικο πληθυσμό 383 προ και μεταεμμηνοπαυσιακών γυναικών συχνότητες 1,6% TT, 14,6% TC, 83,8% CC. Οι έρευνες σε ιαπωνικό και κινέζικο πληθυσμό συμφωνούν μεταξύ τους και διαφωνούν με τις προηγούμενες έρευνες σε καυκάσιο πληθυσμό. Από τα

παραπάνω φαίνεται ότι στους πληθυσμούς αυτούς σε αντίθεση με το Καυκάσιο το αλληλίο C είναι επικρατές. Λαμβάνοντας υπόψη αντίστοιχες μελέτες σε ζώα (χοίρους, ποντίκια, αρουραίους) που έδειξαν ότι στα ζώα αυτά το αλληλίο T δεν εντοπίζεται καθόλου μπορούμε να υποθέσουμε ότι εξελικτικά ο καυκάσιος πληθυσμός είναι νεότερος από τον ιαπωνικό και κινέζικο (41).

Στη παρούσα μελέτη δεν βρέθηκε συσχέτιση του γονότυπου του γονιδίου CTR με τα ανθρωπομετρικά χαρακτηριστικά που μετρήθηκαν δηλ. το ύψος, το βάρος και ο Δείκτης Μάζας Σώματος. Αντιθέτως στην έρευνα των Nakamura et al (41) παρατηρήθηκε ότι το αλληλίο T σχετίζεται με αυξημένο σωματικό βάρος σε σχέση με το αλληλίο C.

Στη μελέτη αυτή δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της οστικής πυκνότητας στη σπονδυλική στήλη (σπογγώδες οστό) και στον αυχένα του μηριαίου οστού (φλοιώδες οστό) και το γονότυπο του γονιδίου CTR. Το αποτέλεσμα αυτό συμφωνεί με την έρευνα των Nakamura et al (41) στην οποία επίσης δε βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση. Αντίθετα, στη μελέτη των Braga et al (61) βρέθηκε στατιστικά σημαντική συσχέτιση της οστικής συχνότητας στη σπονδυλική στήλη με το γονότυπο του γονιδίου CTR. Συγκεκριμένα τα άτομα με γονότυπο CC είχαν οριακά χαμηλή τιμή οστικής πυκνότητας σε σχέση με τους άλλους γονότυπους. Η συσχέτιση στην έρευνα αυτή είναι πιο εμφανής πριν την ηλικία των 60 ετών, υποδηλώνοντας έτσι ότι ο πολυμορφισμός του υποδοχέα της καλσιτονίνης επιδρά πιθανόν περισσότερο στη διαδικασία επίτευξης της μέγιστης οστικής πυκνότητας παρά στη διαδικασία της οστικής απώλειας. Στην έρευνα των Taboulet et al (61) παρατηρήθηκε ότι η οστική πυκνότητα στον αυχένα του μηριαίου οστού είναι σημαντικά υψηλότερη στα άτομα με γονότυπο TC σχέση με τα άτομα με γονότυπο TT. Ακόμα στα άτομα με γονότυπο TC η επίπτωση των σπονδυλικών καταγμάτων εμφανίζεται μειωμένη σε σχέση με τα άτομα με γονότυπο TT και CC, καθώς και μειωμένος ο κίνδυνος για οστεοπορωτικά κατάγματα. Στην έρευνα των Masi et al (58) παρατηρήθηκε ότι τα άτομα με γονότυπο TT είχαν σημαντικά χαμηλότερη οστική πυκνότητα στη σπονδυλική στήλη σε σχέση με τα άτομα με γονότυπο CC και η διαφορά αυτή δεν εμφανιζόταν στην οστική πυκνότητα του αυχένα του μηριαίου οστού. Στην έρευνα των Zhao et al (63) η οστική πυκνότητα στον αυχένα του μηριαίου οστού είναι σημαντικά υψηλότερη στα άτομα με γονότυπο CC σε σχέση με τους άλλους γονοτύπους.

Πρέπει να σημειωθεί ότι στη παρούσα εργασία δεν υπήρξε κατά τη στατιστική επεξεργασία ξεχωριστή ομάδα γονότυπου CC καθώς τα άτομα με το γονότυπο αυτό στο τελικό δείγμα των 92 γυναικών ήταν πολύ μικρός και έτσι τα άτομα αυτά συγχωνεύθηκαν στη γονοτυπική ομάδα TC. Αυτή η διαφορά με τις άλλες έρευνες πιθανώς να ερμηνεύει σε ένα βαθμό τις διαφορές των αποτελεσμάτων. Ακόμα ο αριθμός του δείγματος είναι αρκετά μικρότερος από τις άλλες έρευνες. Μεγαλύτερος αριθμός δείγματος ίσως παρουσίαζε στατιστική σημαντικότητα. Χαρακτηριστικά αναφέρεται ότι η οστική πυκνότητα στη σπονδυλική στήλη στην πρώτη μέτρηση που είχαν κάνει κάποια στιγμή στη ζωή τους οι ασθενείς αυτοί Τέλος, στην έρευνα αυτή συμμετείχαν γυναίκες με διαγνωσμένη οστεοπόρωση και συνεπώς διαφορές στην οστική πυκνότητα και στον οστικό μεταβολισμό σε σχέση με το πληθυσμό που χρησιμοποιήθηκε στις άλλες έρευνες.

Στη παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε αύξηση της οστικής πυκνότητας στη σπονδυλική στήλη μετά από 1 χρόνο θεραπείας με 200UI ενδορρινικής καλσιτονίνης σολομού σε σχήμα κυκλικής χορήγησης. Η αύξηση αυτή είναι 2% για την ομάδα με γονότυπο TC+CC και 2,13% για την ομάδα με γονότυπο TT και είναι στατιστικά σημαντική και στις δυο ομάδες. Αντιθέτως, στον αυχένα του μηριαίου οστού παρατηρήθηκε πολύ μικρή και μη στατιστικά σημαντική μείωση της οστικής πυκνότητας στο γονότυπο TC+CC (-0,46%) και μικρή και μη στατιστικά σημαντική αύξηση της οστικής πυκνότητας στο γονότυπο TT (0,20%). Από αυτά τα αποτελέσματα προκύπτει ότι η καλσιτονίνη είναι αποτελεσματική στη θεραπεία της οστεοπόρωσης για γυναίκες με εγκατεστημένη οστεοπόρωση.

Τα παραπάνω αποτελέσματα συμφωνούν με μια σειρά κλινικών ερευνών που αφορούν την αποτελεσματικότητα της θεραπείας με καλσιτονίνη. Έτσι, στην έρευνα των Thamsborg et al (48) παρατηρείται ότι η χορήγηση 200 IU ενδορρινικής καλσιτονίνης σολομού ημερησίως για 2 χρόνια προκαλεί αύξηση στην οστική πυκνότητα της σπονδυλικής στήλης κατά 1,7% σε μεταεμμηνοπαυσιακές γυναίκες. Στην έρευνα αυτή δε παρατηρείται επίσης μικρή μείωση της οστικής πυκνότητας στον αυχένα του μηριαίου οστού. Στην έρευνα των Reginster et al (46) η ίδια δόση καλσιτονίνης σε 2 χρόνια προκαλεί αύξηση 2% στην οστική πυκνότητα της σπονδυλικής στήλης. Στην έρευνα των Chesnut et al (the PROOF study) (50) παρατηρείται αύξηση στην οστική πυκνότητα της σπονδυλικής στήλης κατά 1,5-2% σε 5 χρόνια με χορήγηση 200IU ενδορρινικής καλσιτονίνης ημερησίως και καμία επίδραση στην οστική πυκνότητα στον αυχένα

του μηριαίου οστού. Στην έρευνα των Ellerington et al (49) η χορήγηση της ίδιας δόσης καλσιτονίνης ημερησίως σε μεταεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με μειωμένη οστική πυκνότητα προκαλεί διατήρηση της οστικής μάζας και αποφυγή της οστικής απώλειας.

Ο λόγος για τον οποίο η καλσιτονίνη δρά προστατευτικά κυρίως στο σπογγώδες οστό (σπονδυλική στήλη) και όχι στο φλοιώδες (αυχένas του μηριαίου οστού) δεν έχει διευκρινιστεί. Πολλοί ερευνητές θεωρούν ότι αυτό συμβαίνει γιατί στο σπογγώδες οστό η επιφάνεια στην οποία γίνεται η οστική ανακατασκευή και δρουν οι οστεοκλάστες είναι μεγαλύτερη από την αντίστοιχη επιφάνεια του φλοιώδους οστού. Δεδομένου ότι η καλσιτονίνη προκαλεί αναστολή της οστεοκλαστικής δραστηριότητας η θεραπευτική της δράση είναι πιο εμφανής και αποτελεσματική στον οστικό τύπο αυτό (4).

Στη παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε ότι η ανταπόκριση στη θεραπεία με καλσιτονίνη δεν συσχετίζεται με το γονότυπο για το πολυμορφισμό του υποδοχέα της καλσιτονίνης. Συνεπώς η παρατηρούμενη αύξηση στην οστική πυκνότητα της σπονδυλικής στήλης είναι ανεξάρτητη της γονιδιακής επίδρασης του πολυμορφισμού αυτού. Δεν υπάρχει παρούσα βιβλιογραφία που να έχει ασχοληθεί με το θέμα αυτό. Όμως το αποτέλεσμα της έρευνας απαιτεί επαλήθευση και από άλλες έρευνες. Πρέπει να σημειωθεί ότι το δείγμα της παρούσας μελέτης είναι σχετικά μικρό και ότι η έρευνα βρίσκεται σε εξέλιξη καθώς αναμένονται τα αποτελέσματα και για τα υπόλοιπα 147 άτομα των οποίων έχει ταυτοποιηθεί ο γονότυπος. Με τη προσθήκη των αποτελεσμάτων αυτών το τελικό αποτέλεσμα πιθανώς να επηρεαστεί σημαντικά. Σίγουρα όμως απαιτείται μεγαλύτερος αριθμός ερευνών για τη διευκρίνιση του θέματος αυτού.

Με την ολοκλήρωση της μελέτης αυτής έχουμε σημαντικά αποτελέσματα για την συχνότητα εμφάνισης των τριών γονοτύπων του πολυμορφικού γονιδίου του υποδοχέα της καλσιτονίνης σε ελληνικό πληθυσμό. Επιπλέον έχουμε στατιστικά σημαντικά κλινικά στοιχεία που επιβεβαιώνουν την υπάρχουσα βιβλιογραφία, σχετικά με την ανταπόκριση των ασθενών στη θεραπεία με καλσιτονίνη και κατά συνέπεια στοιχεία σχετικά με την αποτελεσματικότητα της ως θεραπευτικό μέσο για την αντιμετώπιση της εγκατεστημένης οστεοπόρωσης. Τέλος έχουμε την πρώτη βιβλιογραφική αναφορά σχετικά με την επίδραση του γονοτύπου του πολυμορφισμού του υποδοχέα της καλσιτονίνης στην ανταπόκριση στη θεραπεία και αρκετό υλικό για τη περαιτέρω διερεύνηση του θέματος αυτού.

1. Smith, J. Thomas, Jr., Carpenter, Charles C. Jr., Parsons, J. Charles, *Plant and Soil Interactions: The Ecology of Oakroot Systems* 1989, Springer, Heidelberg, Berlin.
2. Vassili, Constantine, *Leaves and Roots: The Interplay of Above and Belowground Processes*, 1992, Springer-Verlag, N. Y., Berlin, Heidelberg.
3. Wadsworth, Stephen, *Microbiological Soil Science: Microbiology of Soil Systems*, 1990, Chapman & Hall, London.
4. Waples, R. L., *Microbiology*, 1990, Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.
5. Wiersma, Steven C., *Birth and death of roots: Linking plant population processes to soil microbial life for the prediction and management of agroecosystems* *Ecological Systems* 1994, 11: 1-17.
6. Wilson, J. M., W. M. G. de Gooijer, M. H. C. Clever, J. Kuyper, J. A. Wiersma, L. B. Buitrago, de T. Wadley, J. J. Kuyper, T. M. Callaway, *Rooting strategies in the forest: Ecology of structural change* 1991, 1: 1-14.
7. Wiersma, Eric, *Roots: Ecology, Growth, Death*, 1994, *Plant Ecology*, 100: 1-14.
8. Wiersma, Eric, *Roots: Ecology, Growth, Death*, 1994, *Plant Ecology*, 100: 1-14.

Δ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Wiersma, Eric, *Roots: Ecology, Growth, Death*, 1994, *Plant Ecology*, 100: 1-14.
2. Wiersma, Eric, *Roots: Ecology, Growth, Death*, 1994, *Plant Ecology*, 100: 1-14.
3. Wiersma, Eric, *Roots: Ecology, Growth, Death*, 1994, *Plant Ecology*, 100: 1-14.
4. Wiersma, Eric, *Roots: Ecology, Growth, Death*, 1994, *Plant Ecology*, 100: 1-14.
5. Wiersma, Eric, *Roots: Ecology, Growth, Death*, 1994, *Plant Ecology*, 100: 1-14.
6. Wiersma, Eric, *Roots: Ecology, Growth, Death*, 1994, *Plant Ecology*, 100: 1-14.
7. Wiersma, Eric, *Roots: Ecology, Growth, Death*, 1994, *Plant Ecology*, 100: 1-14.
8. Wiersma, Eric, *Roots: Ecology, Growth, Death*, 1994, *Plant Ecology*, 100: 1-14.
9. Wiersma, Eric, *Roots: Ecology, Growth, Death*, 1994, *Plant Ecology*, 100: 1-14.
10. Wiersma, Eric, *Roots: Ecology, Growth, Death*, 1994, *Plant Ecology*, 100: 1-14.
11. Wiersma, Eric, *Roots: Ecology, Growth, Death*, 1994, *Plant Ecology*, 100: 1-14.
12. Wiersma, Eric, *Roots: Ecology, Growth, Death*, 1994, *Plant Ecology*, 100: 1-14.
13. Wiersma, Eric, *Roots: Ecology, Growth, Death*, 1994, *Plant Ecology*, 100: 1-14.
14. Wiersma, Eric, *Roots: Ecology, Growth, Death*, 1994, *Plant Ecology*, 100: 1-14.
15. Wiersma, Eric, *Roots: Ecology, Growth, Death*, 1994, *Plant Ecology*, 100: 1-14.
16. Wiersma, Eric, *Roots: Ecology, Growth, Death*, 1994, *Plant Ecology*, 100: 1-14.
17. Wiersma, Eric, *Roots: Ecology, Growth, Death*, 1994, *Plant Ecology*, 100: 1-14.
18. Wiersma, Eric, *Roots: Ecology, Growth, Death*, 1994, *Plant Ecology*, 100: 1-14.
19. Wiersma, Eric, *Roots: Ecology, Growth, Death*, 1994, *Plant Ecology*, 100: 1-14.
20. Wiersma, Eric, *Roots: Ecology, Growth, Death*, 1994, *Plant Ecology*, 100: 1-14.

1. Andreoli Thomas E., Carpenter Charles C. J., Bennett J. Claude, Plum Fred. Cecil Βασική Παθολογία. 4^η έκδοση. Αθήνα 2000. Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας
2. Vander, Sherman, Luciano, Τσακόπουλος. Φυσιολογία του ανθρώπου. 8^η έκδοση. Αθήνα 2001. Ιατρικές Εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδης
3. McPhee Stephen, Μουτσόπουλος Χαράλαμπος. Παθολογική Φυσιολογία. 2^η έκδοση. Αθήνα 2000. Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας
4. Λυρίτης Γ. Π. Οστεοπόρωση. Αθήνα 1996. Εκδόσεις Press Line
5. Manolagas Stavros C. Birth and death of bone cells: Basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. Endocrine Reviews 2000, 21: 115-137
6. Quinn, J. M. W, Morfis, M, Lam, M. H. C, Elliott, J, Kartsogiannis, V, Williams, E. D, Gillespie, M. T, Martin, T. J, Sexton, P. M. Calcitonin receptor antibodies in the identification of osteoclast. Bone 1999, 25: 1-8
7. Colman Eric, Hedin Randy, Swann Joslyn, Orloff David. A brief history of calcitonin. The Lancet 2002, 359: 885-886
8. Guyton Arthur C. Φυσιολογία του ανθρώπου. 5^η έκδοση. Αθήνα 1998. Ιατρικές Εκδόσεις Λίτσας
9. Mahan L. Kathleen, Escott-Stump Sylvia. Krause's Food, Nutrition and Diet Therapy. 10^η έκδοση
10. Σημειώσεις Διατροφικής Αγωγής, Χαροκόπειο Πανεπιστήμιο
11. Peacock Munro, Turner Charles H., Econs Michael J., Foroud Tatiana. Genetics of osteoporosis. Endocrine Reviews 2002, 23: 303-326
12. Thomas Briony, The British Dietetic Association. Manual of Dietetic Practice. 3^η έκδοση. 2001. Blackwell Publishing
13. Atkinson Stephanie A., Ward Wendy E. Clinical nutrition: 2. The role of nutrition in the prevention and treatment of adult osteoporosis. CMAJ November 27, 2001, 165
14. Rizzoli, R, Bonjour, J-P, Ferrari, S. L. Osteoporosis, genetics and hormones. Journal of Molecular Endocrinology 2001 26: 79-94
15. Brandi Maria Luisa, Gennari Luigi, Matucci Cerinic Marco, Becherini Lucia, Falchetti Alberto, Masi Laura, Cennari Carlo, Reginster Jean-Yves. Genetic markers of osteoarticular disorders: facts and hopes. Arthritis Res 2001, 3: 270-280

16. Hobson Emma E., Ralston Stuard H. Role of genetic factors in the pathophysiology and management of osteoporosis. *Clinical Endocrinology* 2001, 54: 1-9
17. Brown Jacques P., Josse Robert G. The Scientific Advisory Council of the Osteoporosis Society of Canada. 2002 clinical practice guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis in Canada. *CMAJ* November 12, 2002, 167 (90100)
18. www.nof.org, National Osteoporosis Foundation
19. www.nos.org.uk, National Osteoporosis Society
20. Wade John P. *Rheumatology*: 15. Osteoporosis. *CMAJ* July 10, 2001, 165
21. Beaudreuil, J, Taboulet, J, Prcel, P, Graulet, A. M, Denne, M. A, Baudoin, C, Jullienne, A, De Vernejoul, M. C. Calcitonin receptor mRNA in mononuclear leucocytes from postmenopausal women: Decrease during osteoporosis and link to bone markers with specific isoform involvement. *Bone* 2000, 27: 161-168
22. Overgaard K, Christiansen C. A new biochemical marker of bone resorption for follow-up on treatment with nasal salmon calcitonin. *Calcif Tissue Int* 1996, 59: 12-6
23. Kannus, P, Palvanen, M, Kaprio, J, Parkkari, J, Koskenvuo, M. Genetic factors and osteoporotic fractures in elderly people: prospective 25 years follow up of a nationwide cohort of elderly Finnish twins. *BMJ* 1999, 319: 1334-7
24. Τριχόπουλος, Δ, Καλαποθάκη, Β, Πετρίδου, Ε. Προληπτική ιατρική και δημόσια υγεία. Αθήνα 2000, Ιατρικές εκδόσεις Ζήτα
25. Pinkerton Joann V., Santen Richard. Alternatives to the use of estrogen in postmenopausal women. *Endocrine Reviews* 1999, 20: 308-320
26. Ralston, S. H. The genetics of osteoporosis. *Q J Med* 1997, 90: 247-251
27. Baudoin, C, Cohen-Solal, M. E, Beaudreuil, J, De Vernejoul, M. C. Genetic and environmental factors affect bone density variances of families of men and women with osteoporosis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2002, 87: 2053-2059
28. Gelehrter Thomas D., Collins Francis S. Αρχές ιατρικής γενετικής. 1996, Ιατρικές Εκδόσεις Π. Χ. Πασχαλίδη

29. Masi Laura, Becherini Lucia, Colli Emanuela, Gennari Luigi, Mansani Riccardo, Falchetti Alberto, Becorpi Angela Maria, Cepollaro Chiara, Gonnelli Stefano, Tanini Annalisa, Brandi Maria Luisa. Polymorphisms of the calcitonin receptor gene are associated with BMD in postmenopausal Italian Women. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1998, 248: 190-195
30. Liu Yao-Zhong, Liu Yong-Jun, Recker Robert R, Deng Hong-Wen. Molecular studies of identification of genes for osteoporosis: The 2002 update. *Journal of Endocrinology* 2003 177: 147-196
31. Houston, L. A, Grant, S. F. A, Reid, D. M, Ralston, S. H. Vitamin D receptor polymorphism, bone mineral density and osteoporotic Vertebral fracture: Studies in a UK population. *Bone* 1996, 18: 249-252
32. Hoff, A. O, Catala-Lehnen, P, Thomas, P. M, Priemel, M, Rueger, J. M, Nasonkin, I, Bradley, A, Hughes, M. R, Ordonez, N, Cote, G. J, Amling, M, Gagel, R. F. Increased bone mass is an unexpected phenotype associated with deletion of the calcitonin gene. *J Clin Invest* 2002, 110: 1849-1857
33. Cummings Steven R., Chapurlat Roland D. What PROOF proves about calcitonin and clinical trials. *The American Journal of Medicine* 2000, 109: 330-331
34. Zaidi, M, Moonga, B. S, Abe, E. Calcitonin and bone formation: a knockout full of supprises. *J Clin Invest* 2002, 110: 1769-1771
35. Zaidi, M, Inzerillo, A. M, Moonga, B. S, Bevis, P. J. R, Huang, C. L. H. Forty years of calcitonin-Where are we now? *Bone* 2002, 30: 655-663
36. Selander, K. S, Harkonen, P. L, Valve, E, Monkkonen, J, Hannuniemi, R, Kalevro Vaananen, H. Calcitonin promotes osteoclast survival in vitro. *Molecular and Cellular Endocrinology* 1996, 122: 119-129
37. Kazuhiro Kanaoka, Yasuhiro Kobayashi, Fumio Hashimoto, Tomoki Nakashima, Mitsue Shibata, Kazuhide Kobayashi, Yuzo Kato, Hideaki Sakai. A common dovnstream signaling activity of osteoclast survival factors that prevent nitric oxide-promoted osteoclast apoptosis. *Endocrinology*, 141
38. Gennari, G. Analgesic effect of calcitonin in osteoporosis. *Bone* 2002, 30: 67S-70S
39. Lyritis, G. P, Trovas, G. Analgesic effects of calcitonin. *Bone* 2002, 30: 71S-74S

40. Kanis, J. A. Calcitonin in osteoporosis. *Bone* 2002, 30: 65S-66S
41. Nakamura, M, Morimoto, S, Zhang, Z, Utsunomiya, H, Inagami, T, Ogihara, T, Kakudo, K. Calcitonin receptor gene polymorphism in Japanese Women: Correlation with body mass and bone mineral density. *Calcif Tissue Int* 2001 Apr, 68: 211-5
42. Purdue BW, Tilakaratne N, Sexton PM. Molecular pharmacology of the calcitonin receptor.
43. Body, J. J. Calcitonin for the long-term prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis. *Bone* 2002, 30: 75S-79S
44. Martin, T. J. Calcitonin, an update. *Bone* 1999, 24: 63S-65S
45. www.novartis.com
46. Reginster Jean Y., Deroisy Rita, Lecart Marie P., Sarlet Nathalie, Zegels Brigitte, Jupsin Isabelle, Longueville Marc de, Franchimont Paul. A double-blind, placebo-controlled, dose-finding trial of intermittent nasal salmon calcitonin for prevention of postmenopausal lumbar spine bone loss. *The American Journal of Medicine* 1995, 98
47. Arnala I., Saastamoinen J., Alhava E. M. Salmon calcitonin in the prevention of bone loss at perimenopause. *Bone* 1996, 4: 629-632
48. Thamsborg, G, Jensen, J. E. B, Kollerup, G, Hauge, E. M, Melsen, F, Sorensen, O. H. Effect of nasal calcitonin on bone remodelling and bone mass in postmenopausal osteoporosis. *Bone* 1996, 18: 207-212
49. Ellerington MC, Hillard TC, Whitgroft SI, Marsh MS, Lees B, Banks LM, Whitehead MI, Stevenson JC. Intranasal salmon calcitonin for the prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 1996, 59: 6-11
50. Chesnut Charles H., Silverman Stuart, Andriano Kim, Genant Harry, Gimona Alberto, Harris Steven, Kiel Douglas, Leboff Meryl, Maricic Michael, Miller Paul, Moniz Caje, Peacock Munro, Richardson Peter, Watts Nelson, Baylink David. A randomized trial of nasal spray salmon calcitonin in postmenopausal women with established osteoporosis: The prevent recurrence of osteoporotic fractures study, PROOF. *The American Journal of Medicine* 2000, 109: 267-276
51. Armour Susan L., Foord Steve, Kenakin Terry, Chen Wen-ji. Pharmacological characterisation of receptor-activity-modifying proteins (RAMPs) and the

- human calcitonin receptor. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* 1999, 42: 217-224
52. Nakamura Misa, Tomoko Hashimoto, Taisuke Nakajima, Shigetoshi Ichii, Jun-ichi Furuyama, Yasushi Ishihara, Kennichi Kakudo. A new type of human calcitonin receptor isoform generated by alternative splicing. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1995, 209: 744-751
 53. Wolfe Lawrence A., Fling Mary E., Xue Zhengyu, Armour Susan, Kerner Sandra A., Way James, Rimele Tom, Cox Richard F. In vitro characterisation of a human calcitonin receptor gene polymorphism. *Mutation Research* 2003, 522: 93-105
 54. Nakamura Misa, Zhang Zhi-qiang, Shan Liang, Hisa Tomoyuki, Mitsuyo Sasaki, Ryuichi Tsukino, Toyoharu Yokoi, Akio Kaname, Kennichi Kakudo. Allelic variants of human calcitonin receptor in the Japanese population. *Hum. Genet* 1997, 99: 38-41
 55. Μαρμάρας Β, Λαμπροπούλου Μαρμαρά Μ. Βιολογία κυττάρου: μοριακή προσέγγιση, 4^η έκδοση, Πάτρα 2000, εκδόσεις tytoporama
 56. Foord Steven M., Marshall Fiona H. RAMPs: accessory proteins for seven transmembrane domain receptors. *Trends in Pharmacological Sciences* 1999, 20: 184-187
 57. Moore EE, Kuestner RE, Stroop SD, Grant FJ, Matthewes SL, Brady CL, Sexton PM, Findlay DM. Functionally different isoforms of the human calcitonin receptor result from alternative splicing of the gene transcript. *Mol Endocrinol* 1995, 9: 959-68
 58. Masi Laura, Becherini Lucia, Gennari Luigi, Colli Emanuela, Mansani Riccardo, Falchetti Alberto, Cepollaro Chiara, Gonnelli Stefano, Tanini Annalisa, Brandi Maria Luisa. Allelic variants of human calcitonin receptor: Distribution and association with bone mass in postmenopausal Italian women. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1998, 245: 622-626
 59. Gorn AH, Rudolph SM, Flannery MR, Morton CC, Weremowicz S, Wang TZ, Krane SM, Goldring SR. Expression of two human skeletal calcitonin receptor isoforms cloned from a giant cell tumor of bone. The first intracellular domain modulates ligand binding and signal transduction. *J Clin Invest* 1995, 95: 2680-91

60. Taboulet, J, Frenkian, M, Frendo, JL, Feingold, N, Jullienne, A, Vernejoul, MC. Calcitonin receptor polymorphism is associated with a decreased fracture risk in post-menopausal women. *Human Molecular Genetics* 1998, 7
61. Braga, V, Mottes, M, Mirandola, S, Lisi, V, Malerba, G, Sartori, L, Bianchi, G, Gatti, D, Rossini, M, Bianchini, D, Adami, S. Association of CTR and COLIA1 alleles with BMD values in peri- and –postmenopausal women. *Calcif Tissue Int* 2000 67: 361-366
62. Δεδούσης Γεώργιος. Εργαστηριακές σημειώσεις Μοριακής Βιολογίας.
63. Zhao HY, Liu JM, Ning G, Zhang LZ, Jiang L, Dai M, Xu MY. Association of calcitonin receptor polymorphism with bone mineral density in Shanghai women. *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao* 2003, 25: 258-61

E. PAPATHOMA

A. ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ ΓΟΝΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΤΗΣ ΚΑΛΣΙΤΟΝΙΝΗΣ
(CALTITONIN RECEPTOR GENE, CTR).

BASE COUNT 993 a 653 c 661 g 1024 t
ORIGIN

```

1  cagaattcca ggacaaagag atcttcaaaa atcaaaaatg aggttcacat ttacaagccg
61  gtgcttgcca ctgtttcttc ttctaataca cccaacccca attcttctcg ccttttcaaa
121 tcaaacctat ccaacaatag agcccaagcc atttctttac gtcgtaggac gaaagaagat
181 gatggatgca cagtacaaat gctatgaocg aatgcagcag ttaccogcat accaaggaga
241 aggtccatat tgcaatcgca cctgggatgg atggctgtgc tgggatgaca caccggctgg
301 agtattgtcc tatcagttct gccagatta ttttcoggat tttgatccat cagaaaaggt
361 tacaaaatac tgtgatgaaa aaggtgtttg gtttaaacat cctgaaaaaca atcgacctg
421 gtccaactat actatgtgca atgctttcac tcctgagaaa ctgaagaatg catatgttct
481 gtactatttg gctattgtgg gtcattcttt gtcaattttc accctagtga tttccctggg
541 gattttctgt tttttcagga gccttggctg ccaaagggtg accctgcaca agaacatggt
601 tcttacttac attctgaatt ctatgattat catcatccac ctgggtgaag tagtacccaa
661 tggagagctc gtgcgaaggg acccggtgag ctgcaagatt ttgcattttt tccaccagta
721 catgatggcc tgcaactatt tctggatgct ctgtgaaggg atctatcttc atacaactcat
781 tgtcgtggct gtgtttactg agaagcaacg cttgcgggtg tattatctct tgggctgggg
841 gttccogctg gtgccaacca ctatccatgc tattaccagg gcctgtactc tcaatgacaa
901 ctgctggctg agtggtgaaa cccatttgct ttacataatc catggacctg tcatggcggc
961 acttgtggtc aatttcttct ttttgtctca cattgtccgg gtgcttgtga ccaaaatgag
1021 ggaaacccat gaggcggaat ccacatgta cctgaaggct gtgaaggcca ccatgatcct
1081 tgtgcccctg ctgggaatcc agtttgtcgt ctttcccctg agaccttoca acaagatgct
1141 tgggaagata tatgattacg tgatgcactc tctgattcat ttccagggct tctttgttgc
1201 gaccatctac tgcttctgca acaatgaggt ccaaaccacc gtgaagcgcc atgtggccca
1261 attcaaaatt cagtggaaac agcgttgggg gaggcgcccc tccaaccgct ctgctcgcg
1321 tgcagccgct gctgcggagg ctggcgacat cccaatttac atctgccatc aggagctgag
1381 gaatgaacca gccacaacac aaggcgagga gagtgtctgag atcatccott tgaatatcat
1441 agagcaagag tcatctgctt gaatgtgaag gcaaacacag catcgtgatc actgagccat
1501 catttccctg gagaaagacc atgcatttaa agtattctcc atcctcccag gaaccgaaca
1561 tatcattttg tgcttcttgc tcaagtgaatt tgtccattgt aaacttgaa aaagtttatc
1621 ttggtactgt tgctttggga gacagtctag gaatggagtc tccactgca acttgtgaac
1681 tccatcattc atccaggact gagatgcaaa tgtcacagta atgcaagcaa agtatcaaa
1741 aaaaacaatg aaattgacct agttcagata cagggtgtctc cttgtcaata ctgagccatt
1801 tatacctttg aatatattaa atcactgtca atatttttat ttttaactct ggattttgaa
1861 tttagattatt tctgtatttg gctatggatc tgatttttaa tttttttaa tttcagtcaa
1921 ttctgatgtt actgagatgt tttaccatcc ttacaatgta aaccacatga actcagtac
1981 ctctgcaaga caaagcggtc ttctaataga gagattagta aatatgtgaa gaaaaagacc
2041 tgcatattggc aggaagatgt atgctttgaa tgcaaaagaa atttagagtc aatttgctga
2101 aaacattaca tgcctcagctt ggttttggac aagcctgtcc attgggcagg acctagctgt
2161 tgtaaaagaa ttggtcttaat gttgaatgta ttttgggttg tgatgtttat aaactgagag
2221 gtcacaaaaga atctatcact aaaaattttt acaaaaactgc caaaaatata attcttagtg
2281 gaagacaata ctccctttta agagagtttg ccactccctc aaactccagg atttataaag
2341 caaattactc caaggtttat aaagcagatt acctcttgcc cttgggtgct atctagcagt
2401 aaaagataaa tttgttgaat attggttaatt aaaagactcc acataagtcc attaactgct
2461 ttccacccag cttcaaaagt taaaaagagc tcaggctttt ccaggaagat ccaggagggc
2521 taattagaaa tcaacttgtg gttgacgcgt tgtttcttgt tattaccaa caggagggga
2581 aaaaatttaac tgtctcaaat ttaaccataa atcaattcat gtttaacggt tctcatataa
2641 atccagtatt atattatcat atctctcttt acttcccagt ataagatttt tgaaaatcct
2701 gaataaacca gtatcgttac tggcacctga aattaatttg tgaatttgca acagtaatca
2761 gagttacocat tatttaattt gtatgctaaa tgaggaggtg cattgaaacc ctocaaatct
2821 ccagtctcat ctatgtcata ttttgccact gcctttcaga agtgatttag ttgtggaaa
2881 ataataaatt gatttgttat ggttacatat tttagcgacc cagagaaaa taattatatt
2941 tctacagaga aaatgaattt gggatactaa agtagtttaa gtctcttcta ctgaattgaa
3001 gggggggatc gaaaagaagg tatttttcca atcacagtgt tatgtagtat tgttctat
3061 ttgtttacaa acatggaaaa cagagtattt ctggcagctg tggtaacaa gtgataatat
3121 attgctaaaa tattttagat gttattatgc taatatagta ggggttgaag aaaaacaaat

```


3181 agcttattat agaattgcac atagttotgc ccaaattatg tgaaatgctt atgcttgtgt
 3241 atatgtataa attaatacag agtacgttaa aagcaaaaag atgtatattt gcataatttt
 3301 ctaaaagaat atattattca tcttttcatt c

B. ΑΜΙΝΟΞΙΚΗ ΑΛΛΗΛΟΥΧΙΑ ΤΟΥ ΥΠΟΔΟΧΕΑ ΤΗΣ ΚΑΛΣΙΤΟΝΙΝΗΣ.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
1	Met	Arg	Phe	Thr	Phe	Thr	Ser	Arg	Cys	Leu	Ala	Leu	Phe	Leu	Leu	15
16	Leu	Asn	His	Pro	Thr	Pro	Ile	Leu	Pro	Ala	Phe	Ser	Asn	Gln	Thr	30
31	Tyr	Pro	Thr	Ile	Glu	Pro	Lys	Pro	Phe	Leu	Tyr	Val	Val	Gly	Arg	45
46	Lys	Lys	Met	Met	Asp	Ala	Gln	Tyr	Lys	Cys	Tyr	Asp	Arg	Met	Gln	60
61	Gln	Leu	Pro	Ala	Tyr	Gln	Gly	Glu	Gly	Pro	Tyr	Cys	Asn	Arg	Thr	75
76	Trp	Asp	Gly	Trp	Leu	Cys	Trp	Asp	Asp	Thr	Pro	Ala	Gly	Val	Leu	90
91	Ser	Tyr	Gln	Phe	Cys	Pro	Asp	Tyr	Phe	Pro	Asp	Phe	Asp	Pro	Ser	105
106	Glu	Lys	Val	Thr	Lys	Tyr	Cys	Asp	Glu	Lys	Gly	Val	Trp	Phe	Lys	120
121	His	Pro	Glu	Asn	Asn	Arg	Thr	Trp	Ser	Asn	Tyr	Thr	Met	Cys	Asn	135
136	Ala	Phe	Thr	Pro	Glu	Lys	Leu	Lys	Asn	Ala	Tyr	Val	Leu	Tyr	Tyr	150
151	Leu	Ala	Ile	Val	Gly	His	Ser	Leu	Ser	Ile	Phe	Thr	Leu	Val	Ile	165
166	Ser	Leu	Gly	Ile	Phe	Val	Phe	Phe	Arg	Lys	Leu	Thr	Thr	Ile	Phe	180
181	Pro	Leu	Asn	Trp	Lys	Tyr	Arg	Lys	Ala	Leu	Ser	Leu	Gly	Cys	Gln	195
196	Arg	Val	Thr	Leu	His	Lys	Asn	Met	Phe	Leu	Thr	Tyr	Ile	Leu	Asn	210
211	Ser	Met	Ile	Ile	Ile	Ile	His	Leu	Val	Glu	Val	Val	Pro	Asn	Gly	225
226	Glu	Leu	Val	Arg	Arg	Asp	Pro	Val	Ser	Cys	Lys	Ile	Leu	His	Phe	240
241	Phe	His	Gln	Tyr	Met	Met	Ala	Cys	Asn	Tyr	Phe	Trp	Met	Leu	Cys	255
256	Glu	Gly	Ile	Tyr	Leu	His	Thr	Leu	Ile	Val	Val	Ala	Val	Phe	Thr	270
271	Glu	Lys	Gln	Arg	Leu	Arg	Trp	Tyr	Tyr	Leu	Leu	Gly	Trp	Gly	Phe	285
286	Pro	Leu	Val	Pro	Thr	Thr	Ile	His	Ala	Ile	Thr	Arg	Ala	Val	Tyr	300
301	Phe	Asn	Asp	Asn	Cys	Trp	Leu	Ser	Val	Glu	Thr	His	Leu	Leu	Tyr	315
316	Ile	Ile	His	Gly	Pro	Val	Met	Ala	Ala	Leu	Val	Val	Asn	Phe	Phe	330
331	Phe	Leu	Leu	Asn	Ile	Val	Arg	Val	Leu	Val	Thr	Lys	Met	Arg	Glu	345
346	Thr	His	Glu	Ala	Glu	Ser	His	Met	Tyr	Leu	Lys	Ala	Val	Lys	Ala	360
361	Thr	Met	Ile	Leu	Val	Pro	Leu	Leu	Gly	Ile	Gln	Phe	Val	Val	Phe	375
376	Pro	Trp	Arg	Pro	Ser	Asn	Lys	Met	Leu	Gly	Lys	Ile	Tyr	Asp	Tyr	390
391	Val	Met	His	Ser	Leu	Ile	His	Phe	Gln	Gly	Phe	Phe	Val	Ala	Thr	405
406	Ile	Tyr	Cys	Phe	Cys	Asn	Asn	Glu	Val	Gln	Thr	Thr	Val	Lys	Arg	420
421	Gln	Trp	Ala	Gln	Phe	Lys	Ile	Gln	Trp	Asn	Gln	Arg	Trp	Gly	Arg	435
436	Arg	Pro	Ser	Asn	Arg	Ser	Ala	Arg	Ala	Ala	Ala	Ala	Ala	Ala	Glu	450
451	Ala	Gly	Asp	Ile	Pro	Ile	Tyr	Ile	Cys	His	Gln	Glu	Pro	Arg	Asn	465
466	Glu	Pro	Ala	Asn	Asn	Gln	Gly	Glu	Glu	Ser	Ala	Glu	Ile	Ile	Pro	480
481	Leu	Asn	Ile	Ile	Glu	Gln	Glu	Ser	Ser	Ala						

ΑΝΤΑΠΟΚΡΙΣΗ ΣΤΗ ΘΕΡΑΠΕΙΑ ΠΤΥ
ΜΕ ΕΛΑΣΤΟΝΙΚΗ ΣΕ ΓΥΝΑΙΚΕΣ ΣΤΑ

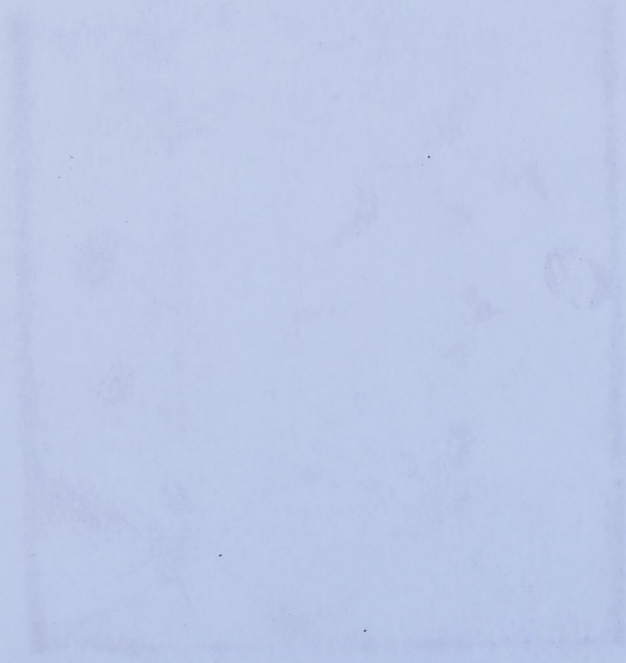
ΣΤΑΘΟΠΟΥΛΟΥ Μ.

12.173

9939

**ΧΑΡΟΚΟΠΕΙΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ**

ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ



★ 1 2 1 7 3 ★